فعالیت ضددردی عصاره آبی گیاه باززایی شده دروزرا اسپاتولاتا (*Drosera spatulata*) در موش سفید بزرگ به روش آزمون فرمالین

سحر گلابی[۱]، مجید حسن‌پورعزتی[۲]*، حسن اژدری[۳]، کامبیز رهام‌پور[٤]، طیبه رجبیان[٥]، سمانه اختراعی‌طوسی[٦]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران
۳- دانشجوی دکتری فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
٤- دانشجوی دکتری فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
٥- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران
٦- کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، اتوبان خلیج‌فارس، روبروی حرم مطهر امام خمینی (ره)، دانشگاه شاهد
صندوق‌پستی: ۱۸۱۵۵/۱۵۹، کدپستی: ۳۳۱۹۱۱۸٦۵۱، تلفن: ۵۱۲۱۲٦۲۷ (۰۲۱)، نمابر: ۵۱۲۱۲٦۰۱ (۰۲۱)
پست الکترونیک: Hassanpm@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/٤/۹ **تاریخ تصویب:** ۸۷/۹/۱۲

چکیده

مقدمه: استفاده از گیاهان باززایی شده عرصه نوینی را در تولید داروهای گیاهی فراهم آورده است.

هدف: در این پژوهش، اثر ضددردی عصاره آبی بخش‌های هوایی گیاه باززایی شده ***Drosera spatulata*** از خانواده دروزراسه[1] بر روی موش‌های سفید بزرگ (۲۵۰ – ۲۰۰ گرم) نژاد اسپراگ با استفاده از آزمون فرمالین ارزیابی شده است.

روش بررسی: قطعات جدا کشت برگی گیاه ***D. spatulata*** به مدت ۳ ماه بر روی محیط کشت جامد **MS** موراشیگ و اسکوگ فاقد هورمون و محتوی ۳ درصد (w/v) ساکاروز و ۰/۷ درصد (w/v) آگار کشت شدند. سپس از بخش‌های هوایی گیاهان باززایی شده عصاره آبی تهیه شد.

نتایج: عصاره در دوزهای ۱، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۰۵ (**mg/kg, i.p.**) به موش‌های سفید بزرگ تجویز شد. عصاره در دوز ۰/۰۵ (**mg/kg, i.p.**) به طور معنی‌دار ($p<0/01$) و وابسته به دوز پاسخ‌های خم کردن و تکان دادن پا را در موش‌ها کاهش داد. سدیم سالیسیلات (**mg/kg, i.p.** ۳۰۰) به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. سدیم سالیسیلات و عصاره هر دو به طور معنی دار سبب کاهش درد در مرحله دوم آزمون فرمالین شدند، اما در مرحله اول آزمون تنها عصاره آبی اثر ضددرد داشت. همچنین نتایج نشان می‌دهند که اثر ضددرد عصاره آبی گیاه ***D. spatulata*** ممکن است به واسطه مکانیسم‌های کنترل‌کننده درد محیطی و مرکزی باشد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج پژوهش حاضر عصاره آبی این گیاه اثری مشابه با دوز موثر سدیم سالیسیلات در کاهش درد نشان می‌دهد.

گل‌واژگان: دروزرا اسپاتولاتا، ضددرد، آزمون فرمالین

[1] *Droseraceae*

[Downloaded from jmp.ir on 2026-07-08]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.33.4.0]

مقدمه

در حالت طبیعی گونه‌های مختلف گیاهی متابولیت‌های ثانویه‌ای را با خواص جالب فارماکولوژیکی، ساخته و ذخیره می‌کنند. در یک گیاه سالم کامل، ساخت این متابولیت‌ها به یک روش هماهنگ و خاص آن گیاه صورت می‌گیرد و به این شکل عصاره آن گیاه بر یک فرایند خاص اثر درمانی اعمال می‌کند. اما امروزه نیاز روزافزون به گیاهان دارویی و محدودیت در منابع تهیه این گیاهان، باعث نشده است تا کشت گیاهی in vitro در بحث گیاهان دارویی، جایگاه خوبی پیدا کرده است. بر این اساس، در این تحقیق گیاه دروزرا اسپاتولاتا یا شبنم خورشیدی از خانواده دروزراسه که غیربومی کشور ایران است و دارای سابقه خوبی برای کشت in vitro انتخاب شد [۱]. این گیاه گستره رویشی وسیعی از لحاظ جغرافیایی در دنیا داشته و به طور طبیعی در جنوب شرق آسیا تا قسمت شرقی سرزمین استرالیا یافت می‌شود. بررسی‌های فارماکولوژیک نشان داده‌اند که عصاره آبی بعضی از گونه‌های دیگر دروزرا دارای خواص ضدالتهابی، ضدتشنجی [۲] و ضدمیکروبی [۳] هستند. بررسی‌های فیتوشیمیایی قبلی بر روی عصاره آبی دروزرا اسپاتولاتا نشان داده است که این عصاره حاوی مواد شناخته شده فارماکولوژیکی مثل: نفتوکوئینون‌ها [٤] و فلاونوییدهایی چون: myricetin ،kaempferol، quercetin و hyperoside است [۱،۵]. با توجه به اینکه گزارش شده است که فلاونوییدها می‌توانند تولید پروستاگلاندین‌ها را مهار کرده [٦،۷]، گیرنده‌های اپیوییدی [۸] و گیرنده‌های گابا [۹] را فعال کنند، این امر عصاره‌های حاوی این ترکیبات را کاندیدای خوبی برای کاهش درد می‌کند. همچنین، برخی از فلاونوییدها می‌توانند از سد خون – مغز عبور کنند [۱۰] و بنابراین با اثر بر مکانیسم‌های مختلف مغزی به صورت مرکزی نیز می‌توانند اثرات خودشان را اعمال کنند. با این وجود، پژوهش علمی مدونی بر روی خاصیت ضددردی عصاره آبی استخراج شده از گیاه دروزرا اسپاتولاتا کشت شده چه به صورت طبیعی و چه به صورت In vitro انجام نشده است. بنابراین بررسی فعالیت ضددردی عصاره آبی گیاه باززایی شده دروزرا اسپاتولاتا توسط آزمون فرمالین که یک مدل درد التهابی و نوروپاتیک است [۱۱] با توجه به سابقه و مشخصاتی که ذکر شد، بسیار جالب به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

باززایی گیاه

در این پژوهش از برگ گیاه دروزرا اسپاتولاتا برای کشت استفاده شد. نمونه‌های از برگ گیاه بر روی محیط جامد MS ۱/٤، فاقد هورمون و حاوی ۳ درصد سوکروز و ۰/۷ درصد آگار کشت داده شدند [۱۲]. محیط‌های کشت قبل از استفاده توسط اتوکلاو ضدعفونی شدند و pH آن‌ها در ۵/۷ تنظیم شد. تمام محیط‌های کشت در دمای ۲ ± ۲۵ درجهٔ سلسیوس و با دوره ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به مدت ۳ ماه انکوبه شدند.

عصاره گیاهی

بعد از پایان زمان کشت، گیاهان جمع‌آوری و وزن تر آنها اندازه‌گیری و ثبت شد و سپس نمونه‌ها در یک آون به مدت ۲٤ ساعت و در دمای ٤۰ درجهٔ سلسیوس، خشک شدند. بخش‌های هوایی خشک شده گیاه به وزن ۳/٥٦ گرم در ۳۵ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۳۲ درجهٔ سلسیوس و به مدت ٤۸ ساعت خیسانده شده و به صورت متناوب در طول این مدت مخلوط شدند. سپس محلول سانتریفیوژ و بخش فوقانی محلول برداشته شده و آب آن تبخیر شد. پودر خشک شده حاصل تا زمان انجام آزمون فرمالین در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس نگهداری شده و در زمان انجام آزمایش، در نرمال سالین حل شد.

حیوانات آزمایشگاهی

در این پژوهش، موش‌های سفید بزرگ نر بالغ نژاد اسپراگ (تهیه شده از شرکت سرم‌سازی رازی) در محدوده وزنی ۳۰۰ – ۲۵۰ گرم برای آزمون فرمالین مورد آزمایش واقع شدند. حیوانات در گروه‌های ۳ تایی در هر قفس نگهداری می‌شدند و هر گروه شامل پنج موش سفید بزرگ بود. حیوانات در قفس‌ها به آب و غذا آزادانه دسترسی داشتند.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-07-08]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.33.4.0]

آزمایش‌ها بر اساس راهنمای اخلاقی موسسه بین‌المللی مطالعه درد انجام شدند [۱۳].

آزمون فرمالین

برای انجام آزمایش‌ها حیوانات ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمون در جعبه آزمون فرمالین (این جعبه از جنس پلکسی گلاس با ابعاد ۳۰×۳۰× ۳۰ سانتی‌متر است که آینه‌ای با زاویه ٤٥ درجه در زیر آن نصب شده است تا امکان دیدن مناسب حیوانات فراهم شود) قرار داده شدند تا به محیط جدید عادت کنند. سپس، عصاره آبی گیاه دروزا (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ mg/kg, i.p.) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تزریق شده و بلافاصله پس از تزریق فرمالین ثبت اطلاعات شروع می‌شد. سدیم سالیسیلات، دوز ۳۰۰ (i.p., mg/kg) به عنوان استاندارد استفاده شد. برای انجام آزمون فرمالین به کف پای راست هر موش، فرمالین (۲/۵ درصد، با حجم ۵۰ میکرولیتر به صورت زیر جلدی) با دقت توسط یک سر سوزن نمره ۲۷ تزریق شده و موش مورد آزمایش به جعبه آزمون برگردانده شد. تزریق فرمالین سبب رفتار ویژه خم و راست کردن[1] در پای مورد تزریق می‌شود. تعداد کل این حرکات پا در دوره‌های یک دقیقه‌ای و به مدت ٦٠ دقیقه پس از تزریق فرمالین، مشاهده و ثبت شد. بر اساس الگوی پاسخ‌دهی دو مرحله درد مشخص و ثبت شد: مرحله اول (مرحله حاد) از دقیقه ۹ – ۱ بعد از تزریق و مرحله دوم (مرحله مزمن) از دقیقه ۲۰ – ٦٠.

آزمون آماری

داده‌های هر دو مرحله، برای آنالیز شدن به صورت جداگانه بررسی شدند [١٤،١٥]. برای آنالیز داده‌ها از ANOVA یک طرفه و Post- hoc- Tukey استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین ± خطایی استاندارد نشان داده شدند ($p<۰/۰۱$) [١٦،١٧].

نتایج

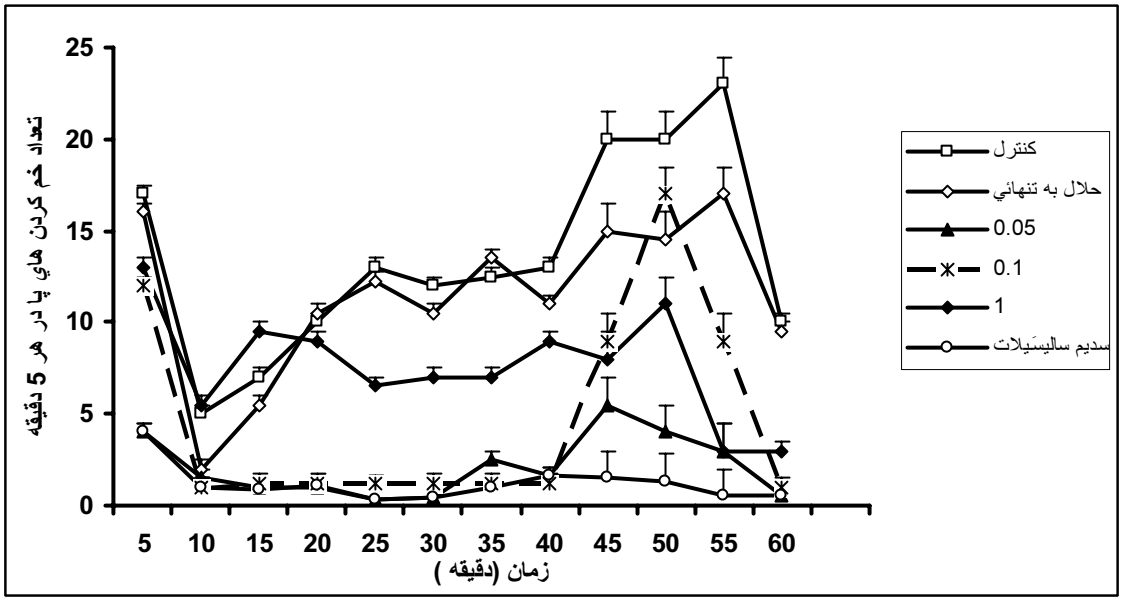
همان‌گونه که در شکل شماره ۱ نشان داده شده است، درد حاصل از تجویز فرمالین به یک موش کنترل از زمان شروع تا دقیقه ۹ (مرحله ۱) کاهش یافته و پس از یک فاصله زمانی ۱۰ دقیقه‌ای پاسخ به درد دوباره شروع شده و در محدوده ٦٠ – ٤٠ دقیقه بعد از تزریق فرمالین به ماکزیمم خود در این مرحله می‌رسد (مرحله دوم). نمودار دوز – پاسخ (شکل شماره ۱) برای دوزهای مختلف عصاره ۰/۰۵، ۰/۱ و ۱ (i.p., mg/kg) نشان‌دهنده اثرات وابسته به دوز عصاره است. دوز ۰/۰۵ (i.p., mg/kg) توانست به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) پاسخ خم و راست کردن پا را در مرحله اول و مرحله دوم آزمون فرمالین کاهش دهد (شکل شماره ۱). نتایج نشان دادند که مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سدیم سالیسیلات اثر معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) را بر مرحله دوم آزمون فرمالین دارد. شکل شماره ۲ اثرات مقادیر مختلف عصاره را بر میزان مهار درد در مقایسه با گروه کنترل برای هر دو مرحله نشان داده است.

بحث

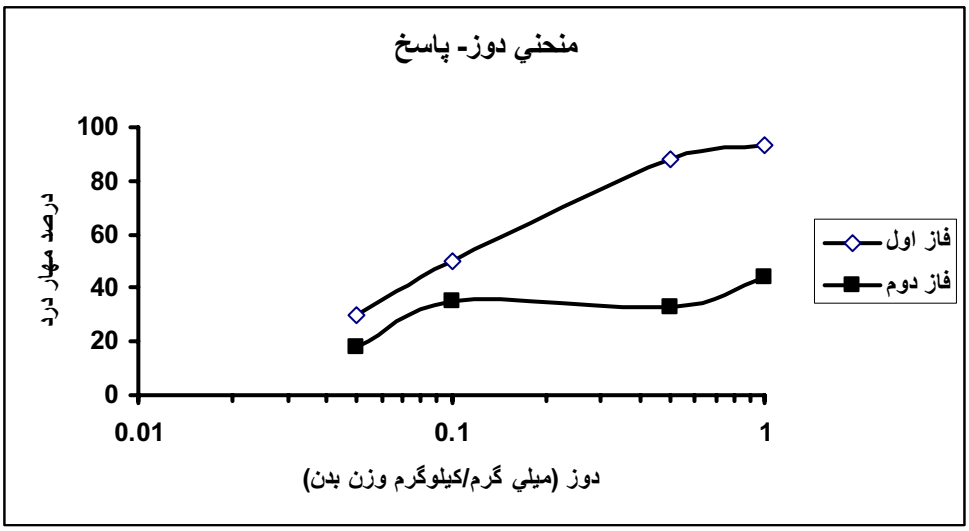
در آزمون فرمالین، بیان درد در دو مرحله اتفاق می‌افتد [١٤]. مرحله اول حاصل تحریک مستقیم گیرنده‌های درد است، در حالی‌که، مرحله دوم منعکس‌کننده ارسال پیام درد حاصل از فرآیندهای التهابی محیطی است که باعث درد در این مرحله می‌شود [١٨،١٩]. به این ترتیب داروهایی که مرحله اول درد را کاهش می‌دهند، جلوی انتقال درد از گیرنده به مراکز فوقانی ادراک کننده درد را می‌گیرند و در نتیجه جلوی درد اول نیز توسط چنین داروهایی گرفته می‌شود. داروهایی که فقط درد مرحله دوم را کاهش می‌دهند، فقط باعث سرکوب عوامل التهابی و از آن طریق باعث حذف عامل ایجادکننده درد یعنی التهاب می‌شوند. نتایج ما نشان دادند که تجویز عصاره آبی گیاه دروزرا اسپاتولاتا علایم درد حاصل از تجویز فرمالین به کف پای حیوان را در هر دو مرحله آزمون فرمالین کاهش می‌دهد. با توجه به اینکه در قسمت مقدمه اشاره شد که اثرات ضدالتهابی عصاره آبی حاصل از گیاهان این خانواده گزارش شده است. بنابراین عصاره حاوی ترکیباتی با اثرات بر سیستم اعصاب مرکزی و هم اثرات ضدالتهابی محیطی است. پژوهشگران قبلاً نشان داده‌اند که عصاره تهیه شده در گونه‌های

[1] Flinching

[Downloaded from jmp.ir on 2026-07-08]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.33.4.0]



شکل شماره ۱- نمودار رفتار خم کردن پا در آزمون فرمالین ثبت شده به مدت ٦٠ دقیقه، دوزهای موثر دروزرا (میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، i.p.) که ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمون تجویز شده‌اند، در کنار شکل نشان داده شده‌اند. فرمالین به صورت زیر جلدی کف پا تزریق می‌شد. هر نقطه نشان‌دهنده میانگین پاسخ ± SEM می‌باشد. گروه‌ها توسط (ANOVA) با سطح معنی‌داری ۰/۰۱ >p نسبت به کنترل دارای تفاوت معنی‌دار هستند. سدیم‌سالیسلات با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم / کیلوگرم وزن، .i.p تجویز شد (n =۵).



شکل شماره ۲- اثر دوزهای مختلف دروزرا اسپاتولاتا بر درصد مهار به درد (تعداد رفتار خم کردن/ تکان دادن پا) در مقایسه با گروه کنترل × ۱۰۰ در آزمون فرمالین (فازهای اول و دوم)، تعداد حیوانات هر گروه = ۵ سر

مختلف دروزرا غنی از فلاونوییدها و نفتوکوئینون‌ها [۲۰] هستند، چون نشان داده شده است که فلاونوییدها سنتز پروستاگلاندین‌ها را مهار می‌کنند و این ترکیبات مهم‌ترین عوامل التهابی فعال‌کننده گیرنده‌های محیطی درد هستند [۷،۲۱،۲۲]. این امر را می‌توان مهم‌ترین مکانیسم محیطی کنترل درد توسط متابولیت‌های موجود در این عصاره دانست. نکته جالب دیگر این است که گرچه عصاره مورد پژوهش ما آبی است، ولی نشان داده شده است که فلاونوییدها می‌توانند از

[Downloaded from jmp.ir on 2026-07-08]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.33.4.0]

سد خون – مغز عبور کرده و وارد سیستم اعصاب مرکزی شوند [۲۳]، در نتیجه می‌توانند گیرنده‌های اپیوییدی و گاباارژیک مرکزی را که نقش مهمی در مهار انتقال پیام‌های درد دارند فعال کنند [۹،۲٤،۲۵،۲٦،۲۷،۲۸]. بنابراین عصاره‌های گیاهی حاوی فلاونوییدها می‌توانند مکانیسم‌های مرکزی درد را توسط هریک از مکانیسم‌های فوق‌الذکر فعال کنند. به این ترتیب، عصاره آبی دروزرا اسپاتولاتا باززایی شده می‌تواند درد را با اثر بر فرآیندهای مرکزی و محیطی کنترل درد کاهش دهد. با توجه به اینکه، اثر بی‌دردی دوز موثر عصاره آبی گیاه دروزرا اسپاتولاتا به اثر بی‌دردی حاصل از سدیم سالیسیلات به عنوان یک داروی ضدالتهابی غیراستروییدی نزدیک است، بنابراین مصرف این عصاره می‌تواند اثرات درمانی خوبی را بر انواع دردهای التهابی و با منشای مرکزی به دنبال داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت و زحمات استاد ارجمند و دانشمند گرانقدر جناب آقایی دکتر سعید سمنانیان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از کلیه دوستانی که ما را در انجام این تحقیق یاری دادند نیز قدردانی می‌نماییم.

منابع

1. Marczak L, Kawiak A, Lojkowska E, Stobiecki M. Secondary metabolites in in vitro cultured plants of the genus Drosera. *Phytochemical. Anal.* 2005; 16: 143 - 9.

2. Krenn L, Beyer G, Pertz HH, Karall E, Kremser M, Galambosi B, Melzig MF. In vitro antispasmodic and anti-inflammatory effects of *Drosera rotundifolia*. *Arzneimittelforschung* 2004; 54: 402 - 5.

3. Didry N, Dubreuil L, Trotin F, Pinkas M. Antimicrobial activity of aerial parts of Drosera peltata Smith on oral bacteria. *J. Ethnopharmacol.* 1998; 60: 91 - 6.

4. Budzianowski J. Naphthoquinone glucosides of Drosera gigantea from in vitro cultures. *Planta Med*. 2000; 66: 667 - 9.

5. Ayuga C. Contribución al estudio de flavonoides en D. rotundifolia L. AnnRev. *Acad. Farm*. 1985; 51: 321 – 6.

6. Middleton E, Kandaswami, C, Theoharides T C. The Effects of Plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev*. 2000; 52: 673 – 751.

7. Ferrándiz ML, Alcaraz MJ. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids, *Inflammation Res*. 2005; 32: 283 - 8.

8. Katavic PL, Lamb K, Navarro H, Prisinzano T E. Flavonoids as opioid receptor ligands: identification and preliminary structure–activity relationships. *J. Nat. Prod*. 2007; 70: 1278 – 82.

9. Medina JH, Viola H, Wolfman C, Marder M, Wasowski C, Calvo D, Paladin A C. Overview—Flavonoids: A new family of benzodiazepine receptor ligands. *Neurochem. Res*. 1997; 22: 419 - 25.

10. Youdim KA, Qaiser MZ, Begley DJ, Rice-Evans CA, Abbott NJ. Flavonoid permeability across an in situ model of the blood-brain barrier, Free Radic. *Biol. Med*. 2004; 36: 592 – 604.

11. Tanabe M, Murakami T, Ono H. Zonisamide suppresses pain symptoms of formalin-induced inflammatory and streptozotocin-induced diabetic neuropathy. *J. Pharmacol. Sci*. 2008; 107: 213 - 20.

12. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiol. Plant*. 1962; 15: 473 - 97.

13. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*. 1983; 16: 109 - 10.

14. Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain*. 1995; 60: 91 – 102.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-07-08]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.33.4.0]

15. Dubuisson D, Dennis S G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*. 1977; 4: 161 – 74.

16. Bolton S, Bon C. Pharmaceutical Statistics: Practical and Clinical Applications. Marcel Dekker Inc., New York. 2007, pp: 215 – 64.

17. Reanmongkol W, Matsumoto K, Watanabe H, Subhadhirasakul S, Sakai SI. .Antinociceptive and antipyretic effects of alkaloids extracted from the stem bark of Hunteria zeylanica. *Biol. Pharm. Bull*.1994; 17: 1345 – 50.

18. Coderre TJ, Vacarino AL, Melzack R. Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. *Brain Res*. 1990; 535: 155 – 8.

19. Coderre TJ, Melzack R. The contribution of excitatory amino acids to central sensitization and persistent nociception after formalin-induced tissue injury. *J. Neurosci*. 1992; 12: 3665 – 70.

20. Schölly T, Kapetanidis I. Flavonol and naphthoquinones glycosides of Drosera rotundifolia. *Planta Med*. 1989; 55: 611 - 2.

21. Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, Hoult JR, Halliwell B. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem. Pharmacol.* 1991; 42: 1673 - 81.

22. Paper DH, Karall E, Kremser M, Krenn L Comparison of the anti -inflammatory effects of Drosera rotundifolia and Drosera madagascariensis in the HET-CAM assay. *Phytotherapy Res*. 2005; 19: 323 - 6.

23. Loscalzo ML, Wasowski C, Alejandro C, PaladiniC A, Marder M. Opioid receptors are involved in the sedative and antinociceptive effects of hesperidin as well as in its potentiation with benzodiazepines. *European J. of Pharmacol*. 2008; 580: 306 - 13.

24. Dekermendjian K, Kahnberg PW, Sterner MR, Nielsen O, Liljefors T. Structure-Activity Relationships and Molecular Modeling Analysis of Flavonoids Binding to the Benzodiazepine Site of the Rat Brain $GABA_A$ Receptor Complex. *J. Med. Chem.* 1999; 42: 4343 - 50.

25. Walker KMJ, Lê AD, Poulos CX, Cappell H. Role of central versus peripheral opioid receptors in analgesia induced by repeated administration of opioid antagonists. *Psychopharmacol*. 1991; 104: 164 - 6.

26. Grasshoff C, Drexler B, Rudolph U, Antkowiak B Anaesthetic drugs linking molecular actions to clinical effects. *Curr. Pharm. Des*. 2006; 12: 3665 - 79.

27. Nishiyama T. Analgesic effects of systemic midazolam: comparison with intrathecal administration. *Can. J. Anaesth*. 2006; 53:1004 - 9.

28. Hong Y, Abbott FV. Peripheral opioid modulation of pain and inflammation in the formalin test. *Eur. J. Pharmacol*. 1995; 277: 21 - 8.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-07-08]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.33.4.0]