مقاله اصیل پژوهشی

مقایسه اثرات ضدّ دردی عصاره هیدروالکلی گیاه پونه (*Mentha longifolia*) با مرفین در موش سوری نر

عزت‌الله پاک‌نیا[1]، محمد ابراهیم رضوانی[2]، محمدحسین دشتی رحمت‌آبادی[3]، سید مجید باقری[4]

چکیده

زمینه و هدف: کاهش اثر بسیاری از داروها پس از مصرف درازمدت، همواره انجام تحقیقات بر روی عوامل جدید ضدّ درد را ضروری ساخته است؛ لذا این مطالعه، با هدف مقایسه اثرات ضدّ دردی عصاره گیاه پونه با مرفین در موش کوچک آزمایشگاهی، به روش آزمون قدکشیدن و صفحه داغ صورت گرفت.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، به منظور انجام این آزمایش، تعداد ۷۰ سر موش سوری نر، در ۷ گروه ۱۰ تایی شامل: گروه کنترل، گروه‌های دریافت‌کننده عصاره پونه با دوز ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰mg/kg و گروه‌های دریافت‌کننده مورفین با دوزهای ۲، ۴ و ۸mg/kg مورد بررسی قرار گرفتند. برای ارزیابی درد، از دو آزمون مورد قبول صفحه داغ و قدکشیدن استفاده شد. شدت درد در هر دو آزمون، قبل از آزمایش درد، در زمان‌های صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه پونه در مدل صفحه داغ، فقط در دوز ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در زمان ۶۰ دقیقه می‌تواند اثر ضدّ دردی معنی‌داری را ایجاد نماید ($P<0/05$)؛ درحالی‌که در مدل قدکشیدن، آثار ضدّ دردی قابل مقایسه با مرفین را دارد و در همه دوزها دارای اثر ضدّ دردی معنی‌داری می‌باشد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد، تمامی دوزهای مورد استفاده پونه در آزمون قدکشیدن، اثر ضدّ دردی دارند که حاکی از مهار درد مزمن توسط عصاره آبی- الکلی این گیاه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پونه، ضدّ درد، آزمون قدکشیدن، آزمون صفحه داغ

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۲؛ ۲۰ (۲): ۱۱۵-۱۲۴.

دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۳ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۴/۱۲

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس، گروه زیست‌شناسی، شیراز، ایران.

[2] نویسنده مسؤول، دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

آدرس: یزد- دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد- دانشکده پزشکی- گروه فیزیولوژی.

تلفن: ۰۹۱۳۱۵۶۶۲۹۵ نمابر: ۰۳۵۱-۸۲۰۳۴۱۴ پست الکترونیکی: erezvani@yahoo.com

[3] دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

[4] کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

مقدمه

استفاده از داروهای ضدّ التهاب غیراستروئیدی و یا داروهای اوپیوئیدی، روش‌های رایج کنترل درد است که همواره با عوارض جانبی نسبتاً زیادی همراه است؛ برای مثال داروهای ضدّ التهاب غیر استروئیدی، باعث ایجاد اختلالات در دستگاه گوارش، آسیب‌های کلیوی و واکنش‌های افزایش حساسیّتی می‌شوند. اوپیوئیدها نیز می‌توانند منجر به ایجاد تهوع، یبوست و ضعف تنفسی شده و در صورت مصرف مزمن، وابستگی ایجاد کنند (۱). داروهای اپیوئیدی به‌ویژه مرفین، برخلاف تأثیر خوبی که در کنترل درد دارند، به علت ایجاد تحمّل، مصرف آنها در درازمدت، با کاهش تأثیر روبرو خواهد شد. داروهای ضدّ التهاب استروییدی هم در درازمدت آثار و پیامدهای نامطلوب بر دستگاه گوارش و کلیه‌ها بر جای می‌گذارند (۲، ۳).

با توجه به مشکلاتی که مصرف تسکین‌دهنده‌ها به‌وجود می‌آورند، محققین درصدد یافتن داروهای جایگزینی برآمده‌اند که اثرات سوء کمتری دارند؛ در این راستا می‌توان گیاه فلفل، کلپوره، رازیانه و مریم‌گلی را نام برد که در طبّ سنتی به اثر ضدّ دردی آنها اشاره شده است (۴). یکی از این داروهای گیاهی، گیاه پونه گونه *Mentha longifolia* است که گیاهی علفی و پایا و دارای ساقه‌هایی با ظاهر تقریباً استوانه‌ای و ارتفاع ۱۰ تا ۵۵ سانتی‌متر است که در دشت‌های مرطوب و حاشیه جریان‌های آب نواحی مرکزی جنوبی و غربی اروپا، جنوب غربی آسیا و شمال آفریقا می‌روید و برگ‌های بیضوی و نوک‌تیز، با دندانه‌های ظریف و یا عاری از آن دارد (۶، ۵).

پونه، از نظر طبّ سنتی، دارای طبیعت گرم و خشک است؛ دارای اثر بادشکن، صفرابر، خلط‌آور و ضدّ عفونی‌کننده است. در طب سنتی از آن اختصاصاً برای رفع سیاه‌سرفه، آسم، هیستری، نفخ، نقرس و به عنوان قاعده‌آور استفاده می‌شود (۶– ۸). نتایج مطالعات علمی نیز نشان می‌دهند که پونه، دارای اثرات ضدّ درد، ضدّ چسبندگی پلاکت‌ها، بی‌حس‌کننده، ضدّ باکتری، ضدّ سرطان، ضدّ التهاب، ضدّ موتاژن، آنتی‌اکسیدان، ضدّ روماتیسم، ضدّ اسپاسم، ضدّ ویروس، قابض، ضدّ کاندیدا، ضدّ نفخ، افسرده‌کننده، معرّق، ادرارآور، قاعده‌آور، مسکّن، مقوی معده، شل‌کننده عضلات و مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز می‌باشد (۸).

در مطالعات آزمایشگاهی دیگری نیز به اثر ضدّ دردی این گیاه اشاره شده است. Amabeoku و همکارانش در سال ۲۰۰۹ در یک مطالعه، اثر ضدّ تب و ضدّ دردی این گیاه را به ترتیب در موش بزرگ و کوچک آزمایشگاهی بررسی کرده‌اند (۹). در مطالعه Amabeoku، اثر عصاره آبی این گیاه بر درد مطالعه شده و نشان داده شده است که اجزای فعال عصاره‌های آبی و آبی – الکلی آن و یا حتی غلظت اجزای فعّال آن، با هم متفاوت است؛ بنابراین بررسی اثر انواع عصاره‌ها بر پدیده‌های پاتوفیزیولوژیک مانند درد، نتایج متمایزی را در پی داشته و روش تهیه عصاره مؤثّر را برای اهداف مختلف درمانی روشن خواهد ساخت.

با توجه به اینکه داروهای شیمیایی، اثرات جانبی بسیار زیادی دارند و حال اینکه گیاهان دارویی این اثرات را ندارند و اگر هم داشته باشند، در مقایسه با داروی شیمیایی، به میزان ناچیزی است، تحقیق در مورد گیاهان دارویی از جمله بررسی اثر پونه بر کاهش درد حائز اهمیت است؛ لذا در این پژوهش، برای روایی بیشتر داده‌ها و اعتماد بیشتر، با استفاده از دو روش آزمون قدکشیدن و صفحه داغ، اثر ضدّ درد عصاره هیدروالکلی پونه در مقایسه با مرفین بر روی موش کوچک آزمایشگاهی بررسی و مقایسه شد.

روش تحقیق

حیوانات و پروتکل آزمایشی

این مطالعه از نوع تجربی بوده و بر روی موش سوری انجام شده است. برای انجام این مطالعه، نخست پروتکل آزمایش به کمیته اخلاق پژوهشی ارائه و موافقت آن مرکز کسب گردید. برای انجام این پژوهش، از ۷۰ سر موش سفید

کوچک آزمایشگاهی با وزن ۲۵ –۳۰ گرم استفاده شد و موش‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تحت رژیم غذایی یکسان و آزاد و در دوره روشنایی ۱۲ ساعته قرار گرفتند. در این مطالعه موش‌ها به طور تصادفی به ۷ گروه ۱۰ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه کنترل دریافت‌کننده حلال دارو (سالین ۰/۹٪، Control)، گروه دریافت‌کننده دوز ۴۰۰mg/kg عصاره پونه (۴۰۰Menta)، گروه دریافت‌کننده دوز ۸۰۰mg/kg عصاره پونه (۸۰۰Menta)، گروه دریافت‌کننده دوز ۱۶۰۰mg/kg عصاره پونه (۱۶۰۰Menta)، گروه دریافت‌کننده دوز ۲mg/kg مرفین‌سولفات (۲Morphine)، گروه دریافت‌کننده دوز ۴mg/kg مرفین‌سولفات (۴Morphine) و گروه دریافت‌کننده دوز ۸mg/kg مرفین‌سولفات (۸Morphine).

روش عصاره‌گیری از پونه

برای انجام این پژوهش، گیاه پونه از منطقه علی‌آباد یزد تهیه شد و گونه آن، به تأیید مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد رسید؛ سپس برگ‌های پونه جمع‌آوری‌شده، در دمای اتاق و در سایه خشک گردید. مقدار ۱۰۰ گرم برگ خشک‌شده که به آرامی به‌وسیله آسیاب برقی پودر شده بود، با یک لیتر الکل ۷۰ درجه سانتی‌گراد، کاملاً مخلوط شده و در شیشه دربسته تیره‌رنگی، به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. در این مدت، مخلوط پودر و الکل، در فواصل زمانی معین تکان داده می‌شد؛ سپس مخلوط از کاغذ صافی واتمن ۲۰ گذرانده شد و محلول به‌دست‌آمده حاوی عصاره هیدروالکلی پونه، به‌مدت ۱۰ روز در دمای اتاق نگهداری شد تا خشک شود. عصاره خشک‌شده، در یک شیشه دربسته تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. برای تهیه محلول قابل تزریق، مقدار موردنیاز از عصاره خشک‌شده، در آب مقطر حل گردید (۹). تمام تزریقات، در حجم ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان و به صورت داخل صفاقی انجام شد.

در این پژوهش برای سنجش اثر ضدّ دردی، از آزمون‌های قدکشیدن (با مبنای شیمیایی ایجاد درد) و صفحه داغ[1] (با مبنای فیزیکی ایجاد درد) که در پژوهش‌های مربوط به درد، کاربرد وسیع و پذیرفته‌شده دارند، استفاده گردید. این دو آزمون، از آزمون‌های استاندارد در مورد اندازه‌گیری پاسخ در برابر درد می‌باشند.

آزمون قدکشیدن

این آزمون شامل تزریق داخل صفاقی ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسیداستیک ۰/۶٪ به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان است. در این آزمون، شمارش تعداد و زمان قدکشیدن‌ها به عنوان شاخص درد می‌باشد. در این روش، ابتدا ماده مورد نظر (یکی از سه ماده حلال، عصاره پونه یا مرفین) بر اساس گروه انتخابی و دوز تعیین‌شده و با توجه به وزن بدن، به حیوان تزریق شد. ۱۵ دقیقه پس از تزریق (حلال، عصاره یا مرفین)، اسیداستیک ۰/۶٪ با حجم ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم برای ایجاد درد تزریق شد؛ سپس تعداد قدکشیدن‌ها و زمان کلّ آنها در هر حیوان، در طول نیم‌ساعت در سه دوره ده دقیقه‌ای؛ یعنی، ده دقیقه اول، ده دقیقه دوم و ده دقیقه سوم، با شمارشگر شمارش شده و در جدول ثبت گردید. تزریق داخل صفاقی اسیداستیک به موش‌ها، درد احشایی ایجاد می‌کند. در این حالت حیوان شروع به عمل قدکشیدن می‌کند. این تزریق، در بسیاری از مطالعات به عنوان مدل اندازه‌گیری درد احشایی مورد تأیید قرار گرفته است. درد احشایی، با انقباض عضلات پهلوها همراه با حرکت به داخل پاهای عقبی، عکس‌العمل پنجه‌های عقبی و یا کشیدگی کلّ بدن اندازه‌گیری می‌شود. این انقباضات چند ثانیه طول کشیده و کاملاً قابل مشاهده و اندازه‌گیری است. کاهش تعداد یا زمان قدکشیدن حیوان نسبت به گروه کنترل در آزمون، بیانگر اثرات ضدّ دردی مواد تزریقی می‌باشد (۱۰، ۱۱).

آزمون صفحه داغ

برای انجام این آزمون، از دستگاه صفحه داغ که شامل

[1] *Hot plate*

یک صفحه فلزی به قطر ۱۹ سانتی‌متر و دیواره‌ای از جنس پلکسی‌گلاس به ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر است، استفاده شد. دستگاه مجهز به زمان‌سنج و ترموستات بود. درجه گرمای صفحه، قابل تنظیم بوده و در ۵۴±۰/۱ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. قبل از انجام این آزمون، برای آشنایی موش‌ها و در شرایطی که دستگاه خاموش بود، هر کدام از موش‌ها به مدت ۲ دقیقه بر روی صفحه دستگاه قرار داده شدند؛ سپس دستگاه روشن شد تا دمای صفحه بر روی ۵۲ درجه سانتی‌گراد ثابت شود. هر حیوان، قبل از تزریق و در زمان‌های صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از دریافت تزریق موردنظر، بر روی صفحه داغ قرار گرفت و همزمان با آن، زمان‌سنج دستگاه روشن شد و زمانی که حیوان شروع به بالابردن پاهای عقبی و لیسیدن پا می‌کرد، به عنوان نقطه پایان و شاخص احساس درد تلقی شده و فوراً زمان‌سنج متوقف شده و حیوان از دستگاه خارج می‌شد. در صورت عدم واکنش حیوان در برابر صفحه داغ، برای جلوگیری از آسیب، بعد از ۲۵ ثانیه آزمایش را خاتمه داده (Cut off time) و حیوان از روی صفحه داغ برداشته می‌شد. مدت زمان تأخیر در پیدایش پاسخ به درد هر حیوان (برحسب ثانیه)، در هر یک از زمان‌های پنجگانه در جدول ثبت گردید. از روی داده‌های به‌دست‌آمده و به کمک رابطه زیر، شاخص ضدّ دردی[1] برای هر حیوان در چهار مقطع زمانی پس از تزریق، محاسبه شد و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

برای محاسبه شاخص ضدّ دردی از فرمول زیر استفاده شد که در آن Baseline و Test latency به ترتیب به معنی زمان تأخیر قبل و بعد از تزریق و Cut off، حداکثر زمان مجاز قراردادن موش بر روی صفحه داغ دستگاه (۲۵ ثانیه) می‌باشد (۱۰، ۱۱).

$$Analgesia\ index = \frac{Test\ latency(\text{sec}) - Baseline(\text{sec})}{Cut\ Off(\text{sec}) - Baseline(\text{sec})}.100$$

[1] *Analgesia index*

بررسی توکسیسیتی حاد عصاره

به منظور ارزیابی اثر سمیّت، عصاره آبی– الکلی در تک‌دوزهای ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به گروه‌های جداگانه از حیوان تجویز گردید و رفتارهای حرکتی[2]، خواب‌آلودگی[3]، لرزش[4]، تشنج[5]، تغییر در حالات مخاط بینی و دهان و نیز مرگ و میر در مدت ۴۸ ساعت بررسی شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده بر اساس میانگین و انحراف‌معیار ارائه شده است. از آنجایی‌که داده‌ها ماهیّت کمّی پیوسته دارند، برای تجزیه و تحلیل آنها از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی استفاده شد. در همه مقایسه‌ها P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داربودن اختلاف میانگین‌های شاخص ضدّ دردی در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

حیوانات در دوزهای ۵۰۰، ۱۰۰۰ یا ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، هیچ‌گونه اثر سمیّتی را نشان نداند؛ رفتارهای حرکتی و علایم ظاهری حیوانات هیچ تغییری نشان ندادند و مرگ و میری ملاحظه نشد. تنها در دوز ۳۰۰۰ میلی‌گرم، یک حیوان از ۷ سر، مرگ و میر نشان داد. دوزهای مورد استفاده در این پژوهش بسیار پایین‌تر از LD50% می‌باشد.

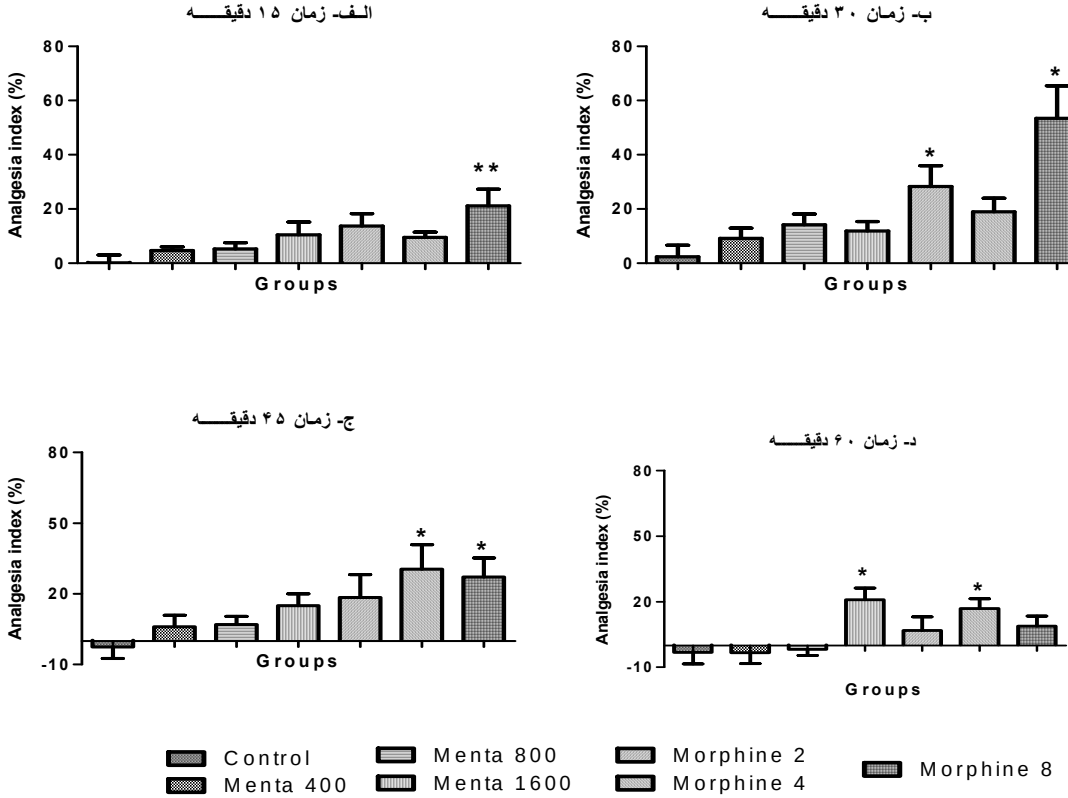
در گروه‌های تیمار، تزریق مورفین در در زمان ۱۵ دقیقه، فقط در دوز ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثر معنی‌داری بر افزایش شاخص بی‌دردی گذاشته است (P<۰/۰۵). به ترتیب با افزایش فاصله زمانی بین تزریق مورفین و ایجاد درد در صفحه داغ، اثر ضدّ دردی مورفین در دوز ۴ و ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز با شدت بیشتری آشکار شد و اختلاف معنی‌داری را در زمان‌های ۳۰ و ۴۵ دقیقه نسبت به گروه کنترل نشان

[2] *Gait*
[3] *Sedation*
[4] *Tremor*
[5] *Convulsion*

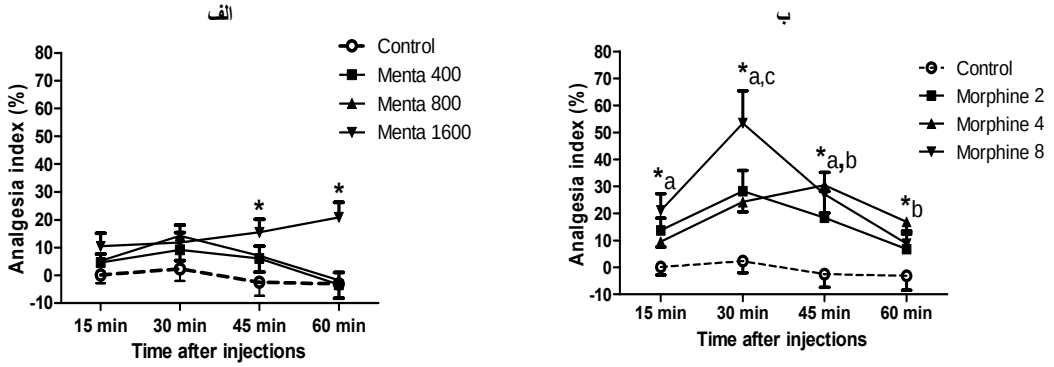
داد (P<۰/۰۵). اثر ضدّ دردی عصاره پونه، فقط در دوز ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در زمان ۶۰ دقیقه نسبت به گروه کنترل معنی‌دار شده است (P<۰/۰۵). نمودار یک، اثر دوزهای مختلف عصاره پونه و مورفین را در زمان‌های مختلف پس از تزریق نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل یک مشاهده می‌شود، بیشترین اثر مورفین، در زمان ۳۰ و بعد ۴۵ دقیقه است و به تدریج آثار آن از بین می‌رود؛ به‌طوری‌که در زمان ۶۰ دقیقه، اثر معنی‌دار مورفین کاهش می‌یابد.

شکل ۲ نشان‌دهنده تغییرات شاخص بی‌دردی با گذشت زمان است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، الگوهای بی‌دردی متفاوت به‌واسطه عصاره پونه و مورفین، با گذشت زمان ایجاد شده است.

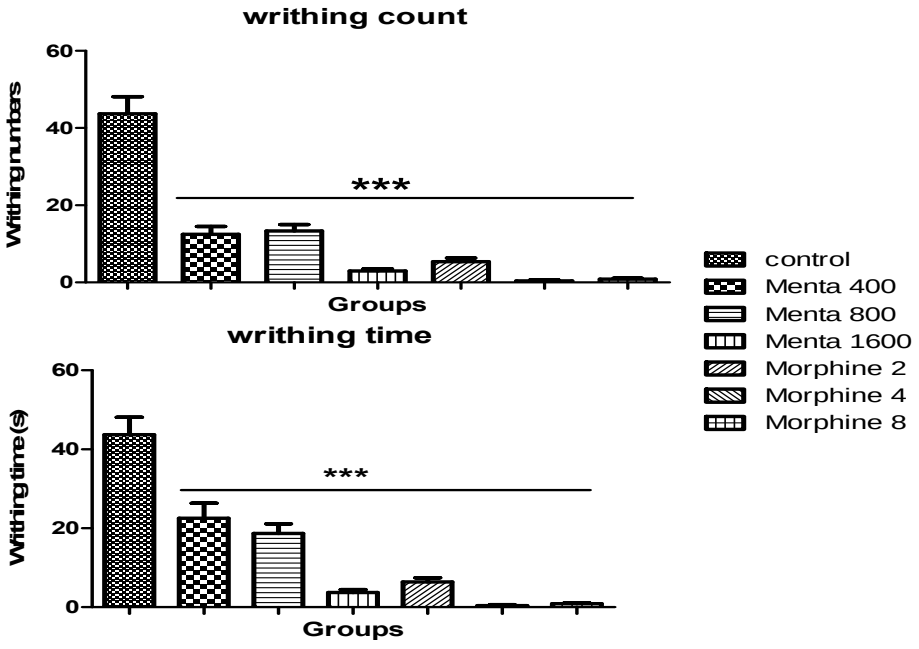
در شکل ۳، مدت زمان قدکشیدن (ثانیه) و تعداد قدکشیدن موش‌ها در آزمون قدکشیدن، نشان داده شده است. نتایج به‌دست‌آمده از آزمون قدکشیدن نشان داد که عصاره پونه همانند مورفین، می‌تواند آثار ضدّ دردی معنی‌داری از خود نشان دهد (P<۰/۰۰۱). تزریق عصاره پونه همانند مورفین، هم تعداد قدکشیدن‌ها و هم مدت زمان قدکشیدن را در همه دوزها نسبت به گروه کنترل کاهش داده است (P<۰/۰۵). در این آزمون اختلاف معنی‌داری بین اثر مورفین و عصاره پونه دیده نشد (P>۰/۰۵).



شکل ۱- مقادیر محاسبه‌شده مربوط به شاخص بی‌دردی در آزمون صفحه‌داغ در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق عصاره پونه و یا مورفین را نشان می‌دهد. تعداد موش در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. مقایسه بر اساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی صورت گرفته است. بین گروه کنترل با گروه دریافت‌کننده دوز ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین در همه زمان‌ها بجز ۶۰ دقیقه، اثر معنی‌دار مشاهده می‌شود. بین گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره پونه و گروه کنترل، فقط در دوز ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در زمان ۶۰ دقیقه تفاوت معنی‌دار دیده می‌شود. * و **نشانگر اختلاف معنی‌دار به‌ترتیب با P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.



شکل ۲- مقادیر محاسبه‌شده مربوط به شاخص بی‌دردی در آزمون صفحه‌داغ درتمام زمان‌ها را نشان می‌دهد. تعداد موش در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. محاسبات بر اساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی صورت گرفته است. بین گروه کنترل با گروه دریافت کننده دوز ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پونه با ارزش P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار مشاهده می‌شود. a* نشانگر اختلاف معنی‌دار با P<۰/۰۵ بین گروه دریافت‌کننده دوز ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین با گروه کنترل. b* نشانگر اختلاف معنی‌دار با P<۰/۰۵ بین گروه دریافت‌کننده دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین با گروه کنترل. c* نشانگر اختلاف معنی‌دار با P<۰/۰۵ بین گروه دریافت‌کننده دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین با گروه کنترل. (الف) مقایسه گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره پونه و کنترل را نشان می‌دهد. (ب) مقایسه گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف مورفین و کنترل را نشان می‌دهد.



شکل ۳- مقادیر اندازه‌گیری‌شده مربوط به تعداد (Writhing count) و مدت زمان (Writhing time) قدکشیدن‌ها در آزمون Writhing و در گروهای مختلف دریافت‌کننده عصاره پونه و مورفین نشان می‌دهد. تعداد در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. محاسبات بر اساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی صورت گرفته است. بین گروه کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده مورفین و نیز گروه‌های دریافت‌کننده عصاره پونه تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود. ***: نشانگر اختلاف معنی‌دار با ارزش P<۰/۰۰۱ است که بین گروه‌های تیمار با گروه کنترل مقایسه می‌شود.

بحث

نتایج این تحقیق به طور کلی نشان داد که عصاره گیاه پونه (*Mentha logifolia*)، در دوزهای بسیار پایین‌تر از دوز LD50% به صورت درون صفاقی، اثرات ضدّ دردی دارد. این اثرات ضدّ دردی، به مدل ارزیابی درد بستگی دارد. در مدل صفحه داغ، تزریق دوزهای بالای عصاره پونه؛ یعنی ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، برای آشکارشدن اثرات ضدّ دردی ضروری است؛ درحالی‌که در مدل آزمون درد قدکشیدن، این اثرات در دوزهای مختلف عصاره پونه، به‌طور معنی‌داری دیده می‌شود (P<۰/۰۵). در این پژوهش، برای سنجش اثر ضدّ دردی، از آزمون‌های صفحه داغ (ایجاد درد با محرک فیزیکی) و قدکشیدن (ایجاد درد با محرک شیمیایی) که در پژوهش‌های مربوط به درد، کاربرد وسیع و قابل قبول دارند، استفاده گردید. این دو آزمون، از آزمون‌های استاندارد در مورد اندازه‌گیری پاسخ در برابر درد می‌باشند (۱۱، ۱۲).

بر اساس یافته‌های این پژوهش، درد مزمن که به‌وسیله آزمون قدکشیدن ارزیابی شده است، به میزان بیشتری از درد حاد در مدل صفحه داغ، تحت تأثیر عصاره پونه قرار گرفته و کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد، در تزریق اسیداستیک ۰/۶درصد که باعث درد مزمن شود، انتقال پیام از طریق فیبرهای نازک و بدون میلین که نوع c نامیده می‌شوند، صورت می‌گیرد؛ درحالی‌که در نوع سریع درد یا درد حاد، انتقال پیام از طریق فیبر نوع A صورت می‌گیرد (۱۳). پیام درد، پس از دریافت توسط نورون‌های اولیه حسّ درد، به سیستم عصبی مرکزی می‌رسد؛ در شاخ خلفی نخاع به نورون‌های ردیف دوم در مسیر هدایت حس درد منتقل می‌شود که متقاطع شده و در ستون جانبی نخاع صعود می‌کند؛ سپس به نواحی مختلف تنه مغز و هسته‌های رله‌کننده اختصاصی تالاموس می‌رود و بعد نورون‌های ردیف سوم، پیام حس درد را به بخش‌های مختلفی در قشر حسّی مغز و سیستم لیمبیک هدایت می‌کنند.

آزمون صفحه داغ، برای ارزیابی داروهای ضدّ درد که از طریق سیستم عصبی مرکزی اثر می‌کنند، بسیار مناسب است؛ چرا که در این مدل، التهاب موضعی و تولید پروستاگلاندین‌های موضعی، نقش بارزی در ایجاد درد ندارد؛ بنابراین اگر دارویی در این مدل، اثر ضدّ دردی قوی و اختصاصی نشان دهد، به این مفهوم است که اثرات آنالژزیک آن از طریق سیستم‌های عصبی مرکزی مغز و نخاع اعمال شده است (۱۴). مطالعه ما نشان می‌دهد که عصاره پونه، در مدل صفحه داغ نتوانسته است به‌ویژه در دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم، اثر ضدّ دردی معنی‌داری داشته باشد. بر اساس این نتایج، می‌توان اینگونه ادعا کرد که عصاره پونه، از طریق مکانیزم‌های مرکزی، تأثیر قابل توجهی بر درد ندارد. گازگرفتن و لیسیدن پا در این مدل ارزیابی، نشان می‌دهد که درد شدیداً به واسطه مورفین متأثر می‌شود که نشانگر مکانیزم مرکزی مورفین در کنترل درد است. نتایج این مطالعه نیز این اثر مورفین را تأیید می‌نماید.

آزمون دیگری که در مطالعه حاضر از آن استفاده شد، آزمون قدکشیدن است. این آزمون، به ارزیابی داروهای ضدّ درد با مکانیزم مرکزی و محیطی اختصاص دارد (۱۵). نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره پونه در این مدل، آثار ضدّ دردی برجسته‌ای دارد؛ بنابراین اثرات ضدّ دردی عصاره پونه در این مدل را می‌توان به مکانیزم‌های محیطی آن در مهار تولید میانجی‌های درد مانند پروستاگلاندین‌ها نسبت داد.

اثر ضدّ دردی عصاره آبی پونه، در مطالعه Amabeoku و همکاران گزارش شده است. در مطالعه ما، اثر ضدّ دردی عصاره آبی- الکلی پونه مورد بررسی قرار گرفته است. در عصاره‌های آبی-الکلی، تمام ترکیبات قطبی و غیر قطبی موجود در گیاه را جدا می‌کنند، ولی در عصاره آبی، محتوی ترکیبات قطبی، در گیاه موجود می‌باشد. با انجام این مطالعه مشخص شد که عصاره آبی پونه در دوزهای پایین‌تر، اثر ضدّ دردی دارد و الگوی درست مصرف آن، تهیه عصاره آبی می‌باشد؛ زیرا علاوه بر این، اثرات توکسیک عصاره آبی در دوزهای بالاتر ظاهر می‌گردد (۹). در مطالعه دیگری نیز که

توسط مختاری و همکاران انجام شد، آثار ضدّ دردی عصاره هیدروالکلی پونه نشان داده شده است (۱۶). نتایج مطالعه ما و مطالعات قبلی با هم مطابقت دارد. در مطالعه مختاری و همکاران که بر روی موش بزرگ صحرایی انجام شده است، نوع آزمون درد فرمالین و نوع گیاه پونه نیز متفاوت می‌باشد. در مجموع، از مطالعات حاضر می‌توان چنین استنباط کرد که عصاره‌های مختلف پونه، اثر ضدّ دردی را در مدل‌های مختلف درد و در حیوانات مختلف ایجاد می‌نماید که آثار ضدّ دردی عصاره آبی بیشتر و آثار توکسیک آن کمتر است.

مواد متعددی در سیستم عصبی مرکزی، از طریق دخالت در انتقال پیام حس درد در محل سیناپس‌ها به‌ویژه در شاخ خلفی نخاع، موجب تعدیل درد می‌شوند که از جمله این مواد، منتول می‌باشد. چنانکه توضیح داده شد، یکی از ترکیبات پونه منتول می‌باشد. اثرات تحریک سطحی و ضدّ درد موضعی منتول و پونه کاملاً پذیرفته شده است ولی هیچ مطالعه‌ای اثر ضدّ دردی سیستمیک آن را نشان نداده است. هنگامی که منتول روی پوست مالیده می‌شوند، به‌طور همزمان اعصاب ویژه درک حس سرما را تحریک و اعصاب ویژه درک حس درد را سرکوب می‌کند. بر اساس نتایج حاصل از مطالعات انجام‌شده بر روی حیوانات، منتول، با فعال‌کردن سیستم اپیوئید درونزاد و یا تا حدودی با اثر بی‌حس‌کنندگی موضعی، بدون داشتن خواص ضدّ التهابی، اثرات ضدّ درد را ایجاد می‌کند. منتول، دارای گیرنده اختصاصی در غشای سلول است (۱۴) که منجر به کاهش جریان رو به داخل سلولی می‌شود و آستانه تحریک را در حالت استراحت سلولی افزایش می‌دهد (۱۵). با توجه به نتایج این آزمایش و تحقیقات انجام‌شده، امکان دارد که عصاره پونه باعث کاهش ورود کلسیم از طریق کانال کلسیم شده و از این طریق باعث کاهش درد شود (۱۷).

همان‌طور که توضیح داده شد، گیاه پونه حاوی هسپردین نیز می‌باشد. هسپردین، نوعی فلاونویید است و باعث مهار فسفولیپاز A2 -لیپواکسینژازو سیکلواکسیژناز می‌شود که به‌طور مستقیم بر سنتز پروستاگلاندین‌ها اثر می‌گذارند (۱۸) و اثرات ضدّ دردی ایجاد می‌کنند. فلاونوییدها، از مهارکننده‌های آنزیم سنتزکننده نیتریک‌اکساید به حساب می‌آیند و تولید NO را بلوکه می‌کنند (۱۹). فلاونوییدها، جلوی فعالیت گیرنده N–متیل–D–آسپارتات را گرفته و سبب کاهش کلسیم داخل سلول می‌شوند و نتیجه آن، کاهش فعالیت آنزیم سنتزکننده نیتریک‌اکساید و فسفولیپاز A2 وابسته به کلسیم است که با کاهش NO و سطح پروستاگلاندین‌ها، اثرات ضدّ دردی آشکار می‌شود (۲۰).

نتیجه‌گیری

طبق نتایج این مطالعه، تمامی دوزهای مورد استفاده پونه در آزمون قدکشیدن، اثر ضدّ دردی داشته است که حاکی از مهار درد مزمن توسط عصاره آبی– الکلی این گیاه می‌باشد؛ همچنین آثار ضدّ درد حاد این گیاه نسبت به درد مزمن بسیار کمتر است.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از همکاری آقای علیمحمد موحدی و سایر کارکنان آزمایشگاه فیزیولوژی و بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی که در اجرای این پژوهش ما را یاری کردند، کمال سپاسگزاری را داریم.

منابع:

1– Bolay H, Moskowitz MA. Mechanisms of pain modulation in chronic syndromes. Neurology. 2002;59(5 Suppl 2): S2-7.

2- Avecina A. The qanoun. Translated By: Sharafkandi AR. Tehran: Soroush; 1991. Vol. 2. pp:316-27. [Persian]

3- Pistelli LF. Secondary metabolites of genus Astragalus: Structure and biological activity. Studies Nat Prod Chem. 2002; 27 (Part H): 443-545.

4- Hosseinzadeh H, Nassiri-Asl M. Avicenna's (Ibn Sina) the Canon of Medicine and Saffron (Crocus sativus): A Review. Phytother Res. 2012; 27(4): 475-83.

5- Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera DA, Sokmen A, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. ssp. longifolia. Food chem. 2007; 103(4): 1449-56.

6- Zargari A. Medicinal plants. 1st ed. Tehran: University of Tehran Press; 1989. vol. 3. pp: 97. [Persian]

7- Nikbakht A, Kafi M, Haghighi M. The abilities and potentials of medicinal plants production and herbal medicine in Iran. Acta Hort (ISHS). 2004; 790: 259-62.

8- Shah AJ, Bhulani NN, Khan SH, Ur Rehman N, Gilani AH. Calcium channel blocking activity of Mentha longifolia L. explains its medicinal use in diarrhoea and gut spasm. Phytother Res 2010; 24(9): 1392-7.

9- Amabeoku GJ, Erasmus SJ, Ojewole JA, Mukinda JT. Antipyretic and antinociceptive properties of Mentha longifolia Huds. (Lamiaceae) leaf aqueous extract in rats and mice. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 2009; 31(10): 645-9.

10- 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.

11- Bukhari IA, Khan RA, Gilani AU, Shah AJ, Hussain J, Ahmad VU. The analgesic, anti-inflammatory and calcium antagonist potential of Tanacetum artemisioides. Arch Pharm Res. 2007; 30(3): 303-12.

12- Wellman J, Carr D, Graham A, Jones H, Humm JL, Ruscio M, et al. Preoptic area infusions of morphine disrupt--and naloxone restores-parental-like behavior in juvenile rats. Brain Res Bull. 1997; 44(2): 183-91.

13- Marchand S. The physiology of pain mechanisms: from the periphery to the brain. Rheum Dis Clin North Am. 2008; 34(2): 285-309.

14- Niraldo P, Amarilis Scremin P, Priscila V, Laura P, Carolina P, Freitas Costa JMD, et al. Evaluation of Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of Synthetic O-Prenylated Phenolic Derivatives. Pharmacology and Pharmacy. 2012; 3(3): 348-57.

15- Wei E. Morphine analgesia, tolerance and physical dependence in the adrenalectomized rat. Br j pharmacol. 1973; 47(4): 693-9.

16- Mokhtari M, Shariati M, Khodaparast L. The antinociceptive effect of hydro-alcoholic extract of leave Mentha pulegium in formalin test in male rat. Journal of Shahrekord University of Medical Science. 2009; 10(4 supple 1): 7-12. [Persian]

17- McIntosh TK, Vallano ML, Barfield RJ. Effects of morphine, beta-endorphin and naloxone on catecholamine levels and sexual behavior in the male rat. Pharmacol Biochem Behav. 1980; 13(3): 435-41.

18- Okazawa M, Terauchi T, Shiraki T, Matsumura K, Kobayashi S. Menthol-induced [Ca2+]i increase and impulses in cultured sensory neurons. Neuroreport. 2000; 11(10): 2151-5.

19- Mandegary A, Pournamdari M, Sharififar F, Pournourmohammadi S, Fardiar R, Shooli S. Alkaloid and flavonoid rich fractions of fenugreek seeds (Trigonella foenum-graecum L.) with antinociceptive and anti-inflammatory effects. Food Chem Toxicol. 2012; 50(7): 23-29.

20- Alcaraz MJ, Hoult JR. Actions of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, hypolaetin-8-glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. Biochem Pharmacol. 1985; 34(14): 2477-82.

Abstract *Original Article*

A comparison Comparison between analgesic effects of aqueous ethanolic extract of *mentha longifolia* and morphine in male rats

Paknia Ezatollah[1], Mohammad Ebrahim Rezvani[2], Mohammad Hossain Dashti-Rahmatabadi[3], Seyyed Majid bagheri[4]

Background and Aim: Long-term consumption of many drugs followed by reduction of their effectiveness has necessitated performing research on new analgesics .Thus, the present study was conducted to evaluate the analgesic effects of mentha longifolia and morphine in mice using writhing and hot plate tests.

Materials and Methods: In this experimental study, 70 male rats were divided into 7 equal groups. The groups included the control, three experimental groups receiving 400, 800, or 1600 mg/kg of mentha extract and three experimental groups which received 2, 4, or 8 mg/kg of morphine .In order to measure pain, the two acceptable tests, writhing and hot plate tests, were applied. Pain scores were measured at 0, 15, 30, 45 or 60 min after administration of algogenic stimulus.

Results: It was found that in hot plate test, only the dose of 1600mg/kg of Mentha extract after 60 minutes was significantly able to exert an analgesic effect ($P<0.05$). In wrighting test, mentha extract at different doses significantly reduced the number and time of wrightes in the rats, comparable to morphine ($P<0.05$).

Conclusion: It seems that all doses of mentha extract in wrighting test have analgesic effects which indicate chronic pain inhibition of mentha hydroalcholic extract.

Key Words: *Mentha longifolia, Analgesia, Writhing test, Hot plate test*

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2013; 20 (2):115-124.

Received: February 1, 2013 ***Accepted: July 3, 2013***

[1] *Postgraduate in Biology, Science and Research branch, Islamic Azad University,Fars, Iran.*
[2] *Corresponding author, associated professor of physiology, Shahid sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran erezvani@yahoo.com*
[3] *Associated professor of physiology, Shahid sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran.*
[4] *Postgraduate in physiology, Shahid sadoughi University of Medical Science, Yazd, Iran.*