بررسی اثر عصاره آبی - الکلی گیاه درمنه دشتی (*Artemisia sieberi Besser*) بر کاهش درد نوروژنیک و التهابی در موش سوری

عباس مرشدی[1]، محمدحسین دشتی رحمت آبادی[2]*، میترا دهقان هراتی[3]، محمدعلی باقری نسب[3]، اشرف‌السادات سلامی[4]

۱- مربی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی و عضو مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد

۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد

٤- کارشناس، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد

*آدرس مکاتبه: یزد، بلوار شهدای گمنام، پردیس دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، کدپستی: ۸۰۹۱۵۱۷۳۱٤۹

تلفن: ۱۷- ۸۲۰۳٤۱۰ (۰۳۵۱)، نمابر: ۸۲۰۲٦۳۲ (۰۳۵۱)

پست الکترونیک: dashti-r@ssu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۱۰ **تاریخ تصویب:** ۸۹/۸/۲۹

چکیده

مقدمه: امروزه گیاه درمانی برای تسکین درد مورد توجه زیادی قرار گرفته است. از جمله گیاهانی که در طب سنتی از آن به عنوان ضددرد یاد شده، درمنه دشتی (***Artemisia sieberi Besser***) می‌باشد که اثر ضددرددی آن نیاز به تحقیق علمی بیشتری دارد.

هدف: در این تحقیق اثر ضددردی عصاره آبی ـ الکلی گیاه درمنه دشتی با آزمون فرمالین در موش سوری بررسی شد.

روش بررسی: ٤۲ سر موش سوری نر به ۷ گروه تقسیم شدند. به گروه کنترل آب مقطر، به گروه شاهد منفی حلال دارو، به گروه‌های شاهد مثبت دوزهای ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین و به گروه‌های آزمون دوزهای ٤۰، ٤۰۰ و ٤۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه به صورت داخل صفاقی تزریق شد. سپس ۲۵ میکرولیتر فرمالین (۲ درصد) در کف پای حیوان تزریق و مدت یک ساعت رفتار درد حیوان بررسی شد. میانگین شدت درد هر حیوان در مقاطع زمانی ۵ دقیقه‌ای محاسبه و مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

نتایج: در این مطالعه، در مرحله درد حاد میانگین شدت درد دوز ٤۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه درمنه در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافته است؛ $p < ۰/۰۵$. همچنین اثر ضددردی عصاره درمنه در مرحله درد مزمن بارزتر است به طوری که اثر ضددردی دوز ٤۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم درمنه از مرفین ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز بیشتر بوده است ($p < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش مؤید اثر ضددردی عصاره درمنه می‌باشد که با توجه به بارزتر بودن این اثر در مرحله درد مزمن ممکن است این اثر ناشی از وجود عوامل ضدالتهابی در عصاره این گیاه باشد که نیاز به تحقیق بیشتری دارد.

گل‌واژگان: درمنه دشتی، درد، موش، مرفین، آزمون فرمالین

مقدمه

درد احساسی است ناخوشایند که در اثر آسیب بافت‌ها ایجاد می‌شود و اگر درمان نشود می‌تواند مانع از فعالیت‌های روزمره زندگی شود [۱،۲]. درد می‌تواند به علت تخریب بافت‌ها در اثر محرک‌های آسیب رسان مانند محرک‌های شیمیایی، الکتریکی، حرارتی، و مکانیکی تولید شده و به دو صورت حاد و مزمن احساس شود [۳].

صرف نظر از منشاء بروز؛ امروزه درد رایج‌ترین ناراحتی جوامع انسانی به ویژه در کشورهای صنعتی و در حال توسعه می‌باشد [٤،٥].

مطالعاتی که در مورد میزان شیوع درد در جامعه آمریکا انجام شد نشان داد که میزان شیوع دردهای مزمن ٦٠ - ٢٠ درصد، درد کمر بیشتر از ۳۰ درصد و درد میگرن حدود ۱۵ درصد می‌باشد. این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که سالانه در آمریکا حدود ٦١ میلیارد دلار صرف معالجه سر درد، کمردرد، دردهای عضلانی و روماتیسمی می‌شود [٦،٧]. ترکیبات ضددرد بیشترین میزان فروش را در بین گروه مشخصی از داروها به خود اختصاص داده‌اند که اهمیت آنها را از هر لحاظ روشن می‌سازد [۱،۷،۸] از طرفی مسلم شده است که هر داروی شیمیایی ممکن است موجب عوارض نامطلوب و اثرات متضاد شود [۸،۹].

برای تسکین درد درحال حاضر انواع مختلفی از داروهای مسکن در سرتاسر جهان مصرف می‌شود. در آمریکا سالانه ۷۳ میلیارد دلار صرف خرید انواع مسکن‌ها برای تسکین درد می‌شود [۲،٦]. برای درمان درد در سده اخیر عمدتاً از داروهای اوپیوئیدی و ضدالتهابی غیر استرویيدی به طور گسترده‌ای استفاده شده است که دارای عوارض جانبی می‌باشند [۷،۸،۹]. مصرف مداوم اوپیوئیدها موجب وابستگی یا اعتیاد می‌شود و مصرف آن را محدود می‌سازد، در حالی‌که مصرف داروهای ضدالتهابی غیراسترویيدی می‌تواند موجب اختلالات گوارشی شود [۸]. استفاده از گیاهان دارویی تاریخچه طولانی داشته و مورد توجه زیادی بوده است. اما با توجه به عوارض جانبی استفاده از داروهای شیمیایی، لزوم بهره‌گیری از طبیعت و گیاهان دارویی در سال‌های اخیر در جهت درمان و بهبود بیماری‌ها بیش از پیش مورد توجه صاحبنظران قرار گرفته و این امر لزوم تحقیق بیشتر در زمینه اثر بخشی گیاهان دارویی را برای ما آشکار می‌سازد [۱۰،۱۱،۱۲].

یکی از گیاهانی که از گذشته به عنوان دارو برای تسکین سردرد استفاده می‌شده است درمنه می‌باشد. *Artemisia* یا درمنه از خانواده کمپوزیته و بومی ایران بوده گیاهی است بوته‌ای به رنگ سبز متمایل به خاکستری، بسیار پرشاخه، انبوه، کولنی شکل، دارای ریشه‌های عمودی چوبی شده ضخیم و در انتها منشعب می‌باشد. گیاهی است به ارتفاع ۳۰ تا ٤٠ سانتی‌متر و دارای ۲ نوع برگ متفاوت است به طوری‌که برگ‌های تحتانی آن دارای تقسیمات کوچک ولی برگ‌های قسمت انتهایی کوچک‌تر و منقسم به ۳ لوب مشخص با ظاهر کاملاً متفاوت است. این جنس در ایران سه گونه گیاه علفی یکساله و چند ساله دارد که در سرتاسر ایران پراکنده‌اند. گونه‌های انحصاری آن در ایران شامل *A. Oliveriana*، *A. Aucheri* و *A. Persica Boiss* می‌شوند. گونه *Artemisia sieberi Besser* با ارزش‌ترین آنها از لحاظ تغذیه دام و از گیاهان بردبار مناطق بیابانی و نیمه بیابانی ایران می‌باشد. درمنه دشتی در نواحی مختلف از جمله مهاباد، اراک، اردستان، فارس، یزد، کرمان، کاشان، نائین و طبس می‌روید و تقریباً در تمام ایران گسترده است [١٦- ١٢]. درمنه دارای خواص ضدعفونی کننده، ضدسرفه، بادشکن، اشتهاآور، ضدانگل اسکاریس تب بر و مسکن دردهای احشایی و سردرد و ضدالتهاب است و سابقاً جهت تسکین درد عصبی بیماری تابس دورسالیس و درمان هپاتیت از درمنه استفاده می‌شده است [۱۷- ۱۲]. در آنالیز ترکیبات درمنه علاوه بر سانتونین که دردرمان بیماری‌های انگلی مورد استفاده قرار می‌گیرد مواد دیگری مانند کافور، الفا تیوجن، سینئولی، میرسین و ترکیبات الکلی نیز در اسانس روغنی درمنه دشتی وجود دارند [۲۰- ١٦].

از آنجا که امروزه گیاه درمانی به صور مختلف اعم از استفاده از فرآورده‌های گیاهی یا عصاره‌های تام آنها در تمام دنیا رایج است و توجه خاص به گیاه درمانی رو به افزایش است [۱۲ - ۱۰]، تحقیقات زیادی در این مورد انجام شده و

یا در دست انجام می‌یباشد. در مورد اثرات دارویی گیاه درمنه مطالعات متعددی به شرح زیر انجام شده است.

در تحقیقی که در سال ۲۰۰۷ توسط Mulatu A و همکاران انجام شد اثر ضداسپاسمی دو گونه گیاه درمنه بر عضله صاف دئودنوم موش سوری مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که عصاره آبی – الکلی برگ و ریشه این گیاهان انقباضات ریتمیک خودبخودی و انقباضات القا شده توسط استیل کولین و هیستامین را مهار می‌کنند [۲۱].

در مطالعه دیگری که تاثیر افشره گیاه درمنه در مبتلایان به آسم مورد بررسی قرار گرفت گروه دارو شاخص‌های بهبودی بیشتری نسبت به گروه دارونما داشت ولی نسبت‌های پاسخ به درمان در هر دو گروه یکسان بود [۲۲].

در تحقیقی که با عنوان نقش نیتریک اکساید و ذخایر داخل سلولی کلسیم در اثر حفاظتی عصاره آبی گیاه درمنه بر پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورتی به آگونیست آلفا ۱- آدرنوسپتور در موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد به این نتیجه رسیدند که اثر گشادکنندگی عروقی عصاره آبی درمنه در حیوانات دیابتی اثری وابسته به آندوتلیوم است و از طریق افزایش در تولید و یا آزادسازی نیتریک اکساید عمل می‌کند. همچنین عصاره آبی این گیاه می‌تواند اثر خود را از طریق مهار آزادسازی کلسیم از منابع داخل سلولی اعمال نماید [۲۳]. در تحقیق دیگری که بر روی اثر ضدقارچی اسانس روغنی چندین گیاه منطقه کاشان از جمله درمنه دشتی انجام شد، ترکیبات متعددی ازجمله الفا تیوجن و کافور از این گیاه به دست آمد. همچنین مشخص شد که اسانس روغنی درمنه اثر متوسط ضدقارچی دارد [۲٤]. همچنین اثر تجویز خوراکی عصاره آبی درمنه دشتی بر ضربان قلب و بعضی پارامترهای خونی موش‌های سالم و دیابتی القاء شده توسط آلوکسان بررسی شد و نشان داده شد که مصرف عصاره آبی این گیاه به مدت ۱۰ روز به طور معنی‌داری غلظت گلوکز پلاسما را پایین آورده، ترشح انسولین را افزایش داده و تولید گلبول‌های سفید و قرمز را زیاد می‌کند [۲۵]. با توجه به اهمیت بالینی درد و تسکین آن در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی در مورد اثر ضددردی داروهای گیاهی مختلف انجام شده و اثر ضددردی تعدادی از آنها در مطالعات حیوانی قبلی در گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شهید صدوقی یزد مورد تایید قرار گرفته است [۲٦،۲۷،۲۸]. علی‌رغم اشاره طب سنتی و وجود برخی ترکیبات ضددردی نظیر کافور [۲۹] در گیاه درمنه، تاکنون تحقیق علمی در مورد اثر ضددردی این گیاه که به فراوانی در اقلیم گیاهی ایران وجود دارد و به راحتی در دسترس می‌باشد؛ به عمل نیامده است. لذا در این پژوهش اثر ضددردی عصاره آبی – الکلی این گیاه بر درد نوروژنیک و التهابی در موش سوری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع مداخله‌ای بوده و به روش کارآزمایی تجربی، اثرات ضددردی عصاره آبی- الکلی گیاه درمنه بر روی شدت درد حاصل از تزریق زیر جلدی فرمالین در کف‌پای موش سوری نر مورد بررسی قرار گرفته است.

روش عصاره‌گیری: ابتدا ۱۰۰ گرم از سرشاخه‌های خشک شده گیاه را تهیه و پس تایید آن توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی یزد؛ آنرا کاملاً پودر کرده و سپس در الکل اتیلیک ۸۰ درجه خیسانده شد. این مخلوط را به مدت ٤۸ ساعت در ظرف دربسته نگهداشته و مرتب به هم زده شد. سپس محتویات ظرف را ابتدا با گاز، صاف نموده و سپس محلول به دست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد. محلول کاملاً صاف و شفاف به دست آمده در بشر شیشه‌ای که وزن مشخصی داشت ریخته و به مدت یک هفته در دمای اتاق نگهداری شد تا کاملاً خشک شود. سپس ظرف محتوی عصاره خشک شده را وزن نموده و مقدار خالص عصاره ۱۰ گرم شد. سپس با استفاده از آب مقطر و توئین و بر اساس منابع مشابه [۳۰،۲۵] غلظت‌های مختلف عصاره درمنه (٤۰؛ ٤۰۰ و ٤۰۰۰ میلی‌گرم در ۱۰ میلی‌لیتر) تهیه و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد. ۲۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش‌ها سنجش درد غلظت‌های مختلف عصاره با حجم ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد [۳۰].

گروه‌بندی حیوانات

براساس مطالعه مشابه که تعداد حیوانات هر گروه را بین ۱۰ – ۵ سر درنظر می‌گیرند [۳۱، ۲۵]. در این پژوهش برای هر

گروه ٦ سر موش سوری نر مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیق تعداد ٤٢ سر موش سوری که ۳۰ - ۲۵ گرم وزن داشتند و در بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی شهید صدوقی یزد نگهداری می‌شدند، به روش نمونه‌گیری آسان انتخاب و در حالی‌که تحت شرایط یکسان قرار داشتند به ۷ گروه ٦ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل دریافت کننده آب مقطر با حجم ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم

۲- گروه شاهد منفی دریافت‌کننده حلال داروها (مخلوط آب مقطر و ٤/۳ درصد توئین ۸۰، ساخت شرکت مرک آلمان)

۳- گروه‌های شاهد مثبت ۱ و ۲ به ترتیب دریافت‌کننده دوزهای ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین سولفات (تهیه شده از شرکت داروپخش، تهران، ایران)

٤- گروه‌های آزمون ۱، ۲ و ۳ به ترتیب دریافت کننده دوزهای ٤۰؛ ٤۰۰ و ٤۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه حل شده در آب مقطر و توئین

آزمون فرمالین

آزمون فرمالین یک روش استاندارد جهت اندازه‌گیری پاسخ‌های ایجاد شده به محرک‌های دردزای شیمیایی می‌باشد که اولین بار توسط Dubission & Dennis (۱۹۷۷) معرفی شده است [۳۲]. برای انجام این آزمون پس از تجویز محلول مورد نظر به حیوانات هر گروه، هر حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه مشاهده قرار می‌گرفت تا با محیط آشنا شود. سپس مقدار ۲۵ میکرولیتر محلول فرمالین رقیق شده (۲ درصد) با استفاده از سرنگ انسولین در زیر پوست کف پای چپ حیوان تزریق می‌شد. پس از تزریق فرمالین حیوان بلافاصله به دستگاه مشاهده برگردانده شده و به مدت یک ساعت رفتار درد حیوان زیر نظر قرارمی‌گرفت و برای این رفتار در مقاطع زمانی ۱۵ ثانیه‌ای بر اساس نظر Dubuisson & Dennis امتیاز کمی شدت درد درنظر گرفته می‌شد و نتایج در جدول‌ها ثبت می‌شد [۳۲]. در این مشاهده در هر ۱۵ ثانیه بر اساس رفتار حیوان در بروز درد در پایی که فرمالین به آن تزریق شده امتیاز شدت درد صفر تا سه داده می‌شد. شدت درد صفر وقتی‌که حیوان پای تزریق شده را همچون پای دیگر مورد استفاده قرار می‌دهد. شدت درد یک وقتی‌که حیوان پای تزریق شده را روی زمین گذاشته اما به آن تکیه نمی‌دهد. شدت درد دو وقتی‌که حیوان پای تزریق شده را از زمین بالا نگه می‌دارد. شدت درد سه وقتی که حیوان پای تزریق شده را تکان داده، لیس میزند یا گاز می‌گیرد. پس از ثبت یافته‌های مربوط به شدت درد در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه‌ای، با استفاده از فرمول ارائه شده توسط Dubinson – Dennis میانگین شدت درد برای هر حیوان مورد آزمایش در مقاطع زمانی ۵ دقیقه‌ای به شرح زیر محاسبه شد:

$$M.P.S= \frac{s(\sum_0+\sum_1+\sum_2+\sum_3)}{S}$$

که در آن M.P.S میانگین شدت درد در فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای، Σ0 تا Σ3 مجموع تعداد امتیازهای صفر تا سه در هر مقطع زمانی ۵ دقیقه‌ای، s مدت زمان هر مشاهده برحسب ثانیه (۱۵ ثانیه) و S کل زمان هر مقطع ۵ دقیقه‌ای برحسب ثانیه (۳۰۰ ثانیه) می‌باشد [۳۳]. درد حاصل از ۵ دقیقه اول پس از تزریق فرمالین درد حاد و در فاصله زمانی ٦۰ - ۲۰ دقیقه بعد از تزریق فرمالین، درد مزمن نامیده می‌شود.

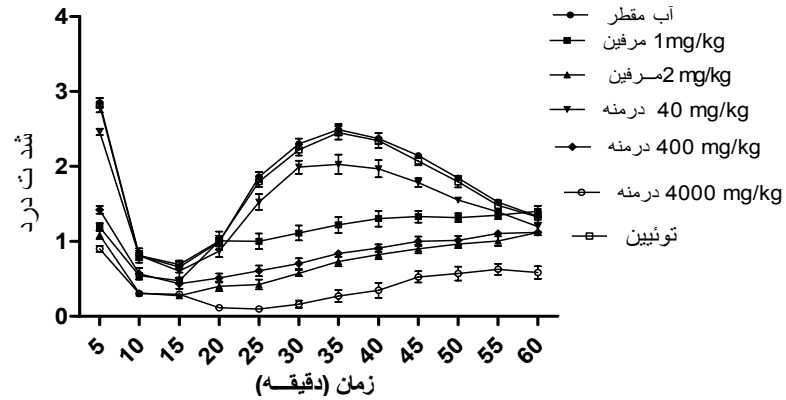
آزمون سنجش حرکت

برای بررسی اثر عصاره درمنه بر فعالیت حرکتی تعداد ۳۲ سر موش سوری با وزن بین ۳۰ - ۲۵ گرم به طور تصادفی به ٤ گروه مساوی (۱ گروه کنترل دریافت کننده حلال عصاره و ۳ گروه آزمون؛ دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره) تقسیم شده و یک روز قبل از انجام آزمایش با دستگاه آشنا شدند. حیوانات ۲۰ دقیقه پس از تجویز حلال یا عصاره با استفاده از دستگاه Photo beam Activity System (مدل LO 580 ساخت شرکت برج صنعت تهران) مورد ارزیابی وضعیت حرکتی قرار گرفتند [۳٤]. این دستگاه تعداد حرکات حیوان بر روی صفحه دستگاه را را در فاصله زمانی ۱۰ دقیقه‌ای محاسبه و گزارش می‌کند.

روش آماری: یافته‌ها بـه صـورت میـانگین ± خطـای معیـار شدت درد در ۱۲ فاصله زمانی در طول یک ساعت آزمون فرمالین بـرای گـروه‌هـای مختلـف محاسـبه و بـا اسـتفاده از آزمـون غیرپارامتریـــک Kruskal-Wallis و پـــس آزمـــون Dunn's Multiple Comparison آنالیز شد و برای لحاظ کردن عامل زمان ازآزمون Repeated Measure استفاده شـد. $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن اختلاف در نظر گرفته شد.

نتایج

در این تحقیـق یافتـه‌هـای امتیـاز شـدت درد بـه صـورت (Mean ± Sem) در هر گروه و در فواصل زمـانی ۵ دقیقـه‌ای در طول یک ساعت آزمون فرمالین محاسبه شد که نتـایج همـه گروه‌ها از منحنی استاندارد آزمون فرمـالین پیـروی مـی‌کردنـد (نمودار شماره ۱). این منحنی بیانگر یک مرحلـه درد حـاد در ۵ دقیقه اول آزمون و یک مرحله درد مزمن در ٤٠ دقیقـه آخـر می‌باشد که در بین آنها یک مرحله بی‌دردی ۱۰ دقیقه‌ای وجود دارد. از آنجا که از حلال ٤/۳ درصد توئین ۸۰ برای حل کردن پودر عصاره درمنه استفاده شده بود نتایج آماری نشـان داد کـه تفـــاوت معنـــی‌داری بـــین میـــانگین شـــدت درد در گـــروه دریافت‌کننده آب مقطر (کنترل) با گروه دریافـت‌کننـده حـلال تـوئین (شـاهد منفـی) وجـود نـدارد (۰/۸۱ ± ۱/۷٦ در برابـر ۰/۰۸ ± ۱/۷۳ و $p>۰/۰۵$؛ (جدول شماره ۱).



نمودار شماره ۱- میانگین تغییرات شدت درد در ازمون فرمالین در مدت یک ساعت بین گروه‌های دریافت‌کننده آب مقطر (D.W)؛ مرفین ۲ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم؛ عصاره آبی – الکلی درمنه با غلظت‌های ٤۰۰۰، ٤۰۰ و٤۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و توئین در موش سوری (n=٦)

جدول شماره ۱- مقایسه شدت درد بین گروه کنترل وسایر گروه‌ها در زمان‌های مختلف با استفاده از آزمون فرمالین در موش سوری (n= ٦).

زمان / گروه‌ها	درد حاد (۵ دقیقه اول)	مرحله بی‌دردی (۵ دقیقه دوم و سوم)	درد مزمن (۲۰ تا ٦۰ دقیقه)	کل(یکساعت)
	Mean ± SEM	Mean ± SEM	Mean ± SEM	Mean ± SEM
کنترل	۲/۸۵ ±۰/۰٦۲	۰/۷۳ ± ۰/۰۵۱	۱/۸۷ ± ۰/۰٦۷	۱/۷٦ ± ۰/۸۱
مرفین ۱mg/kg	۱/۱۹ ± ۰/۰٤۸[a]	۰/۵ ± ۰/۰۱۹	۱/۲۲ ± ۰/۰۳٤[a]	۱/۱ ± ۰/۰٤[a]
مرفین ۲mg/kg	۱/۰۸ ± ۰/۰۵٦[a]	۰/۲۹ ± ۰/۰۱۸[a]	۰/۷۷ ± ۰/۰۳۷[a]	۰/۷۱ ± ۰/۰۳۷[a]
درمنه ٤۰mg/kg	۲/٤٦ ± ۰/۰٤۳	۰/۷ ± ۰/۰۵۱	۱/۵۹ ± ۰/۰۵٦	۱/۵ ± ۰/۰٦۷[b]
درمنه ٤۰۰mg/kg	۱/٤۲ ± ۰/۰٤۹	۰/۵ ± ۰/۰۵۳	۰/۸٦ ± ۰/۰۳۳[a]	۰/۸۵ ± ۰/۰۳۷[a]
درمنه ٤۰۰۰mg/kg	۰/۹۰ ± ۰/۰٤۳[a]	۰/۳ ± ۰/۰۲۳[a]	۰/۳٦ ± ۰/۰۳۵[a,b]	۰/٤ ± ۰/۰۳۲[a,b]
توئین	۲/۸۱ ± ۰/۰۹٦	۰/۷۵ ± ۰/۰۵۵	۱/۸۳ ± ۰/۰٦۷	۱/۷۳ ± ۰/۰۸

a و b به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین شدت درد در مقایسه با گروه کنترل و گروه مرفین ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم با $p<۰/۰۵$ در آزمون غیرپارامتریک Kruskal-Wallis و پس آزمون Dunn's Multiple Comparison می‌باشد.

مرحله درد حاد

بررسی نتایج درد القا شده به وسیله آزمون فرمالین در موش‌های سوری نشان داد که در ۵ دقیقه اول آزمون یا مرحله درد حاد از بین دوزهای مختلف عصاره درمنه فقط دوز ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم میانگین شدت درد را در مقایسه با گروه کنترل کاهش داده است (p< ۰/۰۰۰۱؛ جدول شماره ۱). در مقایسه با مرفین میانگین شدت درد در دوز ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم درمنه کمتر از مرفین ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود اما تفاوت آن معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵؛ جدول شماره ۱). در مقایسه با مرفین ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم شدت درد دوزهای ٤٠٠ و ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم کمتر از دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین بوده اما تفاوت آن معنی‌دار نبوده است (p>۰/۰۵؛ جدول شماره ۱).

مرحله درد مزمن

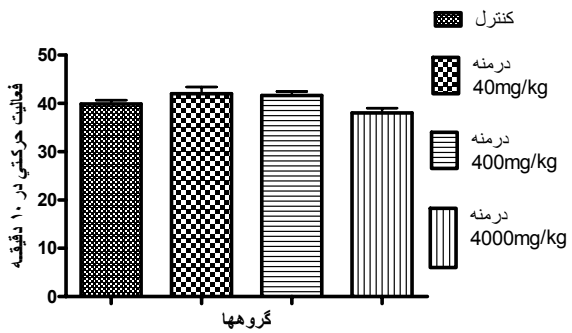
بررسی شدت درد گروه‌های مختلف در مرحله دوم آزمون در فاصله زمانی ٦٠ - ۲۰ دقیقه (مرحله درد مزمن) نشان داد که شدت درد دوزهای ٤٠٠٠ و ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه درمنه در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافته است (p<۰/۰۰۰۱ جدول شماره ۱). همچنین نتایج تحقیق نشان داد که میانگین شدت درد دوز ٤٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه از مرفین ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشتر بوده است (p<۰/۰۰۱)؛ در حالی‌که شدت درد دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه با مرفین ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری ندارد (p>۰/۰۵؛ جدول شماره ۱) ولی میانگین شدت درد دوز ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه درمنه کمتر از مرفین ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد (p<۰/۰۵).

مرحله بی‌دردی

در طول ۵ دقیقه دوم و سوم آزمون که شدت درد در پاسخ به فرمالین در همه گروه‌ها کاهش می‌یابد، در گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین و ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره درمنه این کاهش نسبت به گروه کنترل به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر بود (p<۰/۰۵ جدول شماره ۱)

مقایسه کلی شدت درد در طول یک‌ساعت آزمون فرمالین بین گروه‌های مختلف و با استفاده از آزمون Repeated Measure نشان داد که پاسخ به درد در طول زمان متفاوت و معنی‌دار است (p<۰/۰۰۰۱) که بیانگر روند معمول دو مرحله‌ای آزمون فرمالین می‌باشد (منحنی شماره ۱). همچنین با افزایش دوز درمنه از میزان شدت درد کاسته شده و کمترین میانگین شدت درد مربوط به دوز ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه درمنه می‌باشد (جدول شماره ۱). مقایسه میانگین کلی شدت درد در طول یک‌ساعت آزمون فرمالین بین گروه‌های مختلف نشان داد که میانگین شدت درد در دوزهای ٤٠٠٠ و ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه درمنه در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر بوده است (p< ۰/۰۰۰۱، جدول شماره ۱). همچنین در مقایسه با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین میزان میانگین شدت درد دوز ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه درمنه کمتر می‌باشد (p<۰/۰۵؛ جدول شماره ۱)، در حالی‌که میانگین شدت درد دوز ٤٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه درمنه بیشتر از دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین بوده (p<۰/۰۵، جدول شماره ۱)؛ و میانگین شدت درد دوز ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه درمنه برابر با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین می‌باشد (p>۰/۰۵؛ جدول شماره ۱).

برای اطلاع از اثر احتمالی تجویز عصاره بر فعالیت حرکتی حیوانات؛ آزمون سنجش حرکت در ۳ گروه دریافت کننده دوزهای ٤٠؛ ٤٠٠ و ٤٠٠٠ میلی‌گرم در ۱۰ میلی‌لیتر عصاره درمنه با گروه دریافت‌کننده حلال عصاره مورد مقایسه قرار گرفت که نتایج آن در نمودار شماره ۲ نمایش داده شده است. مقایسه آماری یافته‌های این آزمون با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین فعالیت حرکتی گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره با گروه کنترل وجود ندارد (p>۰/۰۵).



نمودار شماره ۲- مقایسه اثر تجویز دوزهای مختلف عصاره درمنه بر فعالیت حرکتی حیوانات در مقایسه با گروه کنترل دریافت‌کننده حلال عصاره (n=۸)

مقایسه آماری یافته‌های آزمون حرکت با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین فعالیت حرکتی گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره با گروه کنترل وجود ندارد (p>۰/۰۵، n=۸)

بحث

در این تحقیق اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف آبی – الکلی سرشاخه‌های گیاه درمنه دشتی یعنی دوزهای ٤٠٠٠، ٤٠٠ و ٤٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم با استفاده از آزمون فرمالین در مقایسه با گروه کنترل و دوزهای ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین در موش سوری بر درد نوروژنیک (حاد) و التهابی (مزمن) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش در طول یک ساعت آزمون فرمالین نشان داد که در ۵ دقیقه اول آزمون یا مرحله درد نوروژنیک تنها دوز ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه درمنه موجب کاهش قابل ملاحظه درد در مقایسه با گروه کنترل گردید که این اثر ضددردی کمتر از مرفین ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تقریباً برابر با مرفین ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است، در حالی‌که در مرحله درد التهابی دوزهای ٤٠٠٠، ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم درمنه اثر ضددردی قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه کنترل داشتند و این اثر ضددردی در مورد دوز ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور بارزی بیش از اثر ضددردی مرفین با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است. بنابراین به نظر می‌رسد که دوزهای استفاده شده این گیاه اثر ضددردی خود را در مرحله درد التهابی بیش از مرحله درد نوروژنیک اعمال کرده‌اند، این امر تایید کننده مصرف عصاره این گیاه به عنوان مسکن در دردهای التهابی درگذشته می‌باشد [۱۷ – ۱۲]. مرحله درد حاد آزمون فرمالین مربوط به تحریک مستقیم گیرنده‌های حس درد و انتقال پیام حس درد در مسیرهای عصبی بوده و به شدت تحت تاثیر داروهای موثر بر سیستم عصب مرکزی قرار می‌گیرد در حالی‌که درد مرحله التهابی ناشی از واکنش‌های التهاب‌زای فرمالین بوده و داروهای محدودکننده این واکنش‌ها موجب تسکین درد در این مرحله از آزمون فرمالین می‌شوند [٣٤]. تجزیه عصاره درمنه نشان می‌دهد که مواد مختلفی مانند سانتونین، کافور، الفا تیوجن، سینئولی، میرسین و ترکیبات الکلی نیز در اسانس آن وجود دارند [١٦،١٨،١٩،٢٠]. سانتونین اثر ضدانگلی داشته و به عنوان داروی کرم‌کش مصرف می‌شود [۱۷]. اما با توجه به اثر ضددردی عصاره این گیاه مخصوصاً در مرحله التهابی یا مزمن به نظر می‌رسد این اثر مربوط به وجود ماده کافور باشد که در ترکیبات درمنه وجود داشته و اثر آن به طور محدود مورد مطالعه قرار گرفته است [۲۲ – ۱۹]. Marc Cohen و همکاران درسال ۲۰۰۳ در یک کارآزمایی بالینی دو سو کور نشان دادند که مصرف پماد تولید شده از چند ماده منجمله کندروئتین سولفات، گلوکوزامین سولفات و کافور باعث کاهش درد التهابی زانو شده است [۳۵]. از طرف دیگر Haoxing Xu و همکاران در تحقیقی که مقاله آن در سال ۲۰۰۵ در مجله نوروساینس چاپ شد گزارش کردند که کافور موجب غیرحساس شدن کانال‌های (TRPV1) در گیرنده‌های حس گرما و کاهش میزان پتانسیل مولد در آنها می‌شود. آنها همچنین نشان دادند که کافور با القا غیرحساس شدن گیرنده‌های TRPV1 و انسداد گیرنده‌های TRPA1 می‌تواند موجب بروز اثرات ضددردی این ماده شود [٣٦]. در سال ۲۰۰۵ Keiichi Nagata و همکاران گزارش کردند که

کانال‌های TRPA1 در گیرنده‌های حس درد به وسیله محرک‌های شیمیایی فعال می‌شوند. کانال‌های TRPA1 جزء اصلی دخیل در ایجاد دپولاریزاسیون گیرنده‌های حس درد در پاسخ به عوامل محرک محیطی و مواد دردزای اندوژن بوده و مسئول بروز دردهای التهابی هستند [۳۷]. همچنین در تحقیقی که توسط S. Bang و همکاران انجام و مقاله آن در سال ۲۰۰۷ در مجله اروپایی نوروساینس چاپ شد اثر گیرنده‌های TRPA1 با میانجی‌گری استالدهید بر احساس درد مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که تزریق آنتاگونیست‌های این کانال نظیرکافور موجب تضعیف عملکرد این کانال‌ها شده و درد حاد ایجاد شده توسط تزریق استالدهید در کف پای حیوان را مهار می‌کند. گیرنده‌های کانالی TRPA1 مسؤول بروز واکنش‌های التهابی ناشی از مواد محرک محیطی و ایجاد دردهای التهابی هستند. از طرف دیگر مشخص شده است که کافور موجب مهار این کانال‌ها می‌شود. همچنین مشخص شده است که گیاه کافور که یکی از مهم‌ترین ترکیبات روغنی آن کافور است موجب مهار سنتز سیتوکاین‌ها، نیتریک اکساید و پروستاگلندین E2 شده و ازاین طریق اثرات ضدالتهابی خود را اعمال می‌کند [۳۸]. هرچند در سال‌های اخیر تحقیقات پراکنده‌ای در مورد اثرات ضددردی کافور که ماده تشکیل‌دهنده عصاره درمنه نیز می‌باشد انجام شده است، اما این مطالعات کافی نبوده و نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

نتیجه‌گیری: به طور کلی یافته این پژوهش مؤید اثر ضددردی عصاره درمنه در آزمون فرمالین در موش سوری می‌باشد که با توجه به بارزتر بودن این اثر در مرحله درد مزمن، ممکن است بر اثر وجود عوامل ضدالتهاب در عصاره این گیاه باشد که نیاز به تحقیق بیشتری دارد.

پیشنهادات: انجام تحقیقات بیشتر در زمینه اثر ضددردی عصاره گیاه درمنه با استفاده از سایر آزمون‌های سنجش درد مانند آزمون تیل فلیک و نیز تعیین دوز موثر آن ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد انجام شده است که از زحمات و حمایت‌های آن معاونت محترم قدردانی می‌نماییم. همچنین از زحمات سرکار خانم اشرف‌السادات سلامی کارشناس محترم گروه فیزیولوژی قدردانی می‌شود.

منابع

1. Ganong WF. Review of Medical Physiology. Twenty second edition, Lange medical book.USA. 2005, pp: 142 - 7.

2. Lemke KA. Understanding the pathophysiology of perioperative pain. *Can. Vet. J*. 2004; 45 (5): 405 – 13.

3. Dorland WA. Dorland's Illustrated Medical Dictionary. 30th edition, Saunders. Philadelphia. 2003, pp: 1351.

4. Shipton EA and Tait B. Flagging the pain: preventing the burden of chronic pain by identifying and treating risk factors in acute pain. *Eur. J. Anaesthesiol.* 2005; 22 (6): 405 – 12.

5. Merskey H. Logic, truth and language in concepts of pain. *Qual. Life Res.* 1994; 3 (1): 69 – 76.

6. Chelminski PR, Ives TJ, Felix KM and Prakken SD. A primary care, multi-disciplinary disease management program for opioid-treated patients with chronic non-cancer pain and a high burden of psychiatric comorbidity. *BMC Health Serv. Res*. 2005, 5: 3.

7. Kessler RC, Davis RB and Foster DF. Long term trends in the use of comlementary and alternative in the use of complementary and alternative medical therapies in the Unated States. *Ann. Inten. Med*. 2001; 135: 62 - 8.

8. Katzung BG: Basic & Clinical Pharmacology. Tenth Edition, by the McGraw-Hill Companies, USA. 2007, 31; pp: 478 - 488.

9. Khorsand M. Antagonistic reactions of analgesic, antipyretic and anti-inflammatory drugs. Khajah press, Tehran, 1981, pp: 5 - 16.

10. Wichti M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals Translated by: Bisset NG, Boca Roton: CRC press. 1994, pp: 292 - 4.

11. Mills S. The Essential Book of Herbal Medicine. 2nd ed. London, England: Penguin Books Ltd, 1993, p: 677.

12. Mir Heidar H. Encyclopedia of Plants, vol. 1, Islamic Culture Press. Tehran, 1994, p: 24.

13. Mozaffari V. Dictionary of Iranian Plants Names. Current culture press. Tehran, 1996, p: 58.

14. Zargari A. Pharmaceutical Plants. Volume 3, Tehran university press, 1989, p: 97.

15. Aynehchi Y. Pharmacognosy and Medicinal Plant of Iran. Tehran University Publication, Tehran, 1986, p: 1039.

16. Bagheri R, Chaichi M, Mohseni-Sarvi GR, and Zahedi GR. Grazing affects essential oil Composition of *Artemisia Sieberi besser*. *Pakistan J. Biol. Sci*. 2007; 10 (5): 810 - 3.

17. Shafizadeh F. Popular medicinal plants of Lorestan (Flora of Lorestan). Volume 1, Hayyan press, 2002, p: 82.

18. Behmanesh B, Heshmati GA, Mazandarani M, Reazei MB, Ahmadi AR, Ghaemi EO and Bakhshandeh Nosrat S. Chemical composition and Antibacterial Activity from Essential Oil of *Artemisia sieberi Besser* subsp. Sieberi in North of Iran. *Asian J. Plant Sci*. 2007; 6 (3): 562 - 4.

19. Negahban M, Moharramipour S and Sefidkon F. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia Sieberi Besser* against three stored-product insects. *J. Stored Prod. Res*. 2007; 43 (2): 123 - 8.

20. Romano TJ and Stiller JW. Usefulness of topical methyl salicylate, camphor, and menthol lotion in relieving pain in fibromyalgia syndrome patients. *Am. J. Pain Management*. 1994, 4: 172-174.

21. Mulatu A. Spasmolytic effects of artemisia afra and artemisia rehan in tissue preparations. *Ethiopian Med. J.* 2007; 45 (4): 371 - 6.

22. Mansourghanati F, cigarodi S, Mobasheri HR and Jalli MA. The effect of *Artemisia sieberi Besser* extract on asthmatic patient. *Feyz* 2003; 7 (1): 60 - 3.

23. Balouchnezhad Mojarad T, Roughani M and Sadeghi Mahali F. The role of nitric oxide and intracellular stores of calcium in the protective effect of artemisia annua aqueous extract on the contractile response of aortic rings to a1-adrenoceptor agonist in diabetic rats. *Scientific J. H.U.M.S*. 2007; 13 (4 (SN 42): 32 - 8.

24. Mahboubi M, Feizabadi MM and Safara M. Antifungal activity of essential oils from Zataria multiflora, Rosmarinus officinalis, Lavandula stoechas, *Artemisia sieberi Besser* and Pelargonium graveolens against clinical isolates of Candida albicans. *Pharmacognosy Mag.* 2008; 4 15 (Supp l): 15 - 18.

25. Kamal Mansi and Jamil Lahham Effects OF *Artemisia sieberi Besser* (A. herba-alba) on Heart Rate and some hematological values in normal and alloxan-induced diabetic RATS. *J. Basic App. Sci.* 2008; 4 (2): 57 - 62.

26. Dashti-Rahmatabadi MH, Hejazian SH, Morshedi A, Rafati A. The analgesic effect of Carum copticum extract and morphine on phasic pain in mice. *J. Ethnopharmacol.* 2007; 109 (2): 226 - 8.

27. Hejazian SH and Mosaddegh MH. Does Essential Oil from Carum Copticum Extract Have Effects on Mu Opioid Receptors? *World Applied Sci. J.* 2008, 3 (2): 227 - 30.

28. Hejazian SH, Mosaddegh MH and Dashti-Rahmatabadi MH. Antinociceptive Effects of Carum Copticum Extract in Mice Using Formalin Test. *World Applied Sci. J.* 2008, 3 (2): 215 - 9.

29. Gordon Ko, Hum A and Traitses G. Do Topical Herbal Agents Provide Pain Relief? A Randomized Controlled Trial. *Arch. Phys. Med. Rehab*. 2006; 87 (11): e36 - e37.

30. Sadeghifard H and Zareian P. The study of analgesic effect of hydroalcoholic extract of Artemisia herba alba in acute and chronic models of pain in male rats *Sci. J. Kurdistan Univ. Med. Sci*. 2009; 13 (4): 30 – 6.

31. Wu HE, Hung KC, Mizoguchi H, Nagase H and Tseng LF. Roles of Endogenous Opioid Peptides in Modulation of Nociceptive Response to Formalin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002; 300 (2): 647 - 54.

32. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitive study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain system stimulation in rats and cats. *Pain* 1977; 4: 161 - 74.

33. Joyce A. DeLeo. Basic Science of Pain. *The Journal of Bone and Joint Surgery* (American). 2006; 88: 58 - 62.

34. Raie H, Kesmati M and Zadkarami M. Interaction between sex hormones and matricaria chamomilla hydroalcholic extract on motor activity behavior in gonadectomized male and female mice. *Sci. J. Kurdistan Univ. Med. Sci*. 2006; 13 (1 (SN39): 48 - 57.

35. Cohen M, Wolfe R, Mai T and Lewis D. A Randomized, Double Blind, Placebo Controlled Trial of a Topical Cream Containing Glucosamine Sulfate, Chondroitin Sulfate, and Camphor for Osteoarthritis of the Knee. *J. Rheumatol*. 2003; 30: 523 - 8.

36. Haoxing Xu, Nathaniel T. Blair and David E. Clapham. Camphor Activates and Strongly Desensitizes the Transient Receptor Potential Vanilloid Subtype 1 Channel in a Vanilloid-Independent Mechanism. *J. Neurosci*, 28, 2005; 25 (39): 8924 - 37.

37. Nagata K, Duggan A, Kumar G, and García-Añoveros J. Nociceptor and Hair Cell Transducer Properties of TRPA1, a Channel for Pain and Hearing. *J. Neurosci*. 2005; 25 (16): 4052 - 6.

38. Bang S, Kim KY, Yoo S, Kim YG and Hwang SW. Transient receptor potential A1 mediates acetaldehyde-evoked pain sensation. *Eur. J. Neurosci*. 2007; 26 (9): 2516 - 23.