مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هفدهم، شماره ۵، اردیبهشت ۱۳۹۴، صفحه ۶۵-۵۹

بررسی اثر ضد دردی و تعیین سمیت حاد عصاره متانولی گیاه رازیانه رومی (Pimpinella anisum.L) در موش صحرایی نر

مهتاب عسگری نعمتیان (MSc)[۱]، سعید محمدی (PhD)*[۲]

۱-گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور
۲-گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان

دریافت: ۹۳/۵/۱۵، اصلاح:۹۳/۷/۲، پذیرش:۹۳/۱۱/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: رازیانه رومی (Pimpinella anisum.)، گیاهی دارویی است که به طور گسترده ای در طب سنتی ایران در درمان بیماری های گوارشی، التهابی و تشنجی مورد مصرف قرار می‌گیرد. این مطالعه به منظور بررسی اثر ضددردی عصاره متانولی گیاه رازیانه رومی در موش صحرایی نر بالغ انجام شد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی از ۴۸ سر موش صحرایی نر در ۸ گروه شامل گروه‌های: کنترل، گروه‌های تیمار شده با عصاره (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg)، مورفین، آسپرین، نالوکسان به همراه عصاره و آسپرین به همراه عصاره استفاده شد. عصاره گیری گیاه به روش ماسراسیون انجام گرفته و به منظور ارزیابی اثرات ضد دردی عصاره از آزمون‌های ریتینگ، تیل فلیک و فرمالین استفاده شد. همچنین کلیه تزریقات به صورت درون صفاقی انجام پذیرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از مطالعه حاضر مشخص نمود که تزریق توام دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره رازیانه رومی به همراه آسپرین توانست اثر ضد دردی معنی داری را با $p<۰/۰۵$ نسبت به آسپرین با کاهش زمان تاخیر به میزان ۱ ثانیه در تست تیل فلیک نشان دهد. در تست ریتینگ دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره توانست با کاهش تعداد انقباضات شکمی به عدد ۱۰، اثر ضد دردی بیشتری را نسبت به به گروه آسپرین با $p<۰/۰۱$ نشان دهد. همچنین سمیت حاد عصاره گیاه ۲۱۲۵ mg/kg بود.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی برگ گیاه رازیانه رومی دارای اثر ضددردی (در هر دو فاز حاد و مزمن) می باشد.

واژه‌های کلیدی: ضد درد، عصاره متانولی، گیاه رازیانه رومی، درد.

مقدمه

درد معمولا به علت تخریب و آسیب دیدن یک بافت، به دلیل عوامل متعددی چون حرارت، ضربه، پارگی، کشیدگی و جریان الکتریکی و یا عوامل شیمیایی ایجاد می شود (۱). دو دسته اصلی از مواد ضد درد یعنی اوپیوئیدها و داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (نظیر آسپرین) مورد استفاده قرار می گیرند که با وجود کاربرد فراوان، دارای آثار نامطلوبی چون آسیب به دستگاه گوارش، کلیه ها و سیستم عصبی مرکزی میگردند (۲). در حال حاضر ۲۵ درصد از داروهای موجود در بازار دارویی جهان منشاء گیاهی دارند. طبق آمار سازمان جهانی بهداشت حدود ۸۰ درصد از مردم جهان، در کشورهای در حال توسعه و فقیر زندگی می‌کنند که به دلیل گران بودن داروهای سنتتیک، عدم دسترسی و وجود عوارض جانبی این داروها، عمده‌ترین نیازهای درمانی خود را از گیاهان دارویی تأمین می‌کنند (۳و۴). گیاه رازیانه رومی جزئی از خانواده اپیاسه (Apiaceae) و گیاهی بومی شرق مدیترانه و حاوی روغن های فرار می باشد. گیاهی است علفی، دارای ریشه راست و دوکی شکل، ساقه بی کرک و استوانه ای به ارتفاع ۵۰-۳۰ سانتی متر که در نواحی شمال غربی و جنوب غربی ایران، همچنین در هند، ترکیه و سایر مناطق گرمسیر جهان یافت می شود (۴). از عصاره این گیاه در طب سنتی و محلی به عنوان دارویی به منظور درمان بیماری های التهابی، گوارشی، ضد تشنج، ضد آسم و تنگی نفس استفاده میشود (۵). عصاره آبی و اتانولی رازیانه رومی دارای اثر آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی است (۶). از سویی فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی این گیاه نیز به اثبات رسیده است (۷). اخیرا مشخص شده است که عصاره رازیانه رومی دارای خواص ضد جراحت بوده و نیز اثر محافظتی سلولی آن در مقابل القاء شیمیایی جراحت معده در موش صحرایی به اثبات رسیده است (۸). همچنین اثر ضد صرعی عصاره میوه رازیانه رومی در موش سوری نیز مورد تایید قرار گرفته است (۹). تحقیقات نشان داده اند که روغن استخراج شده از این گیاه سبب افزایش جذب گلوکز و کاهش برون ده ادراری در موش صحرایی می گردد (۱۰). مطالعات شیمیایی انجام شده نشان داده اند که عصاره گیاه رازیانه رومی از ترکیباتی چون آنتول (۹۰٪) تشکیل شده

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۲۱۴۵/۳۱/۱ دانشگاه پیام نور تهران می باشد.
* مسئول مقاله: سعید محمدی
آدرس: همدان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان. تلفن: ۰۸۱۳-۲۵۱۸۰۶۴
E-mail:smiauhphd.sm@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.9]

است. از دیگر ترکیبات عمده موجود در این گیاه استراگول، اوگنول، متیل کاویکول، آنیسالدهید و پولی استیلن می باشند (۱۱). از آنجا که برخی از ترکیبات مشهور دارویی رایج فعلی از جمله آسپرین و مورفین از گیاهانی که به عنوان ضد درد استفاده می شده اند به دست آمده است، عدم وجود مطالعات علمی معتبر در زمینه بررسی اثر ضد دردی این گیاه، به بررسی اثر ضد دردی و سمیت حاد عصاره متانولی برگ رازیانه رومی با استفاده های از تست های معتبر فرمالین، تیل فلیک و ریتینگ، در موش صحرایی نر پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ازمایشگاهی، ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۲۵۰-۲۲۰ گرم) از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و در شرایط استاندارد اتاق حیوانات تحت دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی (شروع دوره روشنایی از ساعت۷:۰۰صبح)، شرایط دمایی۱±۲۲ درجه سانتی گراد) و رطوبت نسبی ۵۵-۵۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص در قفس های فلزی نگه داری شدند. حیوانات حداقل ۲ ساعت قبل از انجام آزمایش به شرایط آزمایشگاه عادت داده شدند. آزمایش مورد نظر بین ساعات ۸:۰۰ صبح تا ۱۲:۰۰ ظهر انجام شد.

آزمایشات مورد تایید شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان قرارگرفته بر طبق دستورالعمل های اخلاقی انجمن بین المللی مطالعه درد در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (۱۲). حیوانات در ۸ گروه ۶ تایی شامل: گروه کنترل (تحت اثر نرمال سالین)، گروه تحت اثر مرفین (۱میلی گرم بر کیلو گرم)، گروه تحت اثر آسپرین (۱۰میلی گرم بر کیلو گرم)، گروه‌های تیمار شده با دوزهای کم، متوسط و زیاد گیاه رازیانه رومی (به ترتیب به مقدار ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم) ، گروه تیمار شده با آسپرین(۱۰میلی گرم بر کیلو گرم) به همراه دوز زیاد عصاره و گروه تیمار شده با نالوکسان (۱میلی گرم بر کیلو گرم) به همراه دوز زیاد عصاره تقسیم شدند. همچنین کلیه تزریقات عصاره و داروهای مورد استفاده در آزمایش به صورت درون صفاقی انجام پذیرفت.

داروهای مورد استفاده در آزمایش: مورفین سولفات و آسپرین از دارو پخش (ایران)، نالوکسان از تولید دارو (ایران)، فرمالین و اسید استیک از شرکت Merck آلمان تهیه شد.

روش عصاره گیری: مقدار ۱ کیلوگرم برگ تازه گیاه رازیانه رومی در مرداد ماه سال ۱۳۹۲ از مناطق اطراف کوه الوند همدان تهیه و مورد تایید کارشناس گیاه شناسی دانشگاه آزاد اسلامی همدان و هرباریوم دانشگاه بوعلی سینا همدان قرار گرفت (شماره شناسایی و نگه داری در هرباریوم ۱۷۹). عصاره گیری به روش مایسراسیون انجام پذیرفت. پس از جداسازی دمبرگ ها، برگ های رازیانه رومی در دمای اتاق (۲۵ درجه) و در سایه خشک گردید.

سپس توسط آسیاب مکانیکی به صورت پودر خشک در آمد. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر برگ خشک شده گیاه را در یک لیتر متانول۸۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد، تا مواد موثره مورد نیاز استخراج شود. مخلوط حاصل پس از صاف شدن در دستگاه روتاری قرار داده شد و سپس حلّال آن جدا گردید و به مدت یک هفته دیگر در زیر هود در درون یک ظرف پتری به منظور خشک شدن قرار داده شد. پس از گذشت یک هفته، از آنچه در ته ظرف باقی مانده بود (عصاره گیاه)، به منظور تیمار رت های نر با دوزهای مختلف عصاره در مقدار مناسب سرم فیزیولوژی (کلرو سدیم ۹/۰ درصد) حل شد(۱۳).

آزمون های درد:

تست ریتینگ: در روز آزمایش به منظور عادت کردن حیوانات به محیط، هر یک از آنها ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه استاندارد شیشه ای مذکور قرار داده شدند. عصاره متانولی برگ گیاه مذکور در مقادیر مشخصی از سرم فیزیولوژیک استریل حل و با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق گردید.

پس از گذشت ۱۵ دقیقه اسید استیک به حجم ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن با غلظت ۶/۰درصد تزریق شد و بلافاصله پس از تزریق درون صفاقی اسید استیک، تعداد انقباضات شکمی و نیز کشیده شدن پای عقبی موش به مدت ۳۰ دقیقه شمارش گردید. در ضمن هر حیوان فقط یکبار مورد استفاده قرار گرفت (۱۴).

تست تیل فلیک: این آزمایش با استفاده از دستگاه تیل فلیک، مدل تی اف-۵۵۰۰ ساخت شرکت برج صنعت ایران انجام گرفت. آزمون بر اساس مدل ارائه شده قبلی انجام شد (۱۵) و از مدت زمان مرجع ۱۰ ثانیه به عنوان زمان قطعی نوردهی استفاده شد، یعنی چنانچه حیوان تا مدت ۱۰ ثانیه پس از تابش نور سوزان، دم خود را نمی کشید، به منظور جلوگیری از آسیب بافتی، محرک قطع می شد. حیوان به صورت افقی در محفظه مخصوص نگهداری حیوان قرار گرفته و یک سوم انتهایی دم حیوان در معرض حرارت قرار داشت. مدت زمان تاخیر در کشیدن دم در سه مرتبه و به فاصله دو دقیقه، قبل و ۲۰ دقیقه بعد از تزریق دارو یا عصاره اندازه گیری شده و میانگین آنها به عنوان زمان تاخیر قبل و بعد از دارو محسوب و ثبت گردید. مرفین به صورت درون صفاقی به حیوانات تزریق شده و میانگین زمان تاخیر در حیوانات ثبت شد.

تست فرمالین: در این آزمایش از مدل پیشنهادی Dubuisson و Dennis به منظور ارزیابی درد مزمن استفاده شد. بدین صورت که حیوانات ۱ ساعت قبل از تست به منظور عادت کردن با شرایط آزمایش به داخل جعبه مخصوص تست فرمالین منتقل شدند، این جعبه مخصوص از جنس پلکسی گلاس و در ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ ساخته شده بود و به منظور مشاهده بهتر حرکات حیوان، آینه ای با زاویه ۴۵ درجه زیر آن و روبروی فرد مشاهده کننده قرار گرفت.

۳۰ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی داروها، ۵۰ میکرولیتر فرمالدیید ۵/۲ درصد به کف پای راست حیوان به صورت زیرجلدی تزریق شد و حیوان مجددا به جعبه مخصوص تست برگردانده شد و رفتار حیوان مورد بررسی قرار گرفت و برای مدت ۶۰ دقیقه نمره گذاری شد، به نحوی که هر ۱۵ ثانیه یک بار پاسخ حرکتی درد به صورت اعداد ۰، ۱، ۲، و ۳ ثبت گردید: عدد صفر، در مواردی که حیوان هنگام راه رفتن تعادل کامل داشت و وزنش روی هر دو پا توزیع شده بود؛ عدد ۱، برای هنگامی که حیوان وزن بدن خود را روی پای تزریق شده، تحمل نمی کرد و یا از پای تزریق شده مراقبت می کرد؛ عدد ۲، برای وقتی که حیوان پنجه دردناک را بلند می کرد و هیچ گونه تماسی با کف محفظه نداشت؛ عدد ۳، برای زمانی که حیوان پنجه دردناک را می لیسید، می جوید یا به شدت تکان می داد. میانگین ۵ دقیقه ابتدای هر تست به عنوان فاز اول تست فرمالین (فاز حاد) و میانگین دقایق۶۰-۱۵ تست به عنوان فاز دوم تست فرمالین (فاز مزمن) محسوب شد (۱۶).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.9]

داروهای مورد استفاده در آزمایش: مرفین سولفات، نالوکسان و ایندومتاسین، از دارو پخش (ایران) و اسید استیک و فرمالین از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

تعیین سمیت حاد (Median Lethal Dose: LD_{50}): تعیین سمیت حاد بر اساس مدل آزمایشگاهی قبلی به انجام رسید (۱۷). دوزهای مختلف عصاره به صورت درون صفاقی و مجزا به موش های صحرایی نر تزریق شدند. میزان مرگ و میر حیوانات تا ۷۲ ساعت بعد از تزریق شمارش گردید و LD_{50} عصاره گیاه تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: داده ها به صورت میانگین خطای استاندارد از میانگین mean±SE ارائه شده و از تحلیل واریانس یک طرفه استفاده گردید و به دنبال آن از آزمون توکی استفاده شد و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

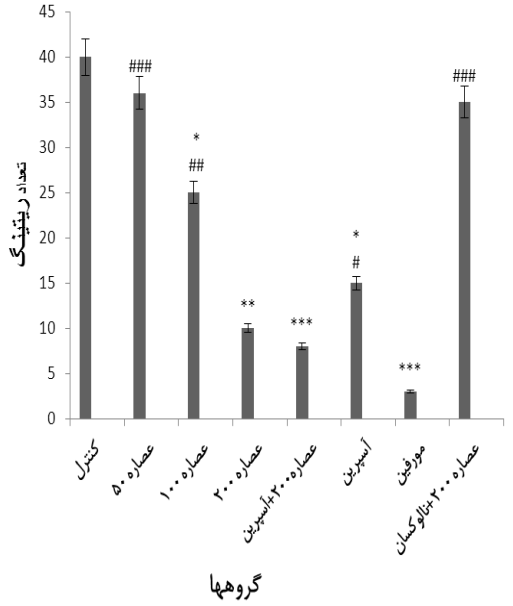
یافته ها

سمیت حاد عصاره: میزان سمیت حاد (LD_{50}) عصاره، به صورت داخل صفاقی۲۱۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم بود.

تست ریتینگ: نتایج مطالعه در تست ریتینگ نشان داد تزریق دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره با تعداد ریتینگ ۱۴ و نیز دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آن با تعداد ریتینگ ۹، توانستند سبب کاهش معنی دار تعداد ریتینگ نسبت به گروه کنترل به ترتیب با: $p<0/05$ و $p<0/01$ گردند. تزریق توام عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره به همراه آسپرین با تعداد ریتینگ ۷، توانست نسبت به سایر دوزهای عصاره در مقایسه با گروه کنترل با $p<0/001$ بی دردی بیشتری باعث گردد. استفاده توام عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم به همراه آسپرین نسبت به گروه آسپرین به تنهایی اثر ضددردی بیشتری را با$p<0/05$ اعمال کرد. همچنین تزریق توام عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم به همراه نالوکسان با تعداد ریتینگ ۳۵، سبب معکوس کردن اثرات ضد دردی نسبت به گروه عصاره ۲۰۰ میلی گرم برکیلو گرم به همراه آسپرین گردید(نمودار ۱)

تست تیل فلیک: در تست تیل فلیک تزریق دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره با میانگین زمان تاخیر۵.۲ ثانیه و ۶ ثانیه اثرات ضددری معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد به ترتیب با $p<0/05$ و $p<0/01$. نتایج حاصله نشان از آن دارد که تزریق دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره به همراه آسپرین با میانگین زمان تاخیر۵.۲ ثانیه و $p<0/05$ میانگین زمان تاخیر در تست تیل فلیک را بیش از گروه آسپرین به تنهایی افزایش داد (نمودار ۲).

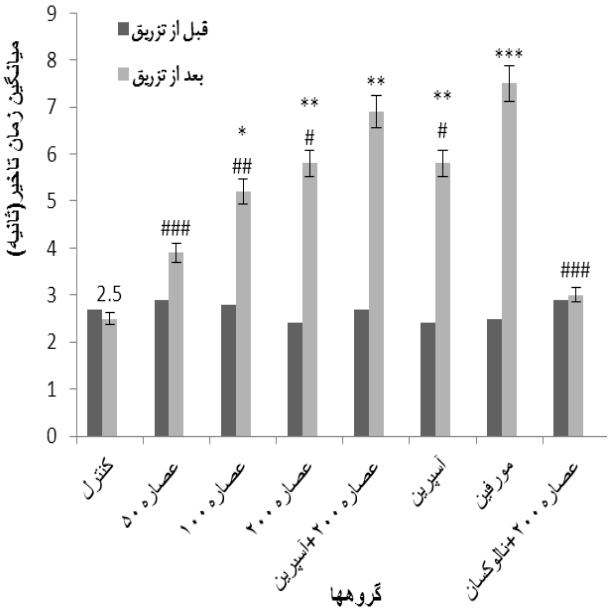
تست فرمالین: با توجه به نتایج حاصل از نمودار ۳، در فاز حاد تست فرمالین تزریق دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره با امتیاز درد ۷/۱ توانست سبب مهار درد نسبت به گروه کنترل گردد ($p<0/05$). همچنین تزریق دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره به همراه آسپرین توانست نسبت به گروه آسپرین به تنهایی، با امتیاز درد ۳/۱ اثر مهاری بیشتری بر درد اعمال کند ($p<0/05$). این در حالی است که در فاز مزمن تست فرمالین شاهد افزایش اثرات ضد دردی عصاره گیاه با دوزهای ۱۰۰ (با امتیاز درد ۵/۱) و ۲۰۰ (با امتیاز درد ۴/۱) میلی گرم بر کیلو گرم نسبت به گروه کنترل بودیم به ترتیب با: $p<0/05$ و $p<0/01$. همچنین در این فاز مزمن، تزریق دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره به همراه آسپرین (با امتیاز درد ۱)، توانست نسبت به گروه آسپرین سبب کاهش معنی دار درد گردد ($p<0/05$).



نمودار ۱. مقایسه میانگین تعداد ریتینگ موش صحرایی نر با غلظت های مختلف عصاره برگ گیاه رازیانه رومی در آزمون اسید استیک

$p<0/05$*، $p<0/01$ و $p<0/001$*** اختلاف معنی دار با گروه کنترل**

$p<0/05$#، $p<0/01$## و $p<0/001$### اختلاف معنی دار با گروه عصاره رازیانه رومی با دوز ۲۰۰میلی گرم بر کیلوگرم +آسپرین

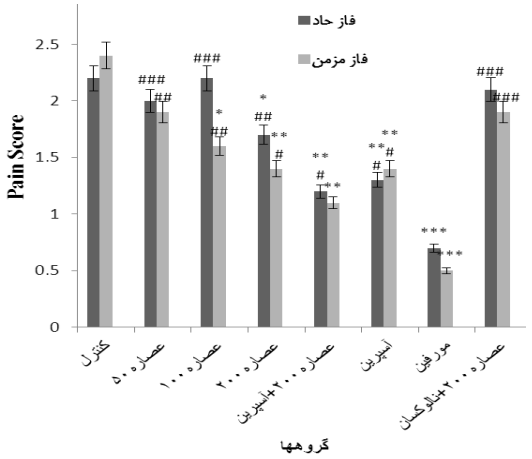


نمودار ۲. مقایسه زمان تاخیر در تست تیل فلیک در بین گروه های مورد آزمایش در قبل و بعد از تیمار

$p<0/05$*، $p<0/01$ و $p<0/001$*** نسبت به گروه کنترل**

$p<0/05$#، $p<0/01$## و $p<0/001$### اختلاف معنی دار با گروه عصاره رازیانه رومی با دوز ۲۰۰میلی گرم بر کیلوگرم +آسپرین

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.9]



نمودار ۳. مقایسه میانگین نمره درد موش صحرایی نر با غلظت های مختلف عصاره ی برگ گیاه رازیانه رومی در فاز حاد آزمون فرمالین

$^{*}p<0/05$، $^{**}p<0/01$ و $^{***}p<0/001$ اختلاف معنی دار با گروه کنترل

$^{\#}p<0/05$، $^{\#\#}p<0/01$ و $^{\#\#\#}p<0/001$ اختلاف معنی دار با گروه عصاره رازیانه رومی با دوز ۲۰۰میلی گرم بر کیلوگرم +آسپرین

نتیجه گیری

مطالعه حاضر، نشان داد که عصاره متانولی رازیانه رومی می تواند سبب کاهش درد گردد. در گذشته در سراسر جهان، گیاهان دارویی و طب وابسته به گیاهان به عنوان منبعی غنی از عوامل ضد بیماری استفاده می شده است (۱۸). در این مطالعه با توجه به آن که سمیت حاد عصاره بیش از ۲۱۲۵ میلی گرم بر کیلو گرم بود لذا استفاده از دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره رازیانه رومی ایمن به نظر می رسد. یکی از مهم ترین تست هایی که به منظور غربالگری ترکیبات ضددردی احتمالی استفاده می شود، تست ریتینگ می باشد که در آن از اسید استیک استفاده می شود ونیز یک تحریک شیمیایی است که به طور گسترده به منظور ارزیابی فعالیت ضددردی محیطی استفاده می شود (۱۹). تزریق درون صفاقی اسید استیک می تواند سبب ایجاد التهاب حاد صفاق شود. (۲۰). اسید استیک به طور غیر مستقیم سبب تحریک مدیاتورهای داخلی نظیر برادی کینین، سرتونین، هیستامین، ماده p و پروستاگلاندین ها می گردد (۲۱) که خودسبب تحریک گیرنده های درد (که نسبت به داروهای ضدالتهاب غیر استرئیدی نظیر آسپرین و اوپیوئیدها نظیر مورفین حساس می باشند) می گردد (۲۲). نتایج حاصل از تست ریتینگ در این مطالعه نشان داد که تزریق دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره توانست سبب مهار درد گردد. همچنین تزریق توام عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با آسپرین توانست اثر ضددردی بیشتری نسبت به آسپرین به تنهایی اعمال کند البته این اثر مهاری نسبت به مورفین کمتر بود. نتایج مطالعه نشان داد که تزریق دوزهای متوسط و زیاد عصاره موجب کاهش درد ناشی از محرک حرارتی در آزمون تیل فلیک شده است. تست تیل فلیک به منظور بررسی رفلکس های نخاعی و شناسایی مسیر ضددردی مرکزی استفاده می شود (۲۳و۲۲). در این تست نیز عصاره رازیانه رومی به تنهایی و نیز توام با آسپرین توانست اثرات ضد دردی مناسبی نشان دهد چنانچه توانست اثر مهاری بیشتری را نسبت به آسپرین اعمال کند. می توان پیشنهاد کرد که عصاره رازیانه رومی اثر ضددردی خود را از طریق سیستم عصب مرکزی اعمال می کند. مزیت استفاده از مدل ارزیابی کننده درد فرمالین این است که می تواند ترکیباتی که از طریق سیستم عصبی مرکزی اثر می کنند را از درد محیطی تشخیص دهد (۲۴). تزریق زیر جلدی فرمالین سبب ایجاد دو فاز مختلف دردزا می شود. فاز اول، فاز نوروژنیک (حاد) می باشد که در پیرامون نورون های فعال دردزا تحت اثر مستقیم فرمالین ایجاد می شود و فاز دوم که فاز التهابی (مزمن) نام دارد، در اثر فعال سازی نورون های شاخ شکمی در سطح نخاع ایجاد می شود (۲۵). نتایج مطالعه نشان داد که عصاره رازیانه رومی با دوز ۲۰۰ میلی گرم برکیلو گرم، توانست اثر مهاری بر درد اعمال کند و اثر توام آن با آسپرین نیز اثر ضد دردی بیشتری در مقایسه به آسپرین نشان داد، در فاز مزمن نیز مهار درد با استفاده از دزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ عصاره مشاهده شد، بنابراین این اثر به نحوی است که فاز مزمن را بیشتر از فاز حاد کاهش می دهد. فاز مزمن تست فرمالین، می تواند به علت التهاباتی باشد که سبب آزاد شدن ترکیباتی چون پروستاگلاندین های $F_{2\alpha}$ و E_2 شود که حداقل در برخی مقادیر می تواند باعث حساس سازی نورون های درد زای مرکزی شود (۲۶). به منظور ارزیابی تداخل سیستم اوپیوئیدی در اثر ضد دردی عصاره این گیاه از نالوکسان (یکی از داروهای آنتاگونیست سیستم اوپیوئیدی) استفاده شد که از فعال شدن رسپتورهای اوپیوئیدی جلوگیری می کند (۲۸و۲۷). نتایج مطالعه کنونی نشان داد که تزریق نالوکسان به همراه دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره موجب کاهش اثر ضددردی عصاره می شود. بنابراین به نظر می رسد که اثر عصاره گیاه در تسکین درد، به واسطه گیرنده های اوپیوئیدی باشد. وجود ترکیبات ساپونینی، ساپوژنین ها و فلاونوئیدها نظیر کوئرستین در این گیاه گزارش شده است (۲۹). گزارشاتی اثرات ضد دردی ساپونین ها را تایید کرده است (۳۰). حتی مهار آنزیم القایی نیتریک اکساید و سنتز سیکلواکسیژناز-۲ در مورد تری ترپنوئیدها گزارش شده است که خود زمینه ساز مهار درد می گردد (۳۲و۳۱). فلاونوئیدها تاثیرات بیولوژیک زیادی بر سنتز پروتئین، تمایز سلولی و شریانسازی در انسان دارد (۳۳). همچنین فلاونوئیدهای گوناگون، هم انواع گلیکوزیدی و هم انواع غیرقندی قبلا گزارش تاثیر ضد التهابی و ضددردی داشته اند (۳۶-۳۴). ترکیب ویژه دیگری که در عصاره این گیاه وجود دارد تانن می‌باشد و گزارش‌های مختلفی مبنی بر نقش تانن‌ها در ایجاد اثرات ضد دردی و ضد التهابی وجود دارد (۳۷). بنابراین بخش دیگری از اثرات ضد دردی عصاره گیاه می‌تواند به دلیل وجود تانن های موجود در آن باشد. با توجه به نتایج تحقیق به نظر می‌رسد عصاره متانولی برگ گیاه رازیانه رومی دارای خواص ضد دردی مرکزی و محیطی است و می‌تواند جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی ضد دردی باشد. به نظر می‌رسد فلاونوئیدها و تانن‌های موجود در عصاره با فعال کردن مسیرهای عصبی متعددی سبب کاهش درد می شوند که نیاز به پژوهش‌های بیشتر دارد. مطالعه بر روی چگونگی اثر عصاره گیاه رازیانه رومی بر گیرنده‌ها و بر همکنش عصاره با ناقلین عصبی یا آگونیست ها و آنتاگونیست‌های آن‌ها می‌تواند مسیرهای عصبی دقیق تحت تأثیر این عصاره را مشخص کند.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری صمیمانه آقای هادی گلمحمدی و تمامی همکاران و کسانی که در این امر ما را یاری نموده اند تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.9]

The Evaluation of the Analgesic Effects and Acute Toxicity of Methanol Extract of Pimpinella anisum.L in Male Wistar Rats

M. Asgari Nematian (MSc) [1], S. Mohammadi (PhD) [*2]

1.Department of Biology, Payam-noor University, Tehran, I.R.Iran
2.Department of Biology, Faculty of Sciences, Hamadan Islamic Azad University, Hamadan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 17(5); May 2015; PP:59-65
Received: Aug 6th 2014, Revised: Sep 24th 2014, Accepted: Feb 4th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Pimpinella anisum is a medicinal herb widely used in the traditional Iranian medicine to cure digestive, inflammatory, and spastic diseases. This study aimed to evaluate the analgesic effects of methanol extract of Pimpinella anisum.L in mature male Wistar rats.

METHODS: In this study, 48 male Wistar rats were divided into 8 groups of control, treated with the Pimpinella anisum.L extract (50, 100, 200 mg/kg), treated with morphine, aspirin, extract with naloxone and extract with aspirin. Extraction was performed via maceration, rating and tail flick tests. In addition, formalin tests were conducted to evaluate the analgesic effects of the extract, and all the injections were performed intraperitoneally.

FINDINGS: Co-administration of 200 mg/kg of Pimpinella anisum.L extract combined with aspirin was observed to produce significant analgesic effects ($p<0.05$) compared to aspirin alone, with a one-second reduction of time delay in the tail flick test. In the rating test, 200 mg/kg of the extract resulted in more significant analgesic effects compared to aspirin alone ($p<0.01$), reducing the number of abdominal contractions to 10. The acute toxicity of the extract was determined as 2125 mg/kg.

CONCLUSION: According to the results of this study, the methanol extract of Pimpinella anisum.L could exert analgesic effects in both the acute and chronic phases of pain.

KEY WORDS: *Analgesic, Methanol Extract, Pimpinella anisum.L, Pain.*

Please cite this article as follows:

Asgari Nematian M, Mohammadi S. The Evaluation of the Analgesic Effects and Acute Toxicity of Methanol Extract of Pimpinella anisum.L in Male Wistar Rats. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(5):59-65.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.9]

* **Corresponding Author: S. Mohammadi (PhD)**
Address: Hamadan Islamic Azad University, Hamadan, I.R.Iran
Tel: +98 813 2518064
E-mail: smiauhphd.sm@gmail.com

References

1.Goldman L, Bennett JC. Cecil textbook of medicine. 21th ed. London: WB SaundersCo. 2013.p.103-4.

2. Hochain P, Capet C, Colin R. [Digestive complications of aspirin]. Rev Med Interne. 2010; 21(Suppl 1):50s-9s.

3. Magaji MG, Anuka JA, Abdu-Aguye I, Yaro AH, Hussaini IM. Preliminary studies on anti-inflammatory and analgesic activities of Securinega virosa (Euphorbiaceae) in experimental animal models. J Med Plant Res. 2008;2(2):39-44.

4. Huang ZR, Lin YK, Fang JY. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. Molecules. 2009;14(1):540-54.

5. Zargari A. Medical Plants.2nd ed. Tehran: The University of Tehran Publication. 2012. p.502-7. [In Persian]

6.Esmaeile Ibn Hassan Jorjani Z. Zakhirah Kharazmshahi. 3nd ed. Tehran: National Works Publications.1970. p.141. [In Persian]

7. Soliman KM, Badeaa RI. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food Chem Toxicol. 2002;40:1669-75.

8. Singh G, Kapoor IP, Pandey SK, Singh UK, Singh RK. Studies of essential oils:part 10; Antibacterial activity of volatile oils of some spices. Phytother Res. 2002;16(7);680-2.

9. Pourgholami MH, Majzoob S, Javadi M, Kamalinejad M, Fanaee GH, Sayyah M.. The fruit essential oil of Pimpinella anisum exerts anticonvulsant effects in mice. J Ethnopharmacol. 1999;66(2):211-5.

10. Gulcin I, Oktay M, Kirecci E, ufrevioglu K. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (Pimpinella anisum L.) seed extracts. Food Chem2003;83, 371–82.

11. Reiter M, Brandt W. Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the guinea pig. Arzneimittelforschung. 1985;35(1A):408-14.

12. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain. 1983;16(2):109-10.

13. Menezes FS, Falcão DQ, de Mendoça Filho RFW, Silveira CS, Rennó MN, Rodrigues VP, et al. Chemical and pharmacological survey onBrazilian medicinal plants using ethnopharmacological information as a tool. Acta Hor. 2005;675:89-95.

14. Collier HO, Dinneen LC, Johnson CA, Schneider C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. Br J Pharmacol Chemother. 1968;32(2):295-310.

15. D'Amour FE, Smith DL. A method of determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther. 1941; 72(1):74-9.

16. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effect of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain. 1977;4(2):161-74.

17. Lorke DA. New approach to acute toxicity testing. Arch Toxicol. 1983;54(4):275-87.

18. Shoeb M. Anticancer agents from medicinal plants. Bangladesh J Pharmacol. 2006,1, 35–41.

19. Negus SS, Vanderah TW, Brandt MR, Bilsky EJ, Becerra L, Borsook D. Preclinical assessment of candidate analgesic drugs: recent advances and future challenges. J Pharmacol Exp Ther. 2006;319(2):507-14.

20. Koster R, Anderson M, De Beer EJ. Acetic acid for analgesic screening. Federation Proceedings.1959;18(1):412.

21. Jensen TS, Yaksh TL. Comparison of antinociceptive action of morphine in the periaqueductal gray, medial and paramedial in rat. Brain Res. 1986;363(1):99-113.

22. Le Bars D, Gozariu M, Cadden S. Animal models of nociception. Pharmacol Rev. 2001;53(4):597-625.

23. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. Pain. 1992;51(1):5-17.

24. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. Pain. 1989;38(3):347-52.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.9]

25. Verma PR, Joharapurkar AA, Chatpalliwar VA, Asnani A. Antinociceptive activity of alcoholic extract of Hemidesmus indicus R.Br. in mice. J Ethnopharmacol. 2005;102(2):298-301.
26. Vaccarino AL, Tasker RAR, Melzack R. Analgesia produce by normal doses of opioid antagonists alone and in combination with morphin. Pain 1989;36(1):103-9.
27. Borras MC, Becerra L, Ploghaus A, Gostic JM, Dasilva A, Gonzalez RG, et al. FMRI measurement of cns responses to naloxone infusion and subsequent mild noxious thermal stimuli in healthy volunteers. JN Physiol. 2004;91(6):2723-33.
28. Lin SL, Tsai RY, Shen CH, Lin FH, Wang JJ, Hsin ST, et al. Co-administration of ultra-low dose naloxone attenuates morphine tolerance in rats via attenuation of NMDA receptor neurotransmission and suppression of neuroinflammation in the spinal cords. Pharmacol Biochem Behav. 2010;96(2):236-45.
29. De Araujo PF, Coelho-de-Souza AN, Morais SM, Ferreira SC, Leal-Cardoso JH. Antinociceptive effects of the essential oil of Alpinia zerumbet on mice. Phytomedicine. 2005;12(6-7):482-6.
30.Ozek M, Uresin Y, Güngör M. Comparison of the effects of specific and nonspecific inhibition of nitric oxide synthase on morphine analgesia, tolerance and dependence in mice. Life Sci 2003;72(17):1943-51.
31.Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F. Flavonoids, old and new aspects of a class of natural therapeuticdrugs. Life Sci. 1999;65(4):337-53.
32.Simoes CM, Schenkel EP, Bauer L, Langeloh A. Pharmacological investigations on Achyrocline satureioides (Lam.) DC, Compositae. J Ethnopharmacol. 1988;22(3):293-81.
33.Alcaraz MJ, Hoult JR. Action of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, hypolaetin-8-glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. Bio Pharmacol. 1985;34(14):2477-82.
34.Toker G, Kupeli E, Memisoglu M, Yesilada E. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of Tilia argentea (silver linden). J Ethnopharmacol. 2004;95(2-3):393-7.
35.Fang S, Hao C, Liu Z, Song F, Liu S. Application of electrospray ionization mass spectrometry combined with sequential tandem mass spectrometry techniques for the profiling of steroidal saponin mixture extracted from Tribulus terrestris. Planta Med. 1999; 65(1):68-73.
36.de Araújo PF, Coelho-de-Souza AN, Morais SM, Ferreira SC, Leal-Cardoso JH. Antinociceptive effects of the essential oil of Alpinia zerumbet on mice. Phytomedicine. 2005;12(6-7):482-6.
37.Starec M, Waitzová D, Elis J. Evaluation of the analgesic effect of RG-tannin using the “hot plate” and “tail flick”method in mice. Cesk Farm. 1988;37(7):319-21.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.9.4]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.9]