

## بررسی اثر ضددردی عصاره متانولی گیاه کلپوره در موش سوری

دکتر محمودرضا حیدری<sup>۱</sup>، دکتر محمد کریمی نژاد رنجبر<sup>۲</sup>، دکتر احسان دادوند<sup>۳</sup> و دکتر سمیرا جلالی<sup>۳</sup>

### خلاصه

بعضی از گیاهان در طب سنتی به عنوان ضد درد مصرف می‌شوند. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات ضددردی گیاه کلپوره است که به طور سنتی برای رفع سردرد و دردهای روماتیسمی، تسکین دردهای دوران آبستنی و موارد دیگر بکار می‌رود. به این منظور عصاره‌های پرکوله و سوکسله سرشاخه‌های گلدار کلپوره با دوزهای مختلف به صورت داخل صفاقی (IP) به موش سوری تزریق گردید و اثر ضددردی با تست Tail-Flick (TF) و تست فرمالین اندازه گیری شد. طبق نتایج به دست آمده عصاره حاصل از روش پرکوله در تمامی دوزهای تزریق شده (۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) در تست TF قادر به ایجاد اثر ضد دردی معنی داری نسبت به گروه شاهد بوده است ( $P < 0/01$ ). دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بیشترین اثر ضددردی را ایجاد نموده که این اثر ۳۰ دقیقه پس از تزریق عصاره به حداکثر می‌رسد. تزریق عصاره حاصل از روش سوکسله کلپوره با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم اثر ضددردی کمتری نسبت به عصاره حاصل از روش پرکوله با همین دوز ایجاد نموده است ( $P < 0/01$ ). اثر ضد دردی دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره در تست TF در مقایسه با استیل سالیسیلیک اسید (ASA) با دوز ۳۰۰ mg/kg در دقایق ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۱۲۰ و با مرفین با دوز ۲/۵ mg/kg در دقایق ۱۵، ۳۰ و ۹۰ پس از تزریق تفاوت معنی داری نداشته است. نتایج حاصل از بررسی اثر ضد دردی کلپوره با تست فرمالین نشان داد که دوز ۵۰ mg/kg اثر ضددردی قابل توجهی نسبت به گروه کنترل نداشته و دوز ۱۰۰ mg/kg تنها قادر به مهار فاز دوم درد به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل است ( $P < 0/01$ ). دوز ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg بالاترین پاسخ ضددردی را ایجاد نموده و در هر دو فاز قادر به مهار درد به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل است ( $P < 0/01$ ). در تست فرمالین نیز اثر ضد دردی عصاره پرکوله بیشتر از عصاره سوکسله بود ( $P < 0/01$ ). اثر ضد دردی دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره در تست فرمالین در مقایسه با ASA با دوز ۳۰۰ mg/kg در هر دو فاز حاد و مزمن در یک حد بوده و تفاوت معنی داری نداشت در حالی که از اثر ضد دردی عصاره مرفین با دوز ۲/۵ mg/kg کمتر بود ( $P < 0/01$ ). در مجموع به نظر می‌رسد که عصاره کلپوره دارای اثرات ضددردی مناسبی است و می‌توان با مطالعات بیشتر در این زمینه فرآورده مناسبی از آن تهیه و جایگزین داروهای ضد درد شیمیایی موجود نمود.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، کلپوره، سنجش درد، تست فرمالین، تست Tail-Flick

## مقدمه

درد یکی از پدیده‌هایی است که هر انسانی در طول عمر خود با آن مواجه می‌شود و با وجود این که درد به عنوان یک عامل هشدار دهنده آسیب بافتی محسوب می‌شود، ولی به هر حال یک احساس ناخوشایند بوده و بشر همواره در پی راه‌های مقابله با آن است. استفاده از گیاهان دارویی از ابتدایی‌ترین روش‌های مقابله با بیماری‌ها و تسکین درد بوده‌اند. هم‌زمان با پیشرفت صنعت داروسازی، داروهای ضد درد صنعتی زیادی وارد بازار دارویی شده که علی‌رغم افزایش توانایی اثر ضددردی، اغلب عوارض جانبی زیادی به همراه داشته‌اند (۲۵). استفاده از گیاهان دارویی برای تسکین درد سابقه طولانی در طب دنیا و ایران دارد (۱،۷،۱۹،۲۱،۲۲). با توجه به این که مصرف داروهای گیاهی در حد متعادل عوارض جانبی خیلی کمتری نسبت به داروهای صنعتی دارد، لذا توجه دانشمندان به استفاده دوباره از گیاهان دارویی معطوف شده است (۱۰،۱۴).

در تحقیقات جدید برای گیاه گلپوره (*Teucrium Polium*) اثرات ضد تب، ضد باکتری، ضد التهاب (۲۰،۲۳،۲۹،۳۳)، ضد اولسر (۳۱) و پایین آورنده فشارخون (۲۸) ذکر شده است. روغن فراری که از گیاه گلپوره بدست می‌آید اثر آنتی‌گونیستی کلسیم دارد (۱۷). برای این گیاه اثر ضد درد، ضد اسپاسم و ضد تشنجی نیز ذکر شده است (۶،۱۱،۲۸). سرشاخه‌های گلدار خشک شده این گیاه سرشار از اسانس روغنی، مواد تلخ و تانن‌ها می‌باشد که قابض و دارای اثر مفید روی فعالیت دستگاه گوارش می‌باشند (۹،۱۰،۲۸). این گیاه در عربستان بطور گسترده‌ای توسط طبیبان سنتی برای موارد التهاب، روماتیسم، پانسمان زخم‌ها و به عنوان پایین آورنده قند خون توصیه می‌شود (۲،۱۲). طبق بررسی‌های به عمل آمده مصرف آن در رفع سردرد، ضعف عمل دستگاه گوارش، بیماری‌های دستگاه تناسلی، ادراری و تأخیر یا قطع قاعدگی به علت ضعف کلی مؤثر می‌باشد (۷). سرشاخه‌های گلدار گیاه گلپوره (*Teucrium Polium*) با مریم نخودی در طب سنتی به صورت دم کرده برای رفع دردهای دوره آبستنی بکار می‌رود (۱). گلپوره بعنوان ضدنفخ و ضد درد مصرف سنتی دارد (۳،۷).

با توجه به مطالب فوق مشخص می‌شود که در بعضی از منابع سنتی و کتب فارسی برای گیاه گلپوره اثرات ضد دردی قائلند و مردم نیز از آن به این منظور استفاده می‌کنند. با توجه به منابع اطلاعاتی خارجی، مطالعه علمی در مورد اثر ضد دردی این گیاه با استفاده از تست‌های جدید فارماکولوژیک ارزیابی اثر ضد دردی، انجام نشده است و تنها یک مطالعه در مورد اثر ضد دردی

عصاره الکلی گیاه گلپوره با روش صفحه داغ وجود دارد (۶). لذا در این مطالعه از عصاره متانولی سرشاخه‌های گلدار گلپوره، تهیه شده به دو روش سوکسله و پرکوله برای بررسی اثر ضد دردی با استفاده از تست Tail-Flick که یک تست حرارتی بوده و برای مشخص نمودن مکانیسم‌های مرکزی مفید است (۵،۱۵) و تست فرمالین که یک تست شیمیایی بوده و برای تفکیک مکانیسم‌های محیطی و مرکزی دخیل در کنترل درد مفید است استفاده شده است (۲۴،۲۷). بدیهی است که نتایج این مطالعه می‌تواند مبنایی برای اظهار نظر در مورد مصرف این گیاه دارویی به عنوان ضد درد باشد و نیز پایه اولیه برای مطالعات بعدی با استفاده از سایر مدل‌های فارماکولوژیک ارزیابی اثر ضد دردی شده و در صورت دارا بودن خاصیت ضد دردی قابل توجه در مطالعات حیوانی، مجوزی برای صرف هزینه‌های بیشتر برای جداسازی جزء مؤثره این گیاه و در نهایت شناخت مکانیسم ضد دردی و همین‌طور مطالعات سم‌شناسی خواهد بود.

## مواد و روش کار

## ۱- حیوان آزمایشگاهی

در این بررسی از موش‌های سوری نر سوئیزی سفید (Male Swiss Albino Mice) به وزن تقریبی (۲۵-۲۰) گرم استفاده شد. این موش‌ها از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه گردیدند و با غذای آماده استاندارد و آب معمولی تغذیه می‌شدند. حیوانات به استثنای زمان آزمایش به راحتی به آب و غذا دسترسی داشتند. حیوانات به صورت اجتماعی نگهداری می‌شدند. ۲۴ ساعت قبل از آزمایش موش‌ها از حیوان خانه به محیط آزمایشگاه منتقل شدند تا به محیط جدید عادت نمایند. درجه حرارت آزمایشگاه  $21 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد بود و کلیه آزمایش‌ها بین ساعت ۸ تا ۱۴ انجام شدند. هر موش فقط برای یک بار آزمایش استفاده و در پایان هر تجربه از طریق قطع نخاع کشته می‌شد.

## ۲- تهیه گیاه گلپوره

در این تحقیق از گیاه گلپوره با نام علمی *Teucrium Polium* (TP) روئیده شده در منطقه جویبار کرمان که در ماه‌های خرداد و تیر جمع‌آوری شده بود، استفاده گردید (۲،۱۶). نمونه گیاهی توسط گیاه‌شناس، شناسایی و نام‌گذاری علمی شد. در مرحله بعد نمونه گیاهی به آزمایشگاه منتقل و پس از تمیز کردن و خشک نمودن، سرشاخه‌های گلدار، آسیاب شده و پودر آنها با استفاده از الک ۴۰ و ۸۰ (Mesh size)

تهیه شد (۸).

## ۳- روش عصاره‌گیری

زیر قیف شیشه‌ای قرار می‌گرفت. در مرحله بعد محلول تزریقی فرمالین ۵٪ به میزان ۲۵ میکرولیتر به عنوان عامل ایجادکننده درد به صورت زیرجلدی به کف پای راست حیوان تزریق می‌شد. بلافاصله پس از تزریق، حیوان به زیر قیف شیشه‌ای منتقل شده و پاسخ در برابر درد به مدت ۳۰ دقیقه ثبت می‌گردید. در این تست از ۱۲ گروه ۷ تایی موش سوری استفاده شده است.

پاسخ در برابر درد عبارت از مجموع زمان‌هایی بود که موش صرف نکان دادن، لیسیدن و گازگرفتن پای تزریق شده می‌نمود. این زمان‌ها بر حسب ثانیه برای هر ۵ دقیقه اندازه‌گیری و ثبت می‌گردید و مقدار عددی آن معرف میزان درد ایجاد شده ناشی از تزریق فرمالین می‌باشد. درد حاصله در ۵ دقیقه اول پس از تزریق فرمالین، درد حاد و در فاصله زمانی ۲۵ تا ۳۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین، درد مزمن نامیده می‌شود (۲۴،۳۰).

برای انجام تست Tail-Flick از دستگاه Tail-Flick (ساخت شرکت پویای ارمان) استفاده شد. فاصله زمانی از لحظه تابش اشعه دردزای دستگاه تا لحظه منحرف شدن دم موش از مسیر تابش، بر حسب ثانیه به عنوان زمان تأخیر توسط دستگاه ثبت گردید که از آن برای محاسبه اندکس ضد دردی Analgesia Index (A.I) طبق رابطه زیر استفاده شده است (۵،۱۵).

$$\%A.I = \frac{\text{Test Latency} - \text{Control Latency}}{\text{Cut off} - \text{Control Latency}} \times 100$$

Test Latency: Latency بعد از تجویز عصاره

Control Latency: Latency درست قبل از تزریق عصاره در همان موش

Cut off: حداکثر مدت مجاز تابش اشعه گرمازا به دم موش (برای جلوگیری از صدمه بافتی).

اثر ضد دردی تا ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق با فواصل ۱۵ تا ۳۰ دقیقه ثبت گردیده است. در این تست از ۱۲ گروه ۹ تایی موش سوری استفاده شده است.

## ۶- محاسبات آماری

نتایج با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و متعاقب آن Newman Keuls بین گروه‌هایی که غلظت‌های متفاوت عصاره یا حامل، مرفین و ASA دریافت کرده‌اند، مورد مقایسه قرار گرفته و اختلاف با (P < ۰/۰۵) معنی‌دار در نظر گرفته شده است (۵،۲۴).

## نتایج

۱- اثرات ضد دردی عصاره کلپوره با تست Tail-Flick

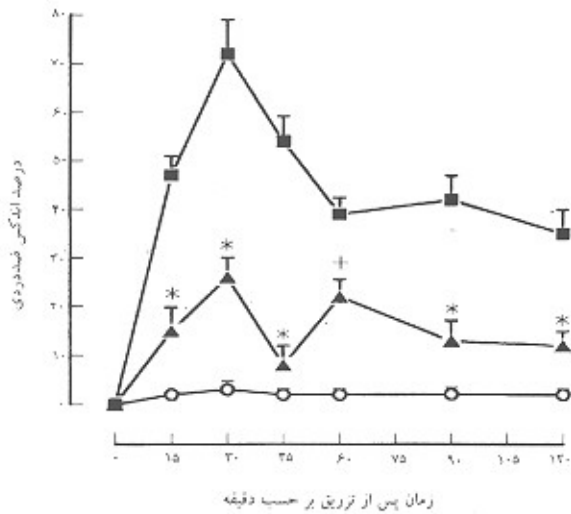
مقدار ۱۰۰ گرم از پودر آماده شده با ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ با دو روش پرکولاسیون به مدت ۷۲ ساعت و سوکسله به مدت ۴ ساعت جداگانه عصاره‌گیری شد و در مرحله بعد عصاره به دست آمده به کمک دستگاه تقطیر در خلأ و در ۴۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد تا حد خشک شدن تغلیظ گردید (۸).

## ۴- روش ساخت و میزان محلول‌های تزریقی

۳۰۰ میلی‌گرم عصاره خشک را در ۱۰۰ ml سرم فیزیولوژی حل کرده تا محلول ۳۰۰ mg/۱۰۰ ml یا ۳۰ mg/۱ ml به دست آید. هر گاه از این محلول به میزان ۱۰ ml/kg یا ۱۰۰ ml/۱۰۰ g به حیوان تزریق شود معادل دوز ۳۰۰ mg/kg خواهد بود. برای ساخت محلول‌های دیگر برای سایر دوزها، رقیق‌سازی با سرم فیزیولوژی انجام شد تا محلول‌های با غلظت متفاوت یعنی ۲۰۰ mg/۱۰۰ ml، ۱۰۰ mg/۱۰۰ ml و ۵۰ mg/۱۰۰ ml برای تزریق به میزان ۱۰ ml/۱۰۰ g به صورت داخل صفاقی به ترتیب برای دوزهای ۲۰۰ mg/kg، ۱۰۰ mg/kg و ۵۰ mg/kg به دست آید. چون در مورد کلپوره روش پرکولاسیون مناسب‌تر می‌باشد (۸)، دوزهای تجربی متفاوت از عصاره پرکوله مورد استفاده قرار گرفت و عصاره سوکسله فقط با دوز ۲۰۰ mg/kg (مؤثرترین دوز عصاره پرکوله) استفاده شد. به گروه کنترل منفی سرم فیزیولوژی به میزان ۱۰ ml/kg و به گروه کنترل مثبت مرفین به میزان ۲/۵ mg/kg یا استیل سالی سیلیک اسید (ASA) به میزان ۳۰۰ mg/kg تزریق شد.

## ۵- روش انجام تست ضد دردی

به منظور ارزیابی اثر ضد دردی عصاره‌ها، از تست فرمالین Test Formalin و Tail-Flick استفاده شد. تست فرمالین یکی از تست‌های استاندارد در مورد اندازه‌گیری پاسخ در برابر درد می‌باشد. در این تست حیوان آزمایشگاهی روی یک چهار پایه آلومینیومی که روی آن یک شیشه قرار دارد، قرار داده می‌شود. بر روی صفحه شیشه‌ای قیف دهانه‌گشادی به قطر ۲۰ سانتی‌متر وجود دارد که حیوان در زیر قیف شیشه‌ای و روی شیشه چهارپایه قرار می‌گیرد. در فاصله‌ای از صفحه شیشه‌ای و سطح افق آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه نسبت به سطح افقی قرار گرفته است که مشاهده حرکات موش در آینه آسان‌تر باشد. قبل از هر آزمایش حیوان به طور دقیق توزین شده و به منظور تطبیق با محیط جدید ۱۵ دقیقه



نمودار ۲: رابطه اندکس ضد دردی عصاره‌های پرکوله و سوکسله

کلپوره بر حسب زمان در موش سوری با روش Tail Flick

به موش‌ها مقدار ۱۰ ml/kg سرم فیزیولوژی (○) یا دوز ۲۰۰ mg/kg از عصاره پرکوله (■) یا سوکسله (▲) کلپوره تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار اندکس ضد دردی در ۹ موش می‌باشد. \*  $P < 0.05$  و \*  $P < 0.01$  اختلاف معنی‌دار نسبت به عصاره پرکوله

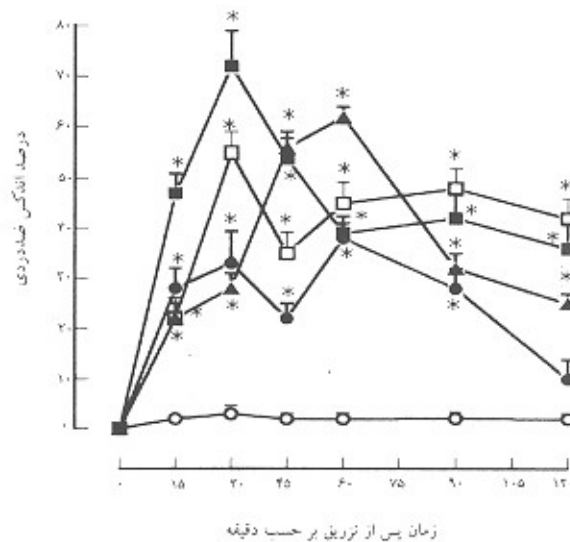
### ۳- مقایسه پاسخ ضددردی عصاره کلپوره با مرفین و ASA با تست Tail-Flick

عصاره پرکوله با دوز ۲۰۰ mg/kg در زمان‌های ۱۵، ۳۰ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق، نسبت به مرفین ۲/۵ mg/kg و در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق نسبت به استیل سالیسیلیک اسید (ASA) ۳۰۰ mg/kg اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرده است (نمودار ۳).

### ۴- اثرات ضد دردی عصاره کلپوره با تست فرمالین

به هر یک از گروه‌های آزمایش ۱۵ دقیقه قبل از تزریق ۲۵ میکرولیتر فرمالین ۰/۵٪ به صورت زیر پوستی در کف پای راست حیوان، دوزهای مختلف عصاره متانولی پرکوله کلپوره ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی، تزریق گردید. نتایج نشان می‌دهد که دوز ۵۰ mg/kg اثر ضددردی معنی‌داری ایجاد نکرده (داده‌ها نشان داده نشده)، اما دوز ۱۰۰ mg/kg قادر به مهار فاز دوم درد ناشی از فرمالین بوده است. دوز ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg دارای حداکثر اثر ضددردی بوده و قادر به مهار فاز حاد و مزمن درد بوده است (نمودار ۴) ( $P < 0.01$ ).

اثر ضددردی عصاره متانولی حاصل از روش پرکوله با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم سنجیده شد. عصاره فوق، در تمامی دوزها و در تمامی زمان‌های بررسی شده، پاسخ ضددردی معنی‌داری را ایجاد کرده است ( $P < 0.01$ ). تنها دوز ۵۰ mg/kg عصاره پرکوله، ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد ایجاد نکرد. دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره بیشترین اثر ضددردی را ایجاد نمود ( $P < 0.01$ ) و حداکثر اثر ضددردی، ۳۰ دقیقه پس از تزریق عصاره مشاهده گردید ( $P < 0.01$ ) (نمودار ۱).



نمودار ۱: رابطه اندکس ضد دردی دوزهای مختلف عصاره کلپوره بر

حسب زمان در موش سوری با روش Tail Flick

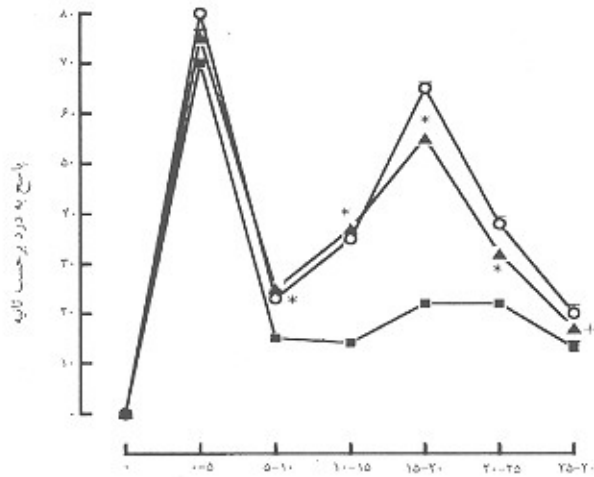
به موش‌ها مقدار ۱۰ ml/kg سرم فیزیولوژی (○) یا عصاره پرکوله کلپوره با دوزهای ۵۰ mg/kg (●)، ۱۰۰ mg/kg (▲)، ۲۰۰ mg/kg (■) یا ۳۰۰ mg/kg (□) تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار اندکس ضد دردی در ۹ موش می‌باشد. \*  $P < 0.05$  و \*  $P < 0.01$  اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه سرم فیزیولوژی

### ۲- مقایسه پاسخ ضددردی عصاره پرکوله و سوکسله کلپوره با تست Tail-Flick

عصاره متانولی حاصل از روش سوکسله با مؤثرترین دوز روش پرکوله (۲۰۰ mg/kg) انتخاب شد و بصورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق گردید و اثر ضددردی آن با عصاره متانولی حاصل از روش پرکوله با همان دوز مقایسه گردید. نتایج حاصله نشان دهنده اثر ضددردی بالاتر عصاره حاصل از روش پرکوله نسبت به دوز مشابه از عصاره حاصل از روش سوکسله می‌باشد (نمودار ۲).

۵- مقایسه پاسخ ضددردی عصاره پرکوله و سوکسله کلیپوره با تست فرمالین

پانزده دقیقه قبل از تزریق فرمالین ۰/۵٪ عصاره حاصل از روش سوکسله با مؤثرترین دوز روش پرکوله به صورت داخل صفاقی به گروه مورد آزمایش تزریق گردید. همان طور که در نمودار ۵ مشخص است عصاره حاصل از روش سوکسله قادر به ایجاد اثر ضددردی کمتری در مقایسه با عصاره پرکوله بوده است (P < ۰/۰۱).



فواصل زمانی پس از تزریق بر حسب دقیقه

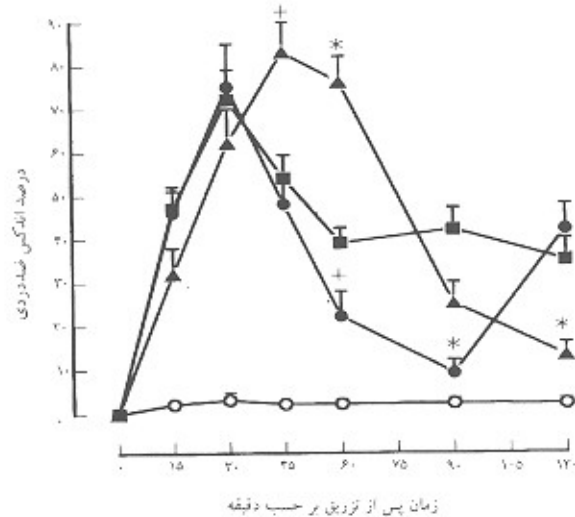
نمودار ۵: رابطه اثر ضد درد عصاره پرکوله و سوکسله کلیپوره بر حسب زمان در موش سوری با تست فرمالین

به هر گروه از موش ها سرم فیزیولوژی به میزان (۱۰ ml/kg، ○) یا دوز ۲۰۰ mg/kg از عصاره (پرکوله، ■) یا سوکسله (▲) کلیپوره، به صورت داخل صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± میانگین خطای معیار مدت زمان پاسخگویی به اثر دردزایی فرمالین در ۷ موش می باشد.

+ P < ۰/۰۵، \* P < ۰/۰۱، اختلاف معنی دار نسبت به عصاره پرکوله

۶- مقایسه پاسخ ضددردی عصاره کلیپوره با مرفین و ASA با تست فرمالین

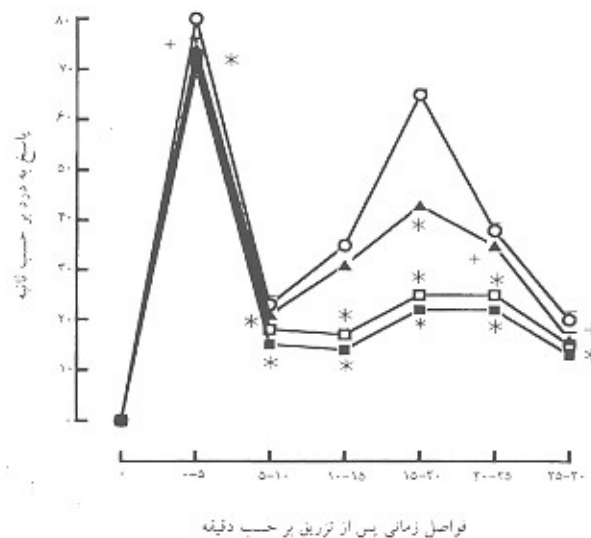
عصاره پرکوله کلیپوره با دوز ۲۰۰ mg/kg در مقایسه با مرفین (۲/۵ mg/kg) در هر دو فاز اثر ضد درد کمتری ایجاد نموده (P < ۰/۰۱)، در حالی که در مقایسه با ASA (۳۰۰ mg/kg) در هیچ یک از فازهای درد اختلاف معنی داری مشاهده نشد (نمودار ۶).



نمودار ۳: رابطه اندکس ضد درد مؤثرترین دوز عصاره های پرکوله کلیپوره و اسپیرین و مرفین بر حسب زمان در موش سوری با روش Tail Flick

به موش ها مقدار ۱۰ ml/kg سرم فیزیولوژی (○) یا دوز ۲۰۰ mg/kg از عصاره پرکوله (■) یا اسنیل سانی سیلیک اسید ۳۰۰ mg/kg (●) یا مرفین ۲/۵ mg/kg (▲) تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± میانگین خطای معیار اندکس ضد درد در ۹ موش می باشد.

+ P < ۰/۰۵، \* P < ۰/۰۱، اختلاف معنی دار نسبت به گروه عصاره



نمودار ۴: رابطه اثر ضد درد دوزهای مختلف عصاره کلیپوره بر حسب زمان در موش سوری با تست فرمالین

به موش ها سرم فیزیولوژی به میزان (۱۰ ml/kg، ○) یا دوزهای مختلف عصاره پرکوله کلیپوره (▲، ۱۰۰ mg/kg، ■) و (۲۰۰ mg/kg، □) به صورت داخل صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± میانگین خطای معیار مدت زمان پاسخگویی به اثر دردزایی فرمالین در ۷ موش می باشد.

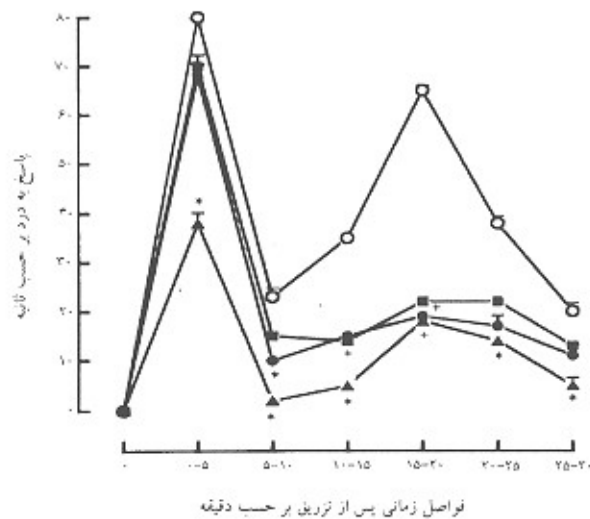
+ P < ۰/۰۵، \* P < ۰/۰۱، اختلاف معنی دار نسبت به گروه سرم فیزیولوژی

توجه به این که در تست‌های حرارتی سنجش درد، مثل (TF) و صفحه داغ مکانیسم‌های مرکزی درد دخالت دارند (۱۵) لذا به نظر می‌رسد که مکانیسم‌های مرکزی کنترل درد، در اثرات ضد دردی عصاره گیاه کلپوره دخیل باشند.

در تست فرمالین دوز ۵۰mg/kg عصاره قادر به ایجاد اثر ضد دردی در مقایسه با گروه شاهد نبوده، دوز ۱۰۰ mg/kg فقط فاز اول یا فاز حاد درد را کاهش داده و دوزهای ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg باعث کاهش مختصر ولی معنی دار فاز اول درد و مهار فاز دوم درد شده‌اند. با توجه به این که در فاز اول درد تست فرمالین، تحریک مستقیم گیرنده‌های درد و مکانیسم‌های مرکزی درد دخالت دارد، در حالی که در فاز دوم درد روندهای التهابی مهم‌ترند (۲۶،۳۰)، به نظر می‌رسد که عصاره کلپوره دارای اثر ضد التهابی نیز باشد. یکسری مطالعات دیگر نیز در حمایت از این مطلب وجود دارد (۲۰،۲۹). به عبارت بهتر اثرات ضد دردی عصاره گیاه کلپوره هم از طریق دخالت در مسیرهای مرکزی درد و هم از طریق محیطی و ضد التهابی واسطه‌گری می‌شود، که برای روشن شدن این مطلب، مطالعات بیشتری لازم است.

در این مطالعه عصاره پرکوله نسبت به عصاره سوکسله در هر دو تست ضد درد، اثر ضد درد بیشتری ایجاد نموده است (نمودارهای ۲ و ۵). با توجه به این که عصاره گیری به روش سوکسله با حرارت انجام می‌گیرد، احتمالاً ماده موثره ضد درد گیاه کلپوره تا حدی به حرارت حساس بوده و مقداری از آن در اثر حرارت تجزیه گردیده و در نتیجه اثر ضد دردی آن کاهش یافته است (۵،۸). لذا به نظر می‌رسد عصاره گیری به روش پرکوله برای استخراج مواد موثره‌ای که باعث ایجاد بی‌دردی در گیاه کلپوره می‌شوند، نسبت به روش سوکسله مناسب‌تر باشد.

عصاره کلپوره با دوز ۲۰۰mg/kg در زمان‌های ۱۵، ۳۰ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق نسبت به مرفین (۲/۵mg/kg) تفاوت معنی داری در اثر ضددردی در تست TF نداشته و اثر ضد دردی تقریباً در حد مرفین (۲/۵mg/kg) ایجاد نموده است. ولی در ۴۵ (P<۰/۰۵) و ۶۰ و ۱۲۰ (P<۰/۰۱) پس از تزریق اختلاف معنی دار دیده می‌شود. در تست فرمالین اثر ضد دردی عصاره در تمام زمان‌ها کمتر از مرفین بوده است. با توجه به این که عصاره به صورت تام استفاده شده است، لذا تفاوت مشاهده شده مذکور دور از انتظار نیست. اثر ضد دردی عصاره گیاه کلپوره با دوز ۲۰۰mg/kg در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق نسبت به ASA با دوز ۳۰۰mg/kg در تست TF اختلاف معنی دار نداشته، بنابراین اثر ضددردی در حد ASA در دقایق ذکر شده ایجاد کرده است، و در دقیقه ۶۰ (P<۰/۰۵) و ۹۰



نمودار ۶: رابطه اثر ضد دردی عصاره پرکوله کلپوره با مرفین و استیل سالیسیلیک اسید بر حسب زمان در موش سوری با تست فرمالین

به هر گروه از موش‌ها نرمال سالیین به میزان (۱۰ ml/kg, ۰) یا دوز ۲۰۰ mg/kg از عصاره (پرکوله، کلپوره یا مرفین ۲/۵mg/kg) یا استیل سالیسیلیک اسید ۳۰۰ mg/kg (●) به صورت داخل صفاقی ۱۵ دقیقه قبل از فرمالین تزریق گردیده است. هر نقطه نمایانگر میانگین ± میانگین خطای معیار مدت زمان پاسخ‌گویی به اثر دردزایی فرمالین در ۷ موش می‌باشد.  
+، P<۰/۰۱، \*، P<۰/۰۵ اختلاف معنی دار نسبت به گروه عصاره

### بحث و نتیجه‌گیری

در این مجموعه اثرات ضددردی عصاره سوکسله و پرکوله گیاه کلپوره بصورت تام با تست Tail Flick (TF) و تست فرمالین (FT) در موش سوری نر بررسی شده است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg عصاره پرکوله گیاه کلپوره در تست TF قادر به ایجاد اثرات ضددردی در مقایسه با گروه شاهد بوده است (P<۰/۰۱). دوز ۲۰۰mg/kg دارای بیشترین اثر ضد درد بوده و این دوز عصاره قادر است ۳۰ دقیقه پس از تزریق حداکثر اثر ضددردی را نشان دهد (P<۰/۰۱) و در سایر دقایق نیز اثر ضددردی مناسبی را نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد (P<۰/۰۱). چنین به نظر می‌رسد که دوز ۲۰۰mg/kg حداکثر غلظت خونی را در محل اثر ایجاد نموده است (۴) و به همین دلیل بیشترین اثر ضد دردی را داشته است و دوز بالاتر از آن اثر ضد دردی بیشتری ایجاد نکرده است. بنظر می‌رسد که دوز ۳۰۰mg/kg دوز سمی بوده و احتمال این که از طریق اثرات غیر فارماکولوژیک و سمی باعث کاهش اثر ضد دردی در این دوز شده باشد، وجود دارد (۴). عصاره الکلی این گیاه در تست صفحه داغ نیز اثر ضد درد قابل توجهی ایجاد نموده (۶) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. با

اثرات متنوعی بوده و تفکیک اثرات آنها نیاز به تحقیقات وسیعی دارد.

کلپوره یا مریم نخودی یا (Teucrium polium) در طب سنتی به عنوان ضد درد (۷،۱۰) و برطرف کننده دردهای دوران آبستنی (۱)، ضد التهاب (۲۰،۲۹) و برطرف کننده سردرد (۷) مصرف دارد. یافته‌های این تحقیق نیز در جهت حمایت علمی استفاده از کلپوره به عنوان ضد درد، می‌باشد که مطالعات بیشتری در این زمینه لازم است.

لازم به ذکر است با توجه به این که گیاهان دارویی جایگاه ویژه‌ای در طب سنتی مردم به ویژه ایرانیان دارند و تحقیقات علمی در مورد گیاهان خیلی محدود است، مطلوب است تحقیقات وسیع تری در مورد آثار دارویی گیاهان انجام شود.

در این تحقیق اثر ضد دردی عصاره متانولی سوکسله و پرکوله گیاه کلپوره، که تقریباً بومی کشور ما است، به صورت تام مشخص گردیده است. لذا لازم است عصاره‌گیری با حلال‌های متفاوت انجام شود تا با اطمینان بیشتری راجع به اثر ضد دردی این گیاه که در طب سنتی مصرف می‌شود قضاوت علمی گردد و چنانچه اثرات ضد دردی قابل توجهی از عصاره های این گیاه حاصل شد، با اطمینان بیشتر و با توجه بیشتری می‌توان هزینه های بیشتری را برای ادامه تحقیق در جهت جداسازی اجزاء مؤثره ضد درد احتمالی و همین‌طور شناسایی مواد مؤثره انجام داد تا در صورت وجود اثر ضد دردی قابل توجه اجزاء مؤثره به صورت جداگانه، اقدام به مطالعات سم‌شناسی بر روی هر کدام از اجزاء نموده و در صورت غیر سمی بودن سایر تحقیقات ادامه یافته و روند دریافت مجوز مصرف این مواد را در انسان تسهیل نمود.

### سپاسگزاری

از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان که بخش از هزینه های این تحقیق را تقبل نموده‌اند و خانم طاهره کریمی‌نژاد و آقای جلال وفازاده که در نگارش مقاله همکاری نموده‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

( $P < 0.01$ ) پس از تزریق اثر عصاره کمتر از ASA بوده است. در تست فرمالین اثر ضد دردی عصاره و ASA در هیچ یک از زمان‌ها، تفاوت معنی‌داری نداشته و به عبارت دیگر اثر ضد دردی آن در حد ASA بوده است. با توجه به این که ASA یک داروی ضد التهاب می‌باشد و فاز دوم درد در تست فرمالین ناشی از روندهای التهابی است، این احتمال که عصاره گیاه کلپوره از طریق تاثیر بر روندهای التهابی، اثر ضد دردی خود را اعمال کند، تقویت می‌شود (۲۰،۲۹). بدیهی است که اظهار نظر قاطع نیاز به مطالعات بیشتر دارد. در بررسی منابع اطلاعاتی هیچ‌گونه مطالعه دیگری در مورد اثر ضد دردی گیاه کلپوره یافت نشد که یافته‌های این تحقیق با آن مقایسه شود.

عصاره این گیاه شامل فلاونوئیدها و استروئول می‌باشد (۱۳،۱۸،۲۳،۳۲،۳۳) که احتمالاً مسؤول ایجاد اثر و فعالیت ضد التهابی این گیاه است (۲۰،۲۹) و بنابراین احتمال دارد که این مواد مسؤول ایجاد اثر ضد دردی نیز باشند.

با توجه به این که قسمتی از ماده متشکله گیاه کلپوره اثر آنتاگونیستی کلسیم دارد (۱۷)، احتمال دخالت کانال‌های کلسیمی نیز در اثر ضد دردی عصاره کلپوره وجود دارد. در ترکیب اسانس این گیاه بیش از ده نوع ترکیب ترپنوئیدی (Terpenoidal compound) شامل هیدروکربن‌ها و الکل‌ها یافت شده است. که در مطالعات داروشناسی مقدماتی اثر ضد اسپاسم قوی از خود نشان داده‌اند. با روش‌های پیشرفته از جمله کمک گرفتن از دستگاه G.C mass مشخص شده که یک سری از این ترکیبات از دسته سسکویی‌ترین‌ها هستند (۲۳).

ترکیبات دیگر شامل آلکالوئید (Alkaloid) (۱۶،۳۳) گلیکوزید (Glycosid) (۳۳)، تری ترپن (Triterpene) (۱۶،۳۳) استروئول (۲۳،۳۳)، فلاونوئید (۲۹،۳۲) ترکیبات ترپنوئیدی (۲۳)، تانن (۶) و ساپونین (۶،۱۶،۳۲) است. در اسانس این گیاه ترکیبات Mentufuran, Ocymene,  $\alpha_1$  Pinene, Myrcene, Pulegone وجود دارد. این اسانس غنی از انواع الکل‌ها بوده ولی فاقد ترکیب استری است (۱۳). هرکدام از ترکیبات فوق دارای

## Summary

Evaluation of the Analgesic Effect of Teucrium Polium Extract in Mice

MR. Heidari, Pharm. D., PhD<sup>1</sup>; M. Karaminezhad Ranjbar PhD<sup>2</sup>, E. Dadvand, Pharm. D<sup>3</sup> and S. Jalali, Pharm. D<sup>3</sup>.

1. Assistant Professor of Toxicology and Pharmacology, School of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran,
2. Associate Professor, Iranian Research Organization of Science and Technology (IROST)
3. Pharmacist

*In traditional medicine, some of the plants have been used as analgesics. The aim of this investigation was to evaluate the analgesic effects of Teucrium polium (TP) used traditionally to relieve headache, rheumatic arteritis and pain during pregnancy. For this purpose the percolated and suxheleted extracts of TP, with different doses, were injected intraperitonealy to the mice and the analgesic effect was determined by Tail Flick test (TF) and Formalin Test (FT). The results by TF test showed that the percolated extract with doses of 50, 100, 200 and 300 mg/kg, can induce significant analgesia compared to the control group ( $P < 0.01$ ). The maximum analgesic effect was induced with the dose of 200mg/kg and reached the peak 30 min following injection. The suxhleted extract with dose of 200mg/kg, induced less analgesic effects than the equall dose of percolated extract ( $P < 0.01$ ). The analgesic effect of 200 mg/kg of extract in TF test showed no significant difference compared to Acetil Salicylic Acid (ASA) used (300 mg/kg) in 15, 30, 45 and 120 min intervals and also no significant difference was observed compared to morphine (2.5 mg/kg) in 15, 30 and 90 min after injection. The results by FT have shown that the injection of 50mg/kg percolated extract did not induce significant analgesia in comparison with the control group while administration of 100mg/kg is able to inhibit the second phase of pain significantly ( $P < 0.01$ ). However the doses of 200 & 300 mg/kg induced the highest analgesic effect and inhibited both phases of pain significantly ( $P < 0.01$ ). No significant difference was observed in acute and chronic phases of pain with 200 mg/kg off extract compared to ASA. The analgesic effect of extract was less than that of (2.5 mg/kg) morphine ( $P < 0.01$ ). The result suggested that TP extract has a desirable analgesic effect and further studies are requied to produce more effective product of this plant to substitute for chemical analgesic drugs.*

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 1999; 6(3): 67-76.*

**Key Words:** Medicinal plants, Teucrium Polium, Pain measurement, Formalin test, Tail- Flick test

## منابع

- ۱- آئینه چمن، یعقوب: مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۷۰، ص ۱۰۷۹.
- ۲- امیرحیدری، باقر: جمع آوری و شناسایی بررسی فیتوشیمیایی و مقایسه تین لایر کروماتوگرافی گونه های گیاه گلپوره. پایان نامه دانشکده داروسازی کرمان، شماره ۷۱، (۱۳۷۳)، ص ۱۴-۱۱.
- ۳- امین، غلامرضا: گیاهان دارویی سنتی ایران. انتشارات معاونت پژوهشی وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، چاپ فرهنگ، ۱۳۷۰، ص ۶۰-۵۰.
- ۴- حسن زاده خیاط، محمد: بیوفارماسی و کبنتیک داروها. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۷۱، ص ۲۴۰.
- ۵- حیدری، محمودرضا، شریفی فر، فریبا، اورنگی، بهروز و سلمانی بفرولی، محسن: بررسی اثر ضد دردی عصاره هیدروالکلی زنجبیل و فلفل سیاه به روش Tail-Flick در موش سوری. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۶، دوره چهارم، شماره ۳، ص ۱۱۳-۱۰۷.



- ۶- خوبان، حسین. بررسی اثرات فارماکولوژیکی (ضددردی، آنتی اسپاسمودیکی، ضدتنجی) گیاه کلپوره. پایان نامه دانشکده داروسازی مشهد، (۷۴-۱۳۷۳)، ص ۹-۱۰.
- ۷- زرگری، علی: گیاهان دارویی. جلد چهارم. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ چهارم، ۱۳۶۹، ص ۱۴-۱ و ۱۳۲-۱۳۰.
- ۸- صمصام شریعت، سیدهادی: عصاره گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش های شناسایی و ارزشیابی آنها. انتشارات سانی، ۱۳۷۱، ص ۱۰-۲۱.
- ۹- صمصام شریعت، سیدهادی: مبانی نسخه پیچی گیاهی. انتشارات مشعل اصفهان، چاپ پنجم، ۱۳۶۸، ص ۲۰۹-۲۰۶.
- ۱۰- فلوک، هانس: گیاهان دارویی، ترجمه توکلی صابری، محمدرضا و صداقت، محمدرضا. انتشارات روزبهان، چاپ سوم، ۱۳۷۸، صفحه ۱۲۳.
- ۱۱- قلی تبار عمرانی، طهماسب: بررسی و مقایسه اثر آنتی اسپاسمودیکی عصاره الکلی گیاهان بومادران، گلپر، انغوزه، مریم گلی بر روی ایلوم حوکه هندی. پایان نامه دانشکده داروسازی مشهد، ۷۳-۱۳۷۲، ص ۹-۶.
- ۱۲- فهارزاده، احمد: بررسی اثر پایین آورنده قندخون عصاره گیاه کلپوره. پایان نامه دانشکده داروسازی کرمان، شماره ۱۶۶، ۱۳۷۵، ص ۴۷-۴۵.
- ۱۳- مجاب، فرامرز: بررسی مواد متشکله موجود در اساس ۵ گیاه بومی ایران. پایان نامه دانشکده داروسازی تهران، شماره ۱۲، ۷۵-۱۳۷۴، ص ۳۰-۲۵.
- ۱۴- میرحیدر، حسین: معارف گیاهی: کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری ها. جلد چهارم، دفتر نشر فرهنگ اسلامی، چاپ اول، ۱۳۷۳، ص ۲۲۴-۲۲۵.
- ۱۵- واعظ مهدوی، محمدرضا: دیناچه ای بر روش شناسی مطالعات و پژوهش های درد. مرکز چاپ و انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۴، ص ۴۴-۴۱.
- ۱۶- ولیزاده، سعید: جمع آوری، تعیین نام علمی و بررسی فیتوشیمیایی گیاهان شهرستان بردسیر کرمان. پایان نامه دانشکده داروسازی کرمان، شماره ۸، ۷۳-۱۳۷۲، ص ۵۷.
17. Aqel MB, Gharaibeh MN, and Salhab AS. The Calcium antagonistic effect of the volatile oil of *Teucrium polium*. *Int J Crude Drug Res* 1990; 28(3): 201-207.
18. Arnold N, Bellomaria B, Valentini G and Razaiani SM. Comparative study on essential oil of some *teucrium* species from cyprus. *J Ethnopharmacol* 1991; 35(2): 105-113.
19. Biswas AR, Ramaswamy S and Bapna JS. Analgesic effect of *momordica charantia* seed extract in mice and rats. *J Ethnopharmacol* 1991; 31(1): 115-118
20. Capasso F, Cerri R, Morrìca P and Senatore F. Chemical composition and anti inflammatory activity of an alcoholic extract of *Teucrium polium* L. *Boil Soc Ital Biol Sper* 1983; 59(11): 1639-1643
21. Elisabetsky E and Castilhos ZC. Plants used as analgesics by Amazonian caboclos as a basis for selecting plants for investigation. *Int J Crude Drug Res* 1990; 28(4): 309-320
22. Ewans W.C. *Trans and evans pharmacognosy*, printed in Great Britain. 14th ed., 1997; p477.
23. Hassan MM and Muhtadi FJ and Al-Badr AA. GLC mass spectrometry of *Teucrium polium* oil. *J Pharm Sci* 1979; 68(6): 800-801.
24. Heidari MR, Khalili F, Ghazi-Khansari M, Hashemi B and Zarrindast MR. Effect of picrotoxin on antinociception in the formalin test. *Pharmacol Toxicol* 1996; 78(5): 313-316.
25. Murray MD and Brater DC. Renal toxicity of the nonsteroidal anti inflammatory drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1993; 33: 435-465.
26. Sawynok J, Reid A and Poon A. Peripheral antinociceptive effect of an adenosine kinase inhibitor, with augmentation by an adenosine deaminase inhibitor, in the rat formalin test. *Pain* 1998; 74(1): 75-81
27. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H and Inoki R. Modified formalin test; Characteristic biphasic pain response. *Pain* 1989; 38(3): 347-352.
28. Suleiman MS, Abdul Ghani AS, Al

- Khalil S and Amin R. Effect of Teucrium polium boiled leaf extract on intestinal motility and blood pressure. *J Ethno Pharmacol* 1988; 22(1): 111-116.
29. Tariq M, Ageel AM, AL-Yahya MA, Mossa, JS and AL Said MS. Anti-inflammatory activity of Teucrium polium. *Int J Tissue React* 1989; 11(4): pp185-188.
30. Tjolsen A, Berge OC, Hunskaar S, Rosland JH and Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992; 51(1): 5-17.
31. Twaij HA, Al-badr AA, Abul Khail A. Anti - ulcer activity of teucrium polium. *Int J Crude Drug Res* 1987; 25: 125-128.
32. Vokou D and Bessiere JM. Volatile constituents of Teucrium polium. *J Nat Prod* 1985; 48: 498-499.
33. Wassel GM and Ahemed SS. Chemical composition of the wild egyption plant Teucrium polium. *J Pharmcie* 1974; 29(8): 540.