بررسی اثرات ضددردی، ضدالتهابی و سمیت حاد عصاره هیدروالکلی صمغ پسته (*Pistacia vera* L.) در موش سوری و صحرایی

سیاوش پرورده[۱]، مریم نیاپور[۲]، مرجان نصیری اصل[۱]، حسین حسین‌زاده[۳*]

۱- دستیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی مشهد

۲- داروساز، مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی مشهد

۳- دانشیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی و دانشکده داروسازی مشهد

*آدرس مکاتبه: مشهد، مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی، دانشکده داروسازی

صندوق پستی: ۱۳٦۵- ۹۱۷۷۵، نمابر: ۸٤۳۷۰۷۵ (۰۵۱۱)

پست الکترونیک: hosseinzadehh@yahoo.com

چکیده

آز آنجایی‌که بعضی از گونه‌های گیاه *Pistacia* اثر ضد التهابی نشان داده‌اند، اثرات ضدردی و سمیت حاد عصاره هیدروالکی صمغ پسته ایران *(Pistacia vera)* مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه، اثرات ضددردی عصاره صمغ پسته با سه روش آزمون صفحه داغ، آزمون پیچش و آزمون فرمالین برروی موش و اثرات ضدالتهابی حاد و مزمن به ترتیب به روش ایجاد التهاب با زایلن در گوش موش و کاشت پنبه فشرده در زیر پوست موش صحرایی مورد مطالعه قرار داده شد.

حداکثر دوز قابل تحمل عصاره صمغ پسته در موش g/kg ۱، و LD_{50} آن، برابر ۳/۷۷ به دست آمد. در آزمون صفحه داغ، عصاره صمغ پسته با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و g/kg ۲ به صورت وابسته به دوز اثر ضددردی ازخود نشان داد. در این آزمون، نالوکسان به خوبی توانست فعالیت ضددردی عصاره را مهار کند. در آزمون پیچش، دوزهای g/kg ۰/۵ و ۰/۲۵ تعداد پیچش‌ها را به طور معنی‌داری کاهش داد. در آزمون پیچش نالوکسان نتوانست اثر ضددردی عصاره را مهار کند. در آزمون فرمالین، عصاره با دوزهای g/kg ۱/۰ و ۰/۵، ۰/۲۵ توانست زمان لیسیدن را در هر دو فاز سریع و تاخیری کاهش دهد. در بررسی اثر ضدالتهابی حاد، دوزهای g/kg ۱/۰، ۰/۵، ۰/۲۵ از عصاره به خوبی توانست از افزایش وزن گوش‌ها ناشی از ادم موضعی جلوگیری کند. در بررسی اثر ضد التهابی مزمن، دوزهای g/kg ۱/۰، ۰/۵، ۰/۲۵ از عصاره توانست از افزایش وزن پنبه های فشرده و تشکیل گرانولوم جلوگیری کند.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره صمغ پسته دارای اثرات ضد دردی و ضد التهابی (حاد و مزمن) بوده و اثرات ضددردی خود را هم از طریق گیرنده‌های اپیوئیدی و هم ازطریق مهار مدیاتورهای التهابی اعمال می‌کند.

گل واژگان: پسته، اثرات ضددردی، اثرات ضدالتهابی، گیاهان دارویی

مقدمه

گیاه پسته (*Pistacia sp.*) از تیره آلاله (Anacardiaceae) دارای گونه‌های متعددی ازجمله *P. lentiscus*، *P. weinmannifolia*، *P. terebinthus*، *P. chinensis* و *P. vera* می باشد که از نظر جغرافیایی در مناطق وسیعی از حوزه مدیترانه و خاورمیانه رویش دارند. گیاه پسته از دیرباز مصارف درمانی مختلفی داشته به طوری که از آن در بیماری‌های گوارشی، اسهال خونی، سردرد و آنفلوانزا استفاده می‌شده است [۱، ۵، ۱۳]. در این بین پسته بومی ایران (*P. vera*) دارای پراکندگی وسیع در ایران بوده و قسمت‌های مختلف آن در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گرفته است که از آن جمله می‌توان به مصرف مغز پسته و پوست آن جهت مصارف غذایی و درمان زخم معده، سوهاضمه و استفراغ اشاره کرد [۱، ۲].

مطالعات انجام شده برروی گونه های مختلف پسته نشان می دهند که عصاره برگ های *P. weinmannifolia* دارای اثر سایتوتوکسیسیتی [۹]، عصاره گیاه *P. terebinthus* دارای اثرات ضدالتهابی و مهارکنندگی PLA2 [۸]، اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه *P. lentiscus* دارای اثرات ضدمیکروبی [۱۳] و ضدقارچی [۵]، اثر محافظت‌کنندگی در برابر پوسیدگی دندان [۱۱]، اثرات پایین آورندگی چربی خون [۶] و فشار خون [۱۶]، اثر ضدزخم معده و ضدزخم اثنی عشر [۴] می‌باشند. این درحالی است که تاکنون مطالعه ای درمورد اثرات فارماکولوژیکی پسته بومی ایران صورت نگرفته است.

درمطالعه حاضر، اثرات ضددردی و ضدالتهابی عصاره صمغ پسته با استفاده از روش های تجربی ایجاد درد و التهاب در حیوانات آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

جمع آوری و شناسایی صمغ پسته: صمغ پسته در اواسط تابستان ۱۳۸۰، از منطقه خاف از توابع تربت حیدریه جمع آوری شد و توسط مرکز هرباریوم شناسایی و مورد تایید قرار گرفت (شماره هرباریوم :۰۵-۱۶۲۲-۰۱۲ نام کارشناس: مهندس جوهرچی).

حیوانات آزمایشگاهی: موش های سفید نر به وزن ۳ g ±۲۵ و رت به وزن ۲۵ g ±۳۰۰ از بخش اتاق حیوانات مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی مشهد تهیه شد و در محل نگهداری حیوانات همان مرکز، در شرایط دما یی: ۲۵-۲۲ درجه سانتی گراد و نور ۱۲ ساعت تاریکی - ۱۲ ساعت روشنایی و رطوبت مناسب قرار گرفتند. رژیم غذایی حیوانات شامل غذای فشرده مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب بود. حیوانات ازنظر مصرف آب و غذا محدودیتی نداشتند.

عصاره‌گیری: برای عصاره‌گیری از صمغ پسته، از روش خیساندن (Maceration) [۳] صمغ در مخلوط آب- اتانل به نسبت ۱ به ۳ به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. پس از این مدت، عصاره را صاف کرده و به اندازه نصف حجم کل به آن آب اضافه کردیم. سپس در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد عمل حذف حلال صورت گرفت. پس از حذف حلال، باقیمانده عصاره در پلیت‌های شیشه ای ریخته و درنور با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید.

عصاره خشک شده پس از پودر شدن تا هنگام استفاده در یخچال نگهداری شد.

بررسی فیتوشیمیایی عصاره آبی – الکلی صمغ پسته : برای مشخص کردن نوع ترکیبات اساسی موجود در عصاره صمغ پسته، آزمایش‌های تشخیصی برروی عصاره خشک شده نهایی صورت گرفت:

آزمون فلاونوئیدها: یک گرم از عصاره خشک شده با ۵۰ میلی‌لیتر متانول برای مدت چند دقیقه جوشانده شد. پس از صاف کردن مخلوط حاصله، ۱۵ میلی‌لیتر اتردوپترول در یک قیف دکانتور به مخلوط صاف شده اضافه شد. محلول استخراج شده تقریباً بی‌رنگ گردید. مقدار ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از محلول در دو لوله آزمایش ریخته شد سپس به هر یک از لوله‌ها مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ و ۲۰ میلی‌گرم براده منیزیم اضافه شد. رنگ حاصله در قسمت کف لوله پس از ۱۰ دقیقه ملاحظه گردید [۳].

آزمون تانن‌ها: ۰/۵ گرم از عصاره خشک شده در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. به محلول فوق، ۳-٤ میلی لیتر نرمال سالین اضافه شد. دو قطره کلرورفریک ۵ درصد در یک لوله آزمایش به ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. آنگاه چند قطره از محلول عصاره به لوله آزمایش اضافه گردید و نتیجه آزمایش ملاحظه شد [۳].

آزمون آلکالوئیدها: به ۰/۵ گرم از عصاره خشک شده، ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱ درصد اضافه کرده و پس از ۵ دقیقه جوشاندن، حجم را به میزان اولیه رسانده و محلول صاف شد. در دو لوله آزمایش در هر یک، ۰/۵ میلی لیتر از محلول صاف شده ریخته و دریکی از آنها چند قطره " معرف مایر" و در دیگری چند قطره " معرف بوشارد " ریخته و رنگ رسوب حاصل یادداشت شد [۳].

آزمون ساپونین‌ها: ۰/۵ گرم از عصاره خشک را در آب مقطر حل کرده و به یک لوله آزمایش منتقل و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شد. ثابت ماندن کف به مدت نیم ساعت نشانه وجود ساپونین است [۳].

ارزیابی حداکثر دوز قابل تحمل و تعیین LD_{50}

به منظور تعیین حداکثر دوز قابل تحمل و LD_{50}، ابتدا دوز ۰/۱۲۵ g/kg به عنوان دوز پایه انتخاب و به صورت داخل صفاقی به ۵ موش تجویز شد. پس از ۷۲ ساعت، هیچ گونه مرگ و میری مشاهده نگردید. سپس دوز مذکور را در عدد ۲ ضرب کرده و دوزهای ضریب ۲ آنرا شامل ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ٤ و ۸ گرم بر کیلوگرم وزن موش به دست آورده، به گروهای ۵ تایی از موش‌ها تجویز و مرگ و میر پس از ۲٤ ساعت کنترل گردید. بیشترین دوزی که در آن مرگ و میر مشاهده نشد به عنوان حداکثر دوز قابل تحمل گزارش گردید. جهت تعیین LD_{50}، نتایج بدست آمده از بررسی دوزهای مذکور را به کمک برنامه کامپیوتری PCS و به روش Litchfield و Wilcoxon آنالیز کرده و نتیجه نهایی به صورت LD_{50} و ۹۵٪ محدوده اطمینان(Confident limit=CL) گزارش گردید.

بررسی اثرات ضددردی

الف) آزمون صفحه داغ: آزمون صفحه داغ با استفاده از موش‌های نر انجام شد. دراین آزمون، موش ها برروی یک صفحه فلزی به دمای ۰/۲± ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شدند و مدت زمان واکنش موش‌ها به تحریک دردزایی ناشی از صفحه فلزی داغ، قبل و بعد از تجویز عصاره صمغ پسته و مواد کنترل، ثبت می‌گردید. پاسخ موش ها به صورت لیسیدن پاها و یا پریدن از روی صفحه داغ منظور می‌شد [۷]. حداکثر زمانی که برای پاسخ ثبت می‌گردید، ٤۰ ثانیه بود.

ب) آزمون پیچش: این آزمون براساس روش معرفی شده Siegmund [۱۷] و Koster [۱۲] انجام شد. در این آزمون نیم ساعت پس از تزریق عصاره صمغ پسته به موش‌ها، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰ کیلوگرم وزن موش ها، محلول اسید استیک ۰/۷ درصد (حجمی- حجمی) به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. سپس طی ۱۰ دقیقه، تعداد پیچش‌های ایجاد شده در حیوان شمارش شد.

ج) آزمون فرمالین: در این روش از یک محفظه شیشه ای به منظور قرار دادن حیوان در آن و

مشاهده پاسخ‌های حیوان استفاده شد. در زیر این محفظه شیشه‌ای، آینه‌ای با زاویه ٤٥ درجه نسبت به سطح افق تعبیه شده بود که مشاهدات را آسان تر و دقیق‌تر می‌کرد.

نیم ساعت پس از تجویز عصاره صمغ پسته به موش های نر ۲۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد (حجمی-حجمی) به زیر پوست پنجه یکی از پاهای موش تزریق شد. سپس مدت زمان لیسیدن یا گازگرفتن پایی که فرمالین دریافت کرده بود، طی دوفاز سریع و تاخیری (به ترتیب بین دقایق ۰ تا ۵ و ۲۰ تا ۳۰ پس از تجویز فرمالین) ثبت شد [۱۰].

بررسی اثرات ضدالتهابی

الف) ایجاد ادم درگوش موش با استفاده از زایلن: در این روش، برای ایجاد التهاب حاد و ادم در گوش، ۰/۰۳ میلی‌لیتر زایلن برهر دو سطح قدامی و خلفی گوش راست موش‌ها مالیده شد. دوساعت پس از تجویز زایلن، موش ها را نخاعی کرده و پس از جداکردن گوش‌ها و تهیه دوایری به قطر تقریبی ۷ میلی متر از گوش موش ها، آنها را وزن کرده و اختلاف وزن دو گوش به عنوان پاسخ ضدالتهابی گزارش گردید [۷]. در این آزمون نیز، نیم ساعت قبل از تجویز زایلن،دوزهای مختلف عصاره صمغ پسته و مواد کنترل را به صورت داخل صفاقی به حیوانات تجویز کردیم.

ب) ایجاد گرانولوم در موش صحرایی با استفاده از کاشت پنبه فشرده در زیر پوست: این آزمون، به منظور بررسی اثرات ضدالتهابی مزمن در موش صحرایی انجام شد. در این روش، ابتدا رول هایی از پنبه فشرده به وزن ۳۰ میلی‌گرم را به کمک لامپ UV به مدت ٢٤ ساعت استریل کرده و در زیر پوست بغل موش صحرایی کار گذاشته شد (در هر طرف یک رول). سپس به مدت ۷ روز، عصاره صمغ پسته و مواد کنترل به موش صحرایی‌ها تجویز شد. در روز هشتم، پنبه‌ها از زیر پوست حیوان خارج شده و توزین شد. اختلاف وزن پنبه‌ها بین گروه‌های شاهد و آزمایش به عنوان فعالیت ضدالتهابی عصاره گزارش شد [۷].

محاسبات آماری: نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شد. سپس به منظور بررسی اختلاف بین میانگین گروه ها، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. درصورت مشاهده اختلاف بین میانگین گروه ها، جهت مشخص کردن اختلاف گروه ها ب ه صورت دو به دو، از آزمون Tukey-Kramer استفاده گردید.

نتایج

درصد بازیابی عصاره: از هر ۱۰ گرم صمغ پسته، یک گرم عصاره خشک بدست آمد که به این ترتیب، درصد بازیابی عصاره ۱۰ درصد بود.

آزمونهای فیتوشیمیایی: نتایج بررسی‌های اولیه فیتوشیمیایی نشان داد که تانن و ساپونین به مقدار زیاد و فلاونوید به مقدار کمتری در عصاره صمغ پسته وجود دارد.

حداکثر دوز قابل تحمل و LD_{50}: طبق نتایج بدست آمده، حداکثر دوز قابل تحمل عصاره صمغ پسته در موش ۱g/kg، و LD_{50} آن، برابر ۳/۷۷ g/kg می‌باشد. محدوده اطمینان عصاره صمغ پسته نیز ٦/۷ و ۲/۱ :C.L ۹۵٪ به دست آمد.

آزمون صفحه داغ: نتایج ب ه دست آمده از آزمون صفحه داغ نشان داد که عصاره صمغ پسته با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم ب ه صورت وابسته به دوز، دارای اثرات ضددردی می‌باشد. شروع اثر ضددردی عصاره، ۳۰ دقیقه پس از تجویز داخل صفاقی می‌باشد که با دوز بالای عصاره (۲ g/kg)، به مراتب اثر ضددردی قوی تری نسبت به مرفین (۱۰ mg/kg) مشاهده شد ($P< ۰/۰۱$) (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- زمان واکنش موش‌ها در آزمون صفحه داغ (ثانیه) در زمانهای مختلف (دقیقه) پس از تجویز عصاره

درمان (دوز)	۰	۳۰	۶۰	۹۰	۱۲۰	۱۵۰	۱۸۰	۲۱۰	۲۴۰	۳۰۰
کنترل (10 mg/Kg)	۸/۵۴± ۱/۱۰	۹/۲۵ ±۱/۸۴	۹/۲۱ ±۲/۳۶	۱۱/۰۷±۲/۸۳	۱۰/۶۵±۱/۰۳	۱۰/۸۱±۲/۷۴	۱۰/۸۱±۱/۷۴	۹/۲۳ ±۱/۷۴	۱۱/۳۰± ۲/۲۵	۱۰/۷۸±۱/۲۶
مرفین (10 mg/Kg)	۸/۴۲± ۱/۱۶	۱۷/۳۸±۱/۹۲***	۱۷/۳۱±۲/۴۴***	۱۶/۲۴±۰/۷۳**	۱۲/۱۵±۱/۰۲	۹/۲۷ ±۰/۹۳	۹/۱۰ ±۰/۸۳	۸/۶۴ ±۰/۸۵	۷/۹۵ ±۰/۶۶	۷/۷۱±۰/۵۶
مرفین (10 mg/Kg) + نالوکسان(2 mg/Kg)	۸/۷۷ ±۰/۴۰	۹/۹۰ ±۰/۶۹	۹/۴۵ ±۰/۹۶	۹/۱۷ ±۰/۵۹	۸/۹۴ ±۰/۸۹	۸/۸۷ ±۱/۱۸	۸/۹۸ ±۰/۵۶	۸/۷۸ ±۰/۶۹	۸/۵۸ ±۰/۸۳	۸/۶۵±۱/۵۵
عصاره (0.25 g/Kg)	۹/۸۰±۰/۷۶	۱۳/۹۴±۳/۹۷*	۱۶/۰۸ ±۳/۲**	۱۶/۸۵ ±۲/۸**	۱۷/۲ ±۲/۵***	۱۴/۴۴±۳/۵۲**	۱۳/۹۰± ۲/۱۰*	۱۵/۹۴±۲/۹۲*	۱۷/۱۷±۳/۹۴***	۱۷/۷۲±۱/۵۶***
عصاره (0.25 g/Kg) + نالوکسان(2 mg/Kg)	۸/۴۵±۰/۸۳	۸/۸۵ ±۰/۳۷	۸/۱۷ ±۰/۸۵	۷/۷۲ ±۰/۴۲	۷/۷۲ ±۰/۸۸	۷/۴۵ ±۱/۱۴	۷/۴۵ ±۱/۱۴	۸/۸ ±۱/۱۴	۸/۶۵ ±۱/۱۴	۸/۷۸±۱/۲۴
عصاره (0.5 g/Kg)	۹/۵۴±۰/۵۲	۱۸/۰۸±۱/۵۲***	۱۷/۹ ±۳/۳***	۲۰/۴۴ ±۲/۷***	۲۱/۴۷ ±۴/۴***	۱۷/۲۴±۳/۱۵***	۱۶/۴۵±۳/۰۶***	۱۴/۹۴±۲/۴۷	۱۷/۶۸±۳/۴۴***	۱۹/۵۱±۳/۳۶***
عصاره (0.5 g/Kg) + نالوکسان(2 mg/Kg)	۱۰/۰۰±۰/۷۶	۱۰/۹۷±۰/۶۵	۱۰/۶۵±۱/۰۷	۸/۶۷ ±۰/۵۷	۸/۱۷ ±۰/۹۹	۸/۴۴ ±۱/۰۶	۹/۴۳ ±۱/۰۶	۸/۴۴ ±۱/۰۶	۸/۷۵ ±۲/۵۰	۹/۴۶±۱/۲۷
عصاره (1 g/Kg)	۹/۳۸±۰/۴۴	۲۰/۴۲ ±۲/۲***	۲۳/۶۲±۲/۱۹***	۲۴/۰۸±۱/۷۹***	۲۸/۱۸±۲/۵۵***	۲۱/۶۵±۱/۶۸***	۱۹/۲۴±۱/۵۳***	۱۵/۶۸±۲/۳۷*	۲۱/۴۱±۲/۱۲***	۲۲/۷۵±۲/۸۷***
عصاره (1 g/Kg) + نالوکسان(2 mg/Kg)	۹/۸۵±۰/۶۲	۸/۸۲ ±۰/۶۱	۱۱/۰۸±۱/۰۶	۱۰/۰۸±۰/۵۳	۹/۵۲ ۰±/۹۲	۹/۲۴± ۱/۲	۸/۲۳ ±۱/۲۰	۸/۲۶± ۱/۲۰	۹/۷۸ ±۲/۲۰	۹/۲۴ ±۱/۲۰
عصاره (2 g/Kg)	۹/۳۴±۰/۴۳	۲۲/۱۲ ±۲/۳۰***	۲۵/۲۱±۱/۵۲***	۲۴/۵۴±۱/۶۶***	۲۹/۴ ±۲/۸***	۲۲/۷۵±۱/۷۲***	۲۰/۲۴±۱/۵۳***	۱۶/۸۷ ±۲/۳**	۲۱/۲۲±۱/۱۸***	۲۲/۰۲±۱/۸۵***
عصاره (2 g/Kg) + نالوکسان(2 mg/Kg)	۸/۹۲±۰/۶۴	۱۰/۸۲±۰/۷۱	۱۰/۸۷ ±۱/۲	۱۰/۶۴±۰/۵۶	۱۱/۵۵±۳/۹۴	۹/۸۷ ±۱/۱۸	۹/۶۵± ۱/۱۸	۸/۴۵ ±۲/۱۵	۹/۴۶ ±۲/۱۶	۹/۸۷ ±۲/۱۸

تزریقات به جز نالوکسان که زیرجلدی (s.c.) است بقیه به صورت داخل صفاقی (i.p.) می‌باشد

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشد، *P<۰/۰۵ ، **P<۰/۰۱ و ***P<۰/۰۰۱ مقایسه با کنترل (Tukey-Kramer)

حداکثر اثر ضددردی هر ٤ دوز عصاره، ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق داخل صفاقی ایجاد شد به طوری که دوزهای g/kg ۲و۱ به طور آشکار اختلاف معنی‌داری با مرفین داشتند (P< ۰/۰۰۱).

دوام اثر هر ٤ دوز عصاره به مراتب بیشتر از مرفین بوده به طوری که اثر ضددردی دوزهای مذکور تا ۳۰۰ دقیقه پس از تجویز، همچنان ادامه داشت (P< ۰/۰۰۱).

دوز g/kg ۰/۲۵ از عصاره ۱۸۰ دقیقه پس از تجویز و دوزهای g/kg ۲و۱ و۰/۵ از عصاره، ۲۱۰ دقیقه پس از تزریق دچار کاهشی در فعالیت ضددردی شدند. ولی پس از این کاهش اثر، فعالیت ضددردی دوز g/kg ۰/۲۵ و دوزهای g/kg ۲ و ۱ و ۰/۵، به ترتیب ۲۱۰ دقیقه و ۲٤۰ دقیقه پس از تجویز عصاره، مجددا افزایش پیدا کرد و در یک سطح نسبتاً ثابت ولی کمتر از حداکثر اثری که در دقیقه ۱۲۰ مشاهده شده بود باقی ماند (جدول شماره ۱). نالوکسان با دوز mg/kg ۲ قبل از تجویز مرفین و عصاره صمغ پسته، ب ه خوبی توانست اثرات ضددردی مرفین و عصاره را مهار کند (جدول شماره ۱) به طوری که هیچ اختلاف معنی داری بین گروه شاهد (نرمال سالین) با گروه عصاره و نالوکسان یا گروه مرفین و نالوکسان وجود نداشت.

آزمون پیچش: در آزمون پیچش، دوزهای g/kg ۰/۵ و ۰/۲۵ از عصاره صمغ پسته مورد آزمایش قرار گرفت که به طور آشکار توانست تعداد پیچش‌ها را در مقایسه با نرمال سالین کاهش دهد (P< ۰/۰۰۱). تزریق زیر جلدی نالوکسان با دوز mg/kg ۲ در این آزمون رتوانست اثرات ضددردی دوزهای مختلف عصاره را مهار کند (جدول شماره ۲).

آزمون فرمالین: در آزمون فرمالین عصاره صمغ پسته با دوزهای g/kg ۱ و ۰/۵ توانست در هر دو فاز سریع و تاخیری مدت زمان پاسخ در برابر محرک دردزا را کاهش دهد.

در این آزمون، عصاره صمغ پسته در فاز اولیه، اثرات ضددردی مشابه مرفین از خود نشان داد (P< ۰/۰۰۱). در فاز تاخیری نیز عصاره صمغ پسته با دوزهای مذکور، اثرات ضددردی قوی تری نسبت به دیکلوفناک از خود نشان داد (P< ۰/۰۰۱) (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۲- اثرات ضد دردی عصاره هیدروالکلی صمغ پسته به روش آزمون پیچش در موش‌سوری

درمان (دوز)	تعداد پیچش	درصد مهار
کنترل (۱۰ ml/kg)	۳۷/۳ ± ۹/۱	–
نالوکسان (NLX) (۲ mg/kg,sc)	٦۱/۰ ± ٤/۱***	٦٤
مرفین (۱۰ mg/kg,ip)	۰/۷ ± ۰/۱***	۹۸
مرفین (۱۰ mg/kg,ip) + نالوکسان (۲ mg/kg,sc)	۲۵/۲ ± ۲/۸	۳۲
دیکلوفناک (۱۰ mg/kg,ip)	۱۱/۵ ± ۲/۵***	٦۹
عصاره (۰/۲۵ g/kg,ip)	۵/۲ ± ۱/۸***	۸٦
عصاره (۰/۲۵ g/kg,ip) + نالوکسان (۲ mg/kg,sc)	۱/۲ ± ۰/۱***	۹٦
عصاره (۰/۵ g/kg,ip)	۰/۲ ± ۰/۱***	۹۹
عصاره (۰/۵ g/kg,ip) + نالوکسان (۲ mg/kg,sc)	۰ ***	۱۰۰

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشد

***P< ۰/۰۰۱، مقایسه با کنترل (Tukey-Kramer)

جدول شماره ۳- اثرات ضد دردی عصاره هیدروالکلی صمغ پسته به روش فرمالین در موش‌سوری

درمان (دوز)	زمان لیسیدن (فاز اولیه)	درصد مهار (فاز اولیه)	زمان لیسیدن (فاز ثانویه)	درصد مهار (فاز ثانویه)
کنترل (۱۰ ml/kg,ip)	۶۰/۱ ± ۷/۶۳	–	۱۲۰/۱ ± ۱۴/۵۰	–
عصاره (۰/۲۵ g/kg,ip)	۴۴/۹ ± ۶/۳۶	۲۵	۹۷/۸ ± ۸/۸۸	۱۹
عصاره (۰/۵ g/kg,ip)	۳۰/۱ ± ۲/۳۱***	۴۹	۴۸/۴ ± ۲/۱۳***	۶۰
عصاره (۱/۰ g/kg,ip)	۳۰/۱ ± ۷/۱۵***	۴۹	۳۵/۳ ± ۲/۴۴***	۴۱
مرفین (۱۰ mg/kg,ip)	۲۹/۱ ± ۳/۵۶***	۳۹	۳۶/۵ ± ۴/۱۹	۳۹
دیکلوفناک (۱۰ mg/kg,ip)	۳۷/۴ ± ۳/۳۱**	۳۷	۷۹/۷ ± ۷/۲۴	۳۲

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشد

۰/۰۱ >P**، ۰/۰۰۱ >P***، مقایسه با کنترل (Tukey-Kramer)

آزمون زایلن: در آزمون زایلن، دوز ۰/۲۵ g/kg از عصاره به اندازه دیکلوفناک اثر ضدالتهابی داشته است (P< ۰/۰۱). این درحالی است که دوز ۰/۵ g/kg عصاره، اثرات ضدالتهابی قوی تری درمقایسه با دیکلوفناک داشته است (P< ۰/۰۰۱) (جدول شماره ۴).

آزمون کاشت پنبه فشرده: باتوجه به وزن پنبه‌های فشرده در پایان آزمایش و مقایسه آنها بین گروه‌های آزمایش و کنترل، تمامی دوزهای عصاره اثرات ضدالتهابی داشته است (جدول شماره ۵).

جدول شماره ۴- اثرات ضد التهابی عصاره هیدروالکلی صمغ پسته به روش ایجاد ادم در گوش موش‌سوری با گزیلن

درمان (دوز)	اختلاف وزن دو گوش (mg)	درصد مهار
کنترل (۱۰ ml/kg,ip)	۶۰/۰ ± ۱/۵۴	–
دیکلوفناک (۱۰ mg/kg,ip)	۲/۳ ± ۰/۹۷**	۶۱
عصاره (۰/۲۵ g/kg,ip)	۲/۳ ± ۰/۳۸**	۶۱
عصاره (۰/۵ g/kg,ip)	۱/۱ ± ۰/۲۱***	۸۱

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشد

۰/۰۱ >P**، ۰/۰۰۱ >P***، مقایسه با کنترل (Tukey-Kramer)

جدول شماره ۵- اثرات ضد التهاب عصاره هیدروالکلی صمغ پسته به روش ایجاد گرانولوم با صفحه پنبه‌ای فشرده در موش صحرایی

درمان (دوز)	اختلاف وزن صفحه پنبه ای فشرده (mg)	درصد مهار
کنترل (۱۰ ml/kg,ip)	۴۹/۱ ± ۱/۲۹	–
دیکلوفناک (۱۰ mg/kg,ip)	۳۰/۰ ± ۰/۳۲***	۳۹
عصاره (۰/۲۵ g/kg,ip)	۲۱/۴ ± ۱/۷۷***	۵۶
عصاره (۰/۵ g/kg,ip)	۲۴/۲ ± ۲/۶۹*	۵۱
عصاره (۱/۰ g/kg,ip)	۲۵/۶ ± ۱/۶۲*	۴۸

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشد

۰/۰۵ >P*، ۰/۰۰۱ >P***، مقایسه با کنترل (Tukey-Kramer)

بحث

به طور کلی نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهند که عصاره صمغ پسته دارای فعالیت ضددردی و ضدالتهابی قوی می‌باشد.

با بررسی نتایج حاصل از آزمون های ضددردی شامل صفحه داغ، پیچش و فرمالین، می‌توان چنین استنتاج کرد که عصاره صمغ پسته اثرات ضد دردی خود را هم در سطح مرکزی و هم در سطح محیطی اعمال می‌کند. همان طور که در جدول شماره ۱ مشاهد می‌شود، تجویز نالوکسان قبل از تجویز عصاره صمغ پسته، به خوبی توانسته است اثرات ضددردی عصاره را مهار کند. براین اساس احتمالا بخشی از اثرات ضددردی عصاره صمغ پسته از طریق سیستم اعصاب مرکزی و به واسطه تحریک گیرنده‌های اپیوییدی یا آزادکردن اپیوپپتیدها اعمال می‌شود [۱۵].

باتوجه به نتایج حاصله از آزمون پیچش، به نظر می‌رسد عصاره صمغ پسته، اثرات ضددردی محیطی نیز از خود نشان می‌دهد. از آنجا که در آزمون پیچش، عصاره صمغ پسته توانسته است به اندازه دیکلوفناک اثرات ضددردی اعمال کند و چون نالوکسان نتوانسته است این اثرات ضددردی عصاره را مهار نماید، چنین استنباط می‌شود که اثرات ضددردی محیطی عصاره صمغ پسته با مکانیسمی غیر از تحریک سیستم اپیوییدی در محیط اعمال می‌شود. می‌توان چنین پیشنهاد کرد که مکانیسم اثرات ضددردی محیطی عصاره صمغ پسته، مشابه دیکلوفناک بوده و از طریق مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها و سایر مدیاتورهای التهابی دردزا صورت می‌گیرد [۱۹]. این نظریه از آنجا قوت می‌گیرد که عصاره صمغ پسته در آزمون فرمالین نیز توانسته است در هر دو فاز سریع و تاخیری اثرات ضددردی خوبی از خود نشان دهد. با توجه به این که دیکلوفناک در فاز اول آزمون فرمالین اثر ضددردی داشته و دوزهای g/kg ۱ و ۰/۵ عصاره صمغ پسته اثرات ضددردی قوی‌تری در مقایسه با دیکلوفناک از خود نشان داده است می‌توان چنین نتیجه گرفت که بخشی از اثرات ضددردی عصاره صمغ پسته، از طریق مهار سنتز یا آزاد کردن مدیاتورهای التهابی مسؤول ایجاد درد اعمال می‌شود [۱۰]. هرچند که ممکن است این اثرات ضددردی محیطی ناشی از فعالیت بی حس کنندگی موضعی عصاره صمغ پسته ایجاد شده باشد.

نتایج حاصل از این مطالعه، همچنین اثرات ضدالتهابی عصاره صمغ پسته را تایید می‌نماید. براساس نتایج آزمون ایجاد ادم در گوش موش با زایلن (جدول شماره ٤)، چنین به نظر می‌رسد که عصاره صمغ پسته از افزایش نفوذ پذیری عروق و ایجاد ادم جلوگیری کرده و بدین طریق اثرات ضدالتهابی خود را در برابر افزایش حساسیت تماسی (Contact- hypersensitivity) ناشی از تجویز زایلن اعمال می‌کند [۱۹].

علاوه بر این، نتایج به دست آمده از آزمون ضدالتهابی کاشت پنبه فشرده در زیر پوست رت نشان می‌دهد که عصاره صمغ پسته در جلوگیری از التهاب مزمن از طریق دژنراسیون بافتی و تشکیل بافت فیبروتیک (فرایندی که منجر به تولید توده گرانولوم در محل التهاب می‌شود) حداقل به اندازه دیکلوفناک موثر می‌باشد [۷]. به این ترتیب عصاره صمغ پسته قادر است روند پیشرفت فازهای التهاب شامل افزایش نفوذ پذیری عروق و تشکیل گرانولوم که به ترتیب منجر به التهاب حاد و مزمن می‌شود را مهار کند.

باتوجه به نتایج به دست آمده از بررسی فیتوشیمیایی عصاره صمغ پسته که وجود مقادیر زیادی تانن را در عصاره تایید می‌کند، به نظر می‌رسد فراکسیون های موجود در تانن مسؤول

فعالیت‌های ضددردی و ضدالتهابی آن باشد. از آنجا که تانن قدرت انحلال خوبی در عصاره های هیدروالکلی دارد [١٤] و با توجه به گزارش های موجود در خصوص اثرات ضددردی و ضدالتهابی تانن [١٤، ١٨، ٢٠] و سودمندی آن در دردهای روماتیسمی [١٤]، چنین به نظر می‌رسد که قسمتی از فعالیت‌های ضددردی و ضدالتهابی عصاره صمغ پسته ناشی از وجود تانن در این عصاره می‌باشد.

شایان ذکر است کلیه اثرات ضددردی و ضدالتهابی عصاره صمغ پسته، با دوزهای برابر یا کمتر از حداکثر دوز قابل تحمل ١ g/kg ایجاد شده است و باتوجه به LD_{50} عصاره که برابر با ٣/٧٧ g/kg می‌باشد، کاملا مشهود است دوزهایی از عصاره صمغ پسته که فعالیت های ضددردی و ضدالتهابی از خود نشان داده است، به خوبی توسط حیوان تحمل شده و هیچ‌گونه سمیتی ایجاد نخواهد کرد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه بر اساس طرح پژوهشی تایید شده توسط شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام پذیرفته است. بدین وسیله از این معاونت صمیمانه تشکر می‌نماییم.

منابع

١. ابوعلی سینا. قانون. (هه ژار) ترجمه عبدالرحمن شرفکندی، جلد دوم، چاپ چهارم، انتشارات سروش، صفحه ٢٨٢-٢٨١، سال ١٩٩٧.

٢. امین غلامرضا. *گیاهان دارویی سنتی ایران*، جلد اول، چاپ اول، معاونت پژوهشی وزارت بهداشت، درمان وآموزش پزشکی، تهران، صفحه ٩٥، سال ١٣٨٠.

٣. صمصام شریعت هادی. *عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روشهای شناسایی و ارزشیابی آنها*. انتشارات هانی، اصفهان، صفحات ٢٤٢-١٧٤، سال ١٣٧١.

4. Al- Said MS Ageel AM, Parmar NS, Taoiq M. Evaluation of Mastic, a crude drug obtained from *Pistachio lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. *J. Ethnopharmacol.* 1986; 15: 271-8.

5. Ali- Shtayeh MS, Abu Ghdeib SI. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses*. 1999; 42: 665-72.

6. Bomboi, G, Pinna W, Sau F. Total blood lipids and lipoproteins in sheep feel *Pistacia lentiscus* drupe. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 1988; 64: 93-9.

7. Cao BJ, Meng QY, JI N. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Ranunculus japonicas* extract. *Planta Med*. 1992; 58: 496-8.

8. Giner- Larza EM, Manez S, Gine-pons R M, Carmen Recio M, Rios JL On the anti-inflammatory and anti-phospholipase A(2) activity of extracts from lanostane-rich Species. *J. Echnopharmacol*. 2000; 73: 61-9.

9. Hou AJ, Peng LY, Liu YZ, Lin ZW. Sun HD Gallotannins and related polyphenols from pistacia weinmannifolia. *Planta Medica. 2000;* 66: 624-6.

10. Hunskaar S, Hole K. The formation test in mice: dissociation between inflammatory and non- inflammatory pain. *Pain* 1997; 30: 103-14.

11. Koparal E, Ertugrul F, Sabah E. Effect of chewing gum on plaque acidogenicity. J. Clin Pediato Dent.2000; 24: 129-32.

12. Koster R, Aodecson M, DeBeer EJ Acetic acid food analgesic sceening. *Fed. Proc*. 1959; 18: 412.

13. Magiatis P, Melliou E, Skaltsounis AL, chinou IB, Milaku S Chemical Composition and antimicrobial activity of the essential oils of for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*. 1957; 95: 729-31.

Pistachio lentiscus var. *chia*. *Planta Med.* 1999; 65: 749-52.

14. Mota M L, et al Anti-inflammatory acfion of tannins isolated from the back of Anacardium oceidentale L. *J. Ethnophaomacol.* 1985; 13: 289-300.

15. Paokhouse J, Pleuvry BJ. *Analgesic Drug*. Blackwell, Oxford. 1979; pp: 1-5.

16. Sanz MJ, Terencio Mc, Paya M. Isolation and hypotensive activity of a polymeic procyanidin frachion from *Pistachio lentiscus* L. *Pharmazie*. 1992; 47: 466-7.

17. Siegmund E, Cadmus R, Lu G. A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*. 1957; 95: 729-31.

18. Starec M, Waifzova D, Elis J. Evaluation of the analgesic effects of RG-tanin Using the hot plate and tail flick method in mice. *Cesk. Farm*. 1988; 37: 319-21.

19. Vogel HG, Vogel WH. *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assays*. Springers, Berlin, 1997; 402-3.

20. Weiss RF, Fintelman Volker. *Herbal Medicine*. Germany George Thieme. Verlag. 2001, 328.