

بررسی اثر ضد دردی عصاره الکلی کاپیتول های گیاه بابونه در موش بالغ نر آزمایشگاهی

زهرا غلامی^۱، منصور امرائی^{۲*}

(۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

(۲) گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۱۰

تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۱۳

چکیده

مقدمه: گیاه بابونه یک گیاه دارویی شناخته شده از خانواده آسراسه است. از آن جایی که گیاه بابونه به عنوان یک داروی تسکین دهنده درد در متون علمی معرفی شده است، در تحقیق حاضر اثرات ضد دردی عصاره اتانلی این گیاه در موش های بالغ نر آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها: در تحقیق حاضر، اثر ضد دردی عصاره الکلی کاپیتول های گیاه بابونه توسط تست فرمالین و تست صفحه داغ hot plate در موش بالغ نر آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. عصاره الکلی گیاه در دوزهای ۵ mg/kg، ۱۰ و ۵۰ وزن بدن و مرفین در دوز ۱۰ mg/kg وزن بدن به عنوان داروی ضد درد استاندارد به صورت دورن صفاقی تزریق گردید. گروه شاهد سرم فیزیولوژیک را به عنوان حلال عصاره الکلی گیاه دریافت نمودند.

یافته های پژوهش: عصاره الکلی کاپیتول های گیاه بابونه تنها فاز ثانویه درد را در تست فرمالین کاهش داد. هیچ کدام از دوزهای عصاره الکلی کاپیتول های گیاه بابونه بر روی تاخیر در زمان پاسخ به درد در تست صفحه داغ اثری نداشت.

بحث و نتیجه گیری: این تحقیق نشان داد که کاپیتول های گیاه بابونه بر روی درد مزمن القاء شده توسط فاز ثانویه تست فرمالین دارای اثر تسکین دهنده می باشد. هر چند مطالعات بیشتری برای تعیین اثرات درمانی آن مورد نیاز می باشد.

واژه های کلیدی: گیاه بابونه، درد، موش

* نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

Email: amraei_m@yahoo.com

مقدمه

بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) گیاهی است یک ساله، معطر و به ارتفاع ۲۰ تا ۴۰ سانتی متر که به طور خودرو در مزارع، بوستان ها، کنار جاده ها و اماکن بایر و سایه دار می روید. ساقه آن دارای انشعاباتی است که هر یک به کاپیتول هایی به بزرگی ۱/۵ تا ۲ سانتی متر منتهی می شود و برگ های آن بریدگی های باریک و دراز با ظاهر برگچه مانند دارد. در هر کاپیتول آن دو نوع گل، یکی زبانه ای به رنگ سفید و دیگری لوله ای و به رنگ زرد دیده می شود. گل های زبانه ای آن که در حاشیه کاپیتول ها قرار دارند پس از شکفتن کامل حالت خمیده و به سمت پائین پیدا می کنند، به نحوی که از نظر کلی ظاهر چتر باز یا نیمه باز به کاپیتول می بخشد. میوه اش فندقه و بسیار کوچک است. منشأ اصلی این گیاه نواحی مختلف منطقه مدیترانه بوده است ولی امروزه پراکندگی وسیع در اروپا و نواحی معتدله آسیا پیدا نموده و در آمریکا نیز منتشر شده است. قسمت مورد استفاده این گیاه، کاپیتول های آن است که در فاصله ماه های اردیبهشت تا مهر آن را از ساقه جدا می کنند و برای خشک کردن به صورت قشر نازکی می گسترانند. این گیاه دارای اثرات ضد آلرژی، ضد ادم، آنتی هیستامین، ضد ورم، ضد اکسیدان، ضد قارچ و ضد تب می باشد. خاصیت درمانی گیاه بابونه مربوط به ترکیبات هیدروفیل و لیپوفیل آن می باشد که ترکیبات لیپوفیل اسانس تا محلول در گلیسرین و محلول در روغن های معدنی و گیاهی است که ۸۵ درصد آن را استرها تشکیل می دهد و دارای ترکیباتی مثل *Matricin*، *chamazulene-α*، *Bisabolol* می باشند (۱). ترکیبات هیدروفیل که شامل گروه فلاونوئیدها می باشد که دارای ترکیباتی مثل *luteolin*، *apigenin* است (۲). درد یک عملکرد بیولوژیک حائز اهمیت برای آگاهی ارگانیسم بوده که موجود زنده را از خطر وجود عامل یا محرک دردناک آگاه ساخته و با رفلکس های محافظتی بلافاصله همراه است که منجر به حفظ هومئوستاز می گردد. شناخت درد و چگونگی انتشار آن به تشخیص نوع بیماری کمک می نماید. بشر در سراسر تاریخ بسیاری از فرم های مختلف درمان را برای تسکین درد به کار برده است که در بین آن ها طب سنتی جایگاه ویژه ای را به خود اختصاص داده است. درک درد به فرایند فیزیولوژیک فعال شدن مسیرهای عصبی اختصاصی توسط آسیب بافتی یا در معرض تهدید به آسیب اطلاق می گردد

که از طریق فعالیت گیرنده های درد صورت می گیرد. گیرنده های درد در انتهای آزاد سلول دهای عصبی قرار دارند. کلیه گیرنده های درد در پوست و سایر بافت ها در انتهای آزاد سلول های عصبی از جمله در لایه های سطحی پوست، پریوست، سطوح مفصلی عضلات و بقیه نواحی گسترده شده اند. گیرنده های درد توسط محرک های مکانیکی، شیمیایی و حرارتی فعال می شوند (۳). در تحقیق حاضر اثرات ضد دردی گیاه بابونه با استفاده از تست فرمالین و تست صفحه داغ در موش کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت و اثرات ضد دردی این گیاه با داروی ضد درد رایج یعنی مرفین مقایسه شد.

مواد و روش ها

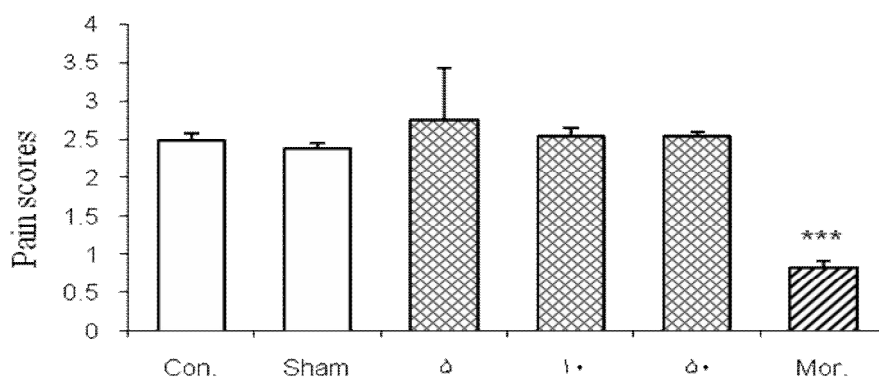
در تحقیق حاضر، کاپیتول های (*Matricaria chamomilla* L.) گیاه بابونه از منطقه اردبیل جمع آوری گردید و پس از شناسایی از نظر تاکسونومیک، در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در سایه خشک گردید و سپس توسط آسیاب مکانیکی به صورت پودر درآمد. پودر حاصله از کاپیتول های گیاه بابونه با اتانول ۸۰ درصد مخلوط شد و سپس در دستگاه سوکسله قرار داده شد. عصاره الکلی به دست آمده توسط دستگاه روتاری خشک گردید. موش های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI با محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شد و در شرایط مناسب آزمایشگاهی با درجه حرارت کنترل شده 23 ± 2 درجه سانتی گراد سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و نیز رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی مداوم به آب و غذا داشتند. هر حیوان فقط یک بار مورد آزمایش قرار گرفت. حیوانات توسط عصاره گیاهی در دوزهای مختلف، داروی مرفین و سرم فیزیولوژیک به صورت تزریق درون صفاقی تیمار گردیدند. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروه ها ۰/۲ ml بود که عمل تیمار نیز صبح ها انجام می گرفت. تعداد حیوانات در هر گروه ۵ سر بود. گروه های مورد مطالعه شامل موارد زیر بودند:

- گروه ۱: حیواناتی که هیچ گونه تیماری دریافت نکردند.
- گروه ۲: حیواناتی که توسط سرم فیزیولوژیک تیمار شدند.
- گروه ۳: حیواناتی که عصاره گیاهی را در دوز ۵ mg/kg وزن بدن دریافت نمودند.
- گروه ۴: حیواناتی که عصاره گیاهی را در دوز ۱۰ mg/kg وزن بدن دریافت نمودند.

نمی زند، گاز می گیرد یا به شدت می لرزاند. این حرکت به طور مشخصی با حرکت حیوان جهت تمیز کردن خودش متفاوت است. گرچه تبدیل شدن یکی به دیگری ممکن است دیده شود. به منظور انجام تست صفحه داغ ابتدا حیوانات با عصاره اتانلی گیاه بابونه در دوزهای ۵ mg/kg و ۱۰ و ۵۰ وزن بدن به میزان ۰/۲ ml به صورت درون صفاقی تیمار گردیدند. موش ها پس از تزریق (دقیقه صفر) و نیز در دقایق ۱۵ و ۳۰ و ۴۵ و ۶۰ بر روی صفحه داغ با دمای ۵۴ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و زمان عکس العمل روی صفحه داغ اندازه گیری شد. عکس العمل حیوان شامل پریدن یا لیسیدن یکی از پنجه های عقبی یا جلویی می باشد؛ (۶). نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ ارائه گردیدند. تمامی داده ها از نظر آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) بررسی گردیدند. ملاک استنتاج آماری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق درون صفاقی عصاره اتانلی کاپیتول های گیاه بابونه در دوزهای ۵ mg/kg، ۱۰ و ۵۰ وزن بدن در فاز اولیه تست فرمالین بر روی درد حاد اثری نداشت. تزریق درون صفاقی مرفین در دوز ۱۰ mg/kg وزن بدن سبب کاهش معنی داری در پاسخ های ظاهر شده در فاز اولیه درد القاء شده توسط تست فرمالین در موش نر بالغ گردید. (نمودار شماره ۱)



عصاره الکلی کاپیتول های گیاه بابونه (۵، ۱۰، ۵۰ و ۵۰۰ mg/kg وزن بدن)

نمودار شماره ۱. اثر تزریق درون صفاقی عصاره اتانلی کاپیتول های گیاه بابونه در دوزهای ۵ mg/kg، ۱۰، ۵۰، و ۵۰۰ وزن بدن و مرفین در دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر فاز اولیه درد القاء شده توسط تست فرمالین در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ. (***) $P < 0.001$ اختلاف از گروه شاهد را نشان می دهد.

گروه ۵: حیواناتی که عصاره گیاهی را در دوز ۵۰ mg/kg وزن بدن دریافت نمودند.

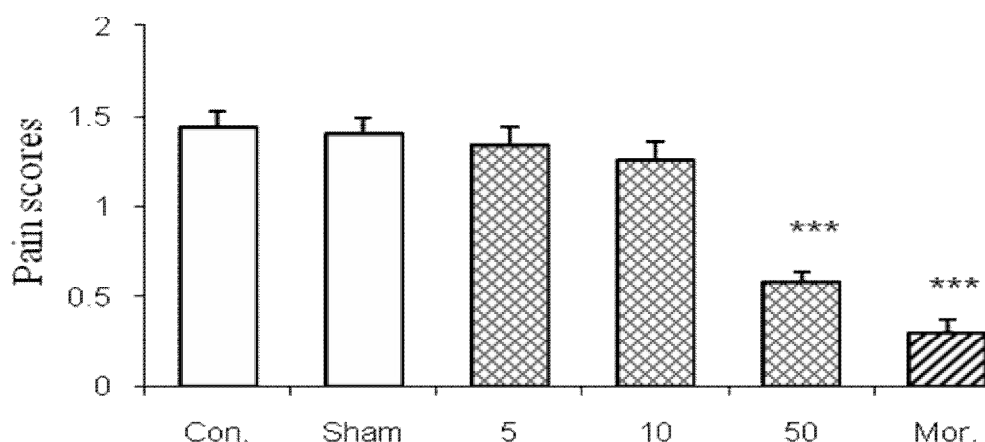
گروه ۱۰: حیواناتی که مرفین را در دوز ۱۰ mg/kg وزن بدن دریافت نمودند.

فعالیت ضد دردی حیوانات با استفاده از تست فرمالین مورد ارزیابی قرار گرفت. در روز آزمایش هر حیوان ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش، در جعبه استاندارد به ابعاد $13 \times 12 \times 3$ سانتی متر قرار داده شد که به عنوان قفس مشاهده در نظر گرفته شد.

۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیر جلدی به سطح پشتی پای راست حیوان تزریق شد و میزان پاسخ حیوان به درد در پای تزریق شده ثبت گردید. امتیاز پاسخ به درد مرحله اول ۵-۰ دقیقه و مرحله دوم ۴۵-۱۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین تیمار گردیدند، (۵، ۹). اساس نمره گذاری به شرح زیر بود: امتیاز صفر-هر دو پنجه حیوان روی کف جعبه قرار گرفته اند، وزن حیوان به طور مساوی روی آن ها قرار دارد. حین حرکت نیز ترجیح اختیار جهت استفاده از پنجه مقابل وجود ندارد. امتیاز یک-پای تزریقی به آرامی روی کف یا بخشی از بدن حیوان قرار گرفته و فشار کمی روی آن اعمال می شود. حین حرکت، لنگیدن به صورت واضح دیده می شود. امتیاز دو-در پاسخ به تزریق، پای تزریقی کاملاً از کف جعبه برداشته می شود و تماسی با سطح ندارد. پای مقابل محکم روی سطح قرار گرفته است. امتیاز سه-حیوان پای تزریق شده را لیس

ثانویه درد القاء شده توسط فرمالین تقریباً شبیه دوز ۵۰ mg/kg عصاره اتانلی گیاه بابونه عمل کرد. (نمودار شماره ۲)

تزریق درون صفاقی عصاره اتانلی کاپیتول های گیاه بابونه در دوز ۵۰ mg/kg وزن بدن موجب کاهش معنی داری در پاسخ های ظاهر شده در فاز

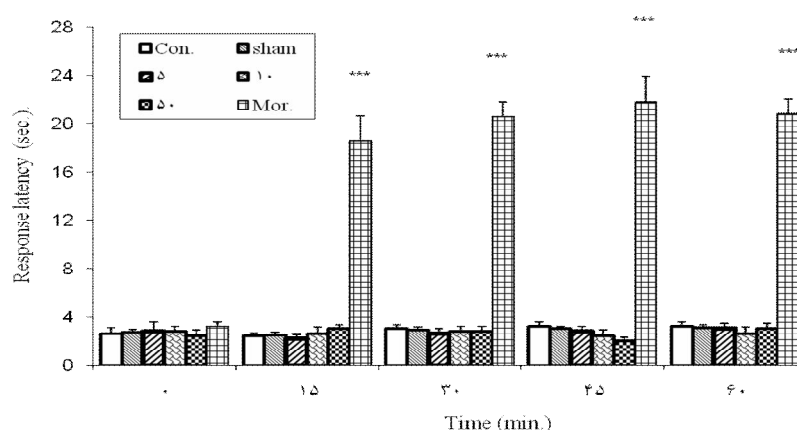


عصاره الکلی کاپیتول های گیاه بابونه (۵۰ و ۵،۱۰ mg/kg وزن بدن)

نمودار شماره ۲. اثر تزریق درون صفاقی عصاره اتانلی کاپیتول های گیاه بابونه در دوزهای ۵۰ و ۵،۱۰ mg/kg وزن بدن و مرفین در دوز ۱۰ mg/kg وزن بدن بر فاز ثانویه درد القاء شده توسط تست فرمالین در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ. (P<0.001***). اختلاف از گروه شاهد را نشان می دهد.

کنترل نشان نمی دهند و در دقایق ۴۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ تنها مرفین باعث افزایش معنی داری در مدت زمان تاخیر در پاسخ القاء شده توسط تست صفحه داغ گردید. (نمودار شماره ۳)

اثر تزریق درون صفاقی عصاره اتانلی کاپیتول های گیاه بابونه در دوزهای ۵۰ و ۵،۱۰ mg/kg وزن بدن در تست صفحه داغ نشان داد که در زمان صفر تمامی گروه ها اختلاف معنی داری را نسبت به گروه



نمودار شماره ۳. اثر تزریق درون صفاقی عصاره اتانلی کاپیتول های گیاه بابونه در دوزهای ۵۰ و ۵،۱۰ mg/kg وزن بدن و مرفین در دوز ۱۰ mg/kg وزن بدن بر درد حاد القاء شده توسط تست صفحه داغ در موش آزمایشگاهی نر بالغ. (P<0.001***). اختلاف از گروه شاهد را نشان می دهد.

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره اتانولی کاپیتول های گیاه بابونه در فاز اولیه تست فرمالین، بر روی درد حاد اثری نداشت اما در فاز ثانویه تست فرمالین باعث کاهش معنی داری در بروز علائم ناشی از تزریق فرمالین گردید. مرفین قادر به مهار هر دو مرحله اولیه و ثانویه درد القاء شده توسط تست فرمالین می باشد.

- تست فرمالین یک مدل پذیرفته شده از ایجاد درد متوسط و مداوم است و از این جهت که آسیب بافتی ایجاد می کند به دردهای بالینی نزدیک تر است. مهم ترین ویژگی تست فرمالین ایجاد رفتارهای درد دو فازی است. اولین فاز غالباً در اثر فعال سازی فیبرهای C می باشد که مرحله حاد درد را منعکس می کند. اثر تولید شده در فاز اولیه احتمالاً منجر به اثرات فوری و مستقیم آن ها بر گیرنده های حسی، گیرنده های برادی کینین یا مسیر گلو تاماترژیک می گردد. مکانیسم های فاز ثانویه پاسخ فرمالین به نظر می رسد که مربوط به فرایندهای التهابی محیطی و تغییرات عملکردی در شاخ پشتی طناب نخاعی می باشد. این مطالعات بر نقش ضروری ورودی های آوران در محل های محیطی در فاز ثانویه و اثر آن ها در تولید و حفظ فاز ثانویه تاکید می کند. (۷،۹)

- فاز ثانویه وابسته به پاسخ های التهابی القاء شده توسط آبشار اسیدآرashedیونیک می باشد که میانجی گرهای شیمیایی-التهابی مانند هیستامین، سروتونین، پروستاگلاندین و برادی کینین می تواند فعال سازی مستمر گیرنده های درد در فاز ثانویه را توضیح دهند، (۸). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره اتانولی کاپیتول های گیاه

بابونه بر روی درد حاد القاء شده توسط تست هات پلیت اثر معنی داری ندارد.

- تست هات پلیت یک مدل درد حاد فوق نخاعی (SUPER SPINAL) است و بالغ بر ۵۰ سال است که در مطالعات خواص داروی های ضد دردی استفاده می شود. خصوصیات اصلی این آزمایش توانایی فراهم آوردن بررسی مستقیم و با دقت پاسخ جانور به تیمارها، هم چنین کاربرد ساده و بسیار پذیرفته شده آن می باشد. (۵)

- درد حاد القاء شده توسط تست هات پلیت به پاتولوژی مرتبط نیست، بنا بر این بی شباهت به درد التهابی و نوروپاتیک است که در آن علائم ثابت بیماری توسعه می یابد، (۴). بابونه یکی از پرارزش ترین گیاهان دارویی است و مصرف آن در جهان از سابقه طولانی برخوردار است. کاپیتول های این گیاه دارای عصاره ای به مقدار ۲۰ درصد تا ۸۰ درصد است. این گیاه دارای ماده ای به نام Asulene می باشد که به تدریج با تاثیر هوا و نور، رنگ آن سبز و قهوه ای می شود. این گیاه هم چنین دارای ترکیبات Bisabolol آلفا ۴ درصد و in-dicyclo و shamazulene ether pesudu bisabolol می باشد. اثر ضد التهاب بابونه مربوط به shamazulene و a-bisabolol و اثر ضد اسپاسمی آن مربوط به فلاونوئیدها می باشد. Apigenin که ترکیب فلاونوئیدی این گیاه است موجب مهار وابسته به دوز التهاب می گردد و از زخم معده ناشی از مصرف داروها، استرس و الککل جلوگیری می کند. Apigenin هم چنین از طریق گیرنده های بنزودیازپین موجب رفع بی قراری در موش شده و اثر تسکین دهنده درد را دارد و اسپاسم روده ای را از بین می برد. (۱۰)

References

- 1- Bandler R, Key K. Columnar organization periaqueductal gray and the integration of emotional expression. *Progress Brain Res* 1996; 101:285-300.
- 2- Catheline G, Catheline S, Le G, Besson J M. Intravenous morphine does not modify dorsal horn touch-evoked allodynia in the mono neuropathic rat. *Afos study* 2001; 92: 389-398.
- 3- Carr P A, Nagy J I. Emerging relationships between cytochemical properties and sensory modulating transmission in primary sensory neurons. *Brain Res Bull* 1993; 30: 209-219.
- 4- Chen C L, Broom D C, Liu Y, denooji J C, Li Z, Cen C, et al. Run x1 determines

nociceptive sensory neuron phenotype and is required for thermal and neuropathic pain. *Neuron* 2006; 3:365-377.

- 5- Dubisson D, Dennis S G. The formalin test A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brainstem stimulation in rat and cats. *Pain* 1997; 4:161-174.

- 6- D J, Yu Y, Ke Y, Wang C, Zhu L, Qian Z M. Ligustilide attenuates pain behavior induced by acetic acid or formalin. *J Ethnopharmacol* 2007; 1:211-214.

- 7- Hunskaar S, Fasmer O B, Hole K. Formalin test in mice a useful technique for evaluating mild analgesics. *J Neurosci Meth* 1985; 14:69-70.

8- Sevostianova N, Danysy W, Bespalow A Y. Analgesic effects of morphine and loperamide in the rat formalin test interaction with NMDA receptor antagonists. Eur J Pharmacol 2001; 3:83-90.
9- Tjolsen A, Berge O, Hunskaar S,

Rosland J, Hole K. The formalin test an evaluation of the method. Pain 1992; 51:5-17.
10- Zargari A. [Medicinal plants]. Third issue. 3th ed. Tehran university press; 1989. P. 151-7 (Persian)



Antinociceptive Effects of *Matricaria chamomilla* L. Ethanolic Extract in Mice

Gholami Z¹, Amraei M^{2*}

(Received: 11 June, 2013

Accepted: 24 August, 2013)

Abstract

Introduction: Chamomile (*matricaria chamomilla* L.) is a well-known medicinal plants species from the Asteraceae family. Since chamomile has been recommended in the literature as a remedy for the alleviating of pain, it was considered worthwhile to investigate the antinociceptive effects of chamomile ethanolic extract in adult male mice.

Materials & Methods: Antinociceptive activity of *Matricaria chamomilla* ethanolic extract was evaluated by formalin and hot plate tests. In experiment groups, the chamomile ethanolic extract doses (5, 10 and 50 mg/kg body wt.) were intraperitoneally injected. For control group saline was administered.

Findings: The results showed that the chamomile ethanolic extract decreased only second phase of formalin induced pain. The ethanolic extract doses did not exhibit antinociceptive activity on the lag phase of formalin induced pain.

Discussion & Conclusion: The present data indicated that *Matricaria chamomilla* has antinociceptive effect on second phase of formalin induced pain in mice. However, further studies should be considered to demonstrate its therapeutic effects.

Keywords: Chamomile, pain, mice

1. Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

2. Dept of Physiology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

* (corresponding author)