

Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of *Iris songarica* Schrenk Rhizome Ethanolic Extract in Mice

Abolfazl Ahani¹, Mohammadmehdi Hassanzadeh-Taheri², Mehran Hosseini³, Mohammad Hassanpour-Fard^{4*}

1. General Practitioner, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
2. Associate Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
3. BSc in Public Health, Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
4. Associate Professor, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

Received: 17 Jun 2017, Accepted: 24 Sep 2017

Abstract

Background: The rhizome of *Iris songarica* Scherenk has been prescribed as anodyne in Persian traditional medicine system. However, its effects have never been investigated experimentally. Thus, the present study was designed to evaluate the antinociceptive and anti-inflammatory effects of alcoholic extract of *Iris songarica* Scherenk rhizome in mice.

Material and Methods: In this experimental study, adult male balb/c mice were used. 40 animals were allocated into five equal groups (control, morphine 5mg/kg, the extracts at doses of 100, 200 and 300 mg.kg) and tested for antinociceptive evaluation via using hot-plate in 30,60 and 120 minutes after the investigations. Also, the other 36 mice were divided into six equal groups (no-inflammation control, inflammation model, dexamethasone 4 mg/kg and the extracts at doses of 100, 200 and 300 mg.kg) and evaluated for anti-inflammatory activity in xylene induced inflammation model. All the investigations were done via intraperitoneal injection. Data were analyzed using one-way ANOVA or Kruskal-Wallis tests in SPSS.

Results: Compared to the control group, the extract at the all doses could increase latency time in hot plate test at 30, 60 and 120 minutes after investigation ($p < 0.05$). This potential was comparable to morphine in the high doses or long time. In addition, the extracts at the all doses exhibited high anti-inflammatory activity which was comparable to dexamethasone ($p < 0.001$).

Conclusion: The results of present study clearly showed that *Iris songarica* Scherenk rhizome has antinociceptive and anti-inflammatory activities in mice.

Keywords: Antiinflammatory activity, Antinociceptive activity, *Iris songarica* Scherenk, Rhizome

*Corresponding Author:

Address: Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
E-mail: mhassanpour61@yahoo.com.

اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره الکلی ریزوم زنبق بیابانی (*Iris songarcia Schrenk*) در موش کوچک آزمایشگاهی

ابوالفضل آهنی^۱، محمد مهدی حسن زاده طاهری^۲، مهران حسینی^۳، محمد حسن پور فرد^{۴*}

۱. پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.
۲. دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.
۳. کارشناس بهداشت عمومی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.
۴. دانشیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۷، تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۲

چکیده

زمینه و هدف: ریشه زنبق بیابانی در طب سنتی به عنوان مسکن توصیه می شود. با این وجود، تاکنون اثرات آن مورد ارزیابی علمی قرار نگرفته است. بنابراین، مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره الکلی ریزوم زنبق در موش آزمایشگاهی طراحی گردید.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی از موش های نر نژاد بـالـب-سی استفاده شد. ۴۰ سر موش به پنج گروه مساوی تقسیم شده (کنترل، مورفین ۵ میلی گرم بر کیلوگرم، عصاره در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰، ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و با آزمون هات پلیت در زمان های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از دریافت مداخلات مورد ارزیابی قرار گرفتند. علاوه بر این، ۳۶ موش دیگر به شش گروه مساوی تقسیم (کنترل بدون ایجاد التهاب، مدل التهاب، دگزا متازون ۵ میلی گرم بر کیلوگرم، عصاره در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰، ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و با آزمون ایجاد التهاب توسط گزیل بررسی شدند. تمام مداخلات به صورت تزریق درون صفاقی انجام شد. داده ها با آزمون های آماری تحلیل واریانس یک طرفه یا کروسکال والیس و به کمک نرم افزار آماری SPSS تحلیل شدند.

یافته ها: در قیاس با گروه کنترل، عصاره در تمام دوزها به طور معنی داری زمان پاسخ به محرک حرارتی را افزایش داد ($p < 0.05$). این توانایی در دوزهای بالا و یا زمان بیشتر با مورفین برابر بود. همچنین عصاره در تمام دوزها، مشابه داروی دگزامتازون، به طور معنی داری ($p < 0.001$) سبب کاهش التهاب در موش ها گردید.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه به طور آشکار نشان داد که ریزوم زنبق بیابانی خواص ضد دردی و ضد التهابی در موش کوچک آزمایشگاهی دارد.

واژگان کلیدی: فعالیت ضد دردی، فعالیت ضد التهابی، زنبق بیابانی، ریزوم

*نویسنده مسئول: ایران، بیرجند، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی

E-mail: mhassanpour61@yahoo.com

مقدمه

درد یکی از متداول‌ترین و شناخته شده‌ترین عوارضی است که همواره اندیشه و ذهن جامعه‌ی پزشکی را به خود مشغول داشته است. هر کس در زندگی خود به گونه‌ای با درد مواجه بوده است و بر اساس خاطرات و تجربه‌های خویش از درد سخن گفته و آن را تعریف می‌کند. در فیزیولوژی طبیعت انسان هنگامی که بافتی دچار آسیب می‌شود، درد به وجود می‌آید و شخص در مقابل آن از خود واکنش نشان داده و تلاش می‌کند محرک درد را از میان بر دارد. در حقیقت درد پاسخ پاتوفیزیولوژیک از بافت زنده به محرک‌های نامطلوب است که به عنوان محافظ بدن در برابر آسیب بافت به کار می‌رود (۱). شواهد نشان می‌دهند که سالانه حدود ۱۰۰ میلیون نفر در ایالات متحده آمریکا تجربه درد را گزارش نموده‌اند که هزینه‌های مستقیم و غیر مستقیم آن بیش از ۶۳۵ میلیارد دلار برآورد می‌شود (۲). از جمله درد‌های شایع می‌توان به استئو آرتريت، کمر درد، سردرد و درد‌های نوروپاتی اشاره نمود (۲). امروزه از روش‌های مختلفی برای تسکین درد استفاده می‌شود که می‌توان به استفاده مخدرها، داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی (NSAID)، ضدافسردگی‌ها (مثل آمی‌تریپتیلین)، ضد تشنج‌ها (مثل گاباپنتین)، آناگونیست‌های گیرنده‌ان‌متیل‌دی‌آسپاراتات (مثل کتامین)، تثبیت‌کننده‌های غشای سلولی (مثل لیدوکائین) و آلفا ۲ آگونیست‌ها (مثل کلونیدین و دکسمتومیدین) اشاره نمود (۳) که تأثیرات ضددردی آن‌ها از طریق گیرنده‌های متفاوت اعمال می‌شود که مهم‌ترین آن‌ها ضددرد‌های مخدری، هیستامینرژیک و کولینرژیک می‌باشند که در سطح قشر مغز، ساقه مغز و در نخاع موجب مهار درد می‌گردند (۴). استفاده از این داروها مشکلاتی مانند مقاومت به دارو، وابستگی، سرخوشی و ... ایجاد می‌کند (۵). مصرف طولانی مدت داروهای ضد درد مخدری موجب اعتیاد بدنی و روانی، تاری دید، تهوع، استفراغ، یبوست، حساسیت زیاد به درد، سفتی عضلات، میوکلونوس، کاهش سطح هورمون‌های

تستوسترون، استروژن، کورتیزول و هورمون لوئتینه‌کننده می‌شود (۶). از جمله عوارض شایع داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی می‌توان به تحریک گوارشی، آسیب به کلیه‌ها، افزایش فشار خون، نارسایی کلیه‌ها (چنانچه به صورت بی‌رویه و یا همراه با داروهای کاهنده فشارخون و ادرار آورها مصرف گردند) افزایش حساسیت به نور (به ویژه دیکلوفناک و پیروکسیکام) و آسیب به جنین و نوزاد اشاره نمود (۷). خواب‌آلودگی، منگی، سردرد، و اختلالات بینایی (پره‌گابالین) و ادم محیطی (گاباپنتین) نیز از عوارض شایع گاباپنتونوئیدها می‌باشند (۸). علی‌رغم وجود ترکیبات دارویی متعدد موثر در کنترل درد با اینحال بدلائیل گوناگون که مهم‌ترین آن نگرانی در خصوص عوارض جانبی مصرف این داروهاست، پزشکان و همچنین بیماران تمایل کمتری به مصرف ضد دردها و ضد التهاب‌های سنتتیک نشان می‌دهند. از طرفی، در سال‌های اخیر اقبال عمومی دانشمندان و مردم به ارزیابی و استفاده از مواد طبیعی نظیر گیاهان دارویی جهت امراض مختلف افزایش یافته است چنانچه افزایش واضح تعداد مقالات پزشکی در حوزه گیاهان دارویی و طب سنتی ایرانی موید صحت این ادعاست (۹). گیاه زنبق بیابانی با نام علمی *Iris songarica* Schrenk (تصویر ۱) متعلق به خانواده زنبقیان و دارای ریزوم یا بن‌پیازی شکل می‌باشد و حدود ۱۵۰ گونه از این جنس عمدتاً در مناطق معتدل شمالی جهان رشد می‌کنند و در بیشتر مناطق ایران نیز رویش دارد (۱۰).



تصویر ۱: گیاه زنبق بیابانی (*Iris songarica* Schrenk)، در فصل بهار (۳۰ فروردین ۱۳۹۶)، استان خراسان جنوبی، دشت مود (مختصات ۳۷ درجه و ۷۱ دقیقه عرض شمالی و ۵۹ درجه و ۴۹ دقیقه عرض شرقی).

حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه از موش های آزمایشگاهی نر بالغ از نژاد بلب-سی با سن ۸ هفته و در محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. در تمام مدت آزمایش حیوانات تحت شرایط استاندارد (دما ۲۴-۲۰ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۴۵-۴۰ درصد، دوره روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته) درون قفس های از جنس پلی اتیلن نگهداری شدند. در طول طرح موش ها دسترسی آزاد به غذای استاندارد حیوانات آزمایشگاهی (شرکت جوانه خراسان- مشهد) و آب شهری سالم داشتند. کلیه آزمایشات رفتاری در فاز روشنایی (از ساعت ۸ الی ۱۴) انجام گردید. روش کار با حیوانات مطابق شرح پیش رو به تایید کمیته اخلاق معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی بیرجند رسید (کد اخلاق: Ir.bums.1394.15).

آزمون درد هات پلنت

۴۰ سر موش کوچک آزمایشگاهی به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم و پس از توزین و کد بندی به صورت زیر تحت مطالعه قرار گرفتند:

گروه ۱ (کنترل منفی): دریافت کننده حلال (نرمال سالین) به صورت تزریق درون صفاقی

گروه ۲ (کنترل مثبت): دریافت کننده تک دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم سولفات مورفین به صورت تزریق درون صفاقی (۱۴)

گروه ۳ (IR۱۰۰): دریافت کننده دوز ۱۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی ریزوم زنبق بیابانی به صورت تزریق درون صفاقی

گروه ۴ (IR۲۰۰): دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی ریزوم زنبق بیابانی به صورت تزریق درون صفاقی

گروه ۵ (IR۳۰۰): دریافت کننده دوز ۳۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی ریزوم زنبق بیابانی به صورت تزریق درون صفاقی

در طب سنتی استفاده از ریزوم زنبق به طور موضعی برای ترمیم زخم و هم چنین ککک و مکک، برای تسکین درد دندان، ضد اسپاسم و ادرار آور توصیه شده است. نتایج مطالعات علمی انجام شده روی این گیاه اثراتی نظیر جلوگیری کننده رشد سلول های سرطانی، ضد انگلی، آنتی اکسیدانی و خواص ضد میکروبی را تبیین و تایید نموده اند (۱۱). با این وجود علی رغم این که در طب سنتی ریزوم گیاه جهت تسکین درد توصیه و استفاده می شده است تاکنون هیچ مطالعه ای اثرات ضد دردی و یا ضد التهابی آن را مورد بررسی قرار نداده است. از این رو، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات ضد دردی و ضد التهابی احتمالی ریزوم زنبق بیابانی در یک مدل حیوانی طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش ها

تهیه گیاه و عصاره گیری

در این مطالعه تجربی ریزوم گیاه زنبق در فصل تابستان از مناطق حومه شهر مود توسط گیاه شناس مجرب جمع آوری گردید. یک نمونه از آن در هر بار یوم گروه گیاه شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند نگهداری شد (کد هر بار یوم: ۵۲۰). ریزوم آن از گیاه اصلی جدا و در سایه خشک گردید و سپس توسط آسیاب پودر شد. پودر به دست آمده به نسبت ۱:۱۰ (وزنی/حجمی) با محلول الکل ۸۰ درصد به مدت یک شبانه روز در دمای اتاق و بر روی همزن مغناطیسی خیسانده شد. سپس محلول به دست آمده توسط کاغذ صافی واتمن گرید ۱، صاف شد (۱۲). در نهایت هر ۱۰ میلی لیتر از این محلول در یک پتری دیش ریخته شد و در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. ماده خشک به دست آمده جمع آوری و مورد استفاده قرار گرفت (۱۳). بازدهی عصاره دهی در این روش حدود ۶/۳ درصد بود، به عبارتی از ۱۰۰ گرم پودر ریشه زنبق بیابانی حدود ۶/۳ گرم عصاره خشک به دست آمد.

آغشته شد و گوش سمت چپ به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در گروه کنترل گوش راست موش ها با آب مقطر مواجهه یافت. یک ساعت بعد از استعمال گزیل حیوانات به روش قطع نخاع در پی بیهوشی با گاز CO₂ آسان کشی شده و از هر گوش نمونه‌ای به قطر ۵ میلی متر به کمک پانچ (کای مدیکال، ژاپن) از ناحیه یکسان برداشته شد و با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین گردید (سارتریوس، آلمان). اختلاف نمونه گوش چپ و راست محاسبه و میانگین آن در هر گروه به عنوان شاخص التهاب در نظر گرفته شد (۱۶).

تحلیل آماری

آمار توصیفی برای گروه های مورد مطالعه به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است. بررسی توزیع هر یک از متغیرها درون گروه ها با آزمون شاپیرو-ویلک انجام شد و نشان داد توزیع متغیرها در داده های مربوط به تست هات پلیت غیر نرمال و در داده های مربوط به تست التهاب نرمال بود. از این رو، جهت مقایسه میانگین زمان پاسخ به درد حرارتی در بین گروه ها در هر یک از زمان های اندازه گیری از آزمون کروسکال والیس و در صورت وجود اختلاف معنی دار از مقایسه دو به دوی گروه ها در خروجی این تست استفاده شد. جهت قیاس مقایسه میانگین تفاوت وزن گوش ها (تست التهاب) از آزمون آنوا استفاده شد و به دلیل برابر نبودن واریانس ها (تست لون) از تست تعقیبی دانت تی ۳ جهت مقایسه گروه ها استفاده شد. قابل ذکر است از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ با در نظر گرفتن ضریب اطمینان ۹۵ درصد آنالیزهای آماری موصوف انجام شد.

یافته‌ها

تست هات پلیت: در این پژوهش میانگین زمان پاسخ دهی به محرک حرارتی (هات پلیت) در زمان های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از دریافت مداخله در هر یک از گروه ها

حیوانات هر گروه در زمان های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق بر روی دستگاه هات پلیت که در دمای 55 ± 1 درجه سانتی گراد تنظیم شده بود، قرار داده شدند و زمان پاسخ به محرک حرارتی به دنبال تغییر رفتار (لیس زدن کف پا، پریدن، یا تکان دادن شدید پنجه) ثبت گردید. قابل ذکر است زمان ۳۰ ثانیه به عنوان نقطه برش این تست در نظر گرفته شد و موش هایی که بیش از این زمان بدون واکنش روی صفحه داغ ماندند وارد مطالعه نشدند. در هر مرحله (۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه) از هر موش سه مرتبه تست گرفته شد (۱۵).
آزمون التهاب

در این تست ۳۶ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر دیگر (نژاد بلب-سی و سن ۸ هفته) به طور تصادفی به ۶ گروه مساوی تقسیم شدند و بدین ترتیب مورد تیمار قرار گرفتند:

گروه کنترل (بدون ایجاد التهاب): دریافت کننده نرمال سالین به صورت درون صفاقی

گروه ۱ (مدل التهاب): دریافت کننده نرمال سالین به صورت درون صفاقی

گروه ۲ (کنترل مثبت): دریافت کننده دوز ۴ میلی-گرم بر کیلوگرم دگزامتازون سولفات (سیگما، امریکا) حل شده در سالین به صورت درون صفاقی

گروه ۳ (IR۱۰۰): دریافت کننده دوز ۱۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی ریزوم زنبق بیابانی به صورت تزریق درون صفاقی

گروه ۴ (IR۲۰۰): دریافت کننده دوز ۲۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی ریزوم زنبق بیابانی به صورت تزریق درون صفاقی

گروه ۵ (IR۳۰۰): دریافت کننده دوز ۳۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی ریزوم زنبق بیابانی به صورت تزریق درون صفاقی

۳۰ دقیقه بعد از دریافت مداخلات، گوش راست تمامی حیوانات گروه های مورد مطالعه به جز گروه کنترل، با ۲۰ میکرولیتر گزیل (مرک، آلمان) از داخل و خارج

دار بود [IR₁₀₀ (p=0/002)، IR₂₀₀ (p<0/001) و IR₃₀₀ (p<0/001)].

مقایسه اثر ضد دردی دوزهای مختلف عصاره با مورفین یک ساعت پس از دریافت نشان داد که تفاوت معنی داری بین دوزهای 200 تا 300 میلی گرم بر کیلوگرم عصاره ریزوم زنبق با مورفین وجود نداشت (p=0/94، p=1/00) در حالی که هم‌چنان اثر ضد دردی دوز 100 میلی گرم بر کیلوگرم عصاره در قیاس با داروی مورفین به طور معنی داری (p=0/042) کمتر بود. مقایسه دوزهای مختلف زنبق تفاوت معنی داری را نشان نداد به نحوی که مقایسه اثر ضد دردی دوز 100 با دوز 200 (p=0/084) و دوز 300 (p=0/23) و هم‌چنین دوزهای 200 با 300 (p=0/59) تفاوت معنی داری را نشان نداد.

مقایسه میانگین مدت زمان پاسخ به درد 120 دقیقه بعد از مداخله نشان داد که تفاوت معنی داری (p<0/001) بین گروه‌ها وجود دارد. به این ترتیب که گروه کنترل به طور معنی داری در مدت زمان کوتاهی در مقایسه با گروه‌های دریافت کننده مورفین و دوزهای مختلف عصاره زنبق بیابانی (همگی p<0/001) به محرک حرارتی پاسخ داد.

مقایسه دوزهای مختلف گیاه با داروی مورفین نشان داد که تمام دوزهای IR₁₀₀ (p=0/21)، IR₂₀₀ (p=1/00) و IR₃₀₀ (p=1/00) میانگین زمان پاسخ مشابه این گروه داشتند. به عبارتی توانسته بودند آستانه پاسخ درد حرارتی را مشابه مورفین در موش‌ها افزایش دهند.

مقایسه دوزهای مختلف با یکدیگر نشان داد که دوز 100 در مقایسه با دوزهای 200 (p=0/019) و 300 (p=0/017) به طور معنی داری اثر ضد دردی کمتری داشت در حالی که تفاوت معنی داری بین دوزهای 200 و 300 وجود نداشت (p=0/97).

محاسبه و در هر یک از بازه‌های زمانی بین گروه‌ها مورد مقایسه قرار گرفت.

میانگین و انحراف معیار زمان پاسخ به درد در گروه‌ها و زمان‌های مختلف در قالب جدول 1 ارائه شده است. مقایسه میانگین زمان پاسخ به محرک حرارتی گروه‌های مورد مطالعه در 30 دقیقه پس از تزریق تفاوت معنی داری را بین گروه‌ها نشان داد (p<0/001). در 30 دقیقه نخست پس از مداخله گروه کنترل (بدون دریافت مداخله) کمترین زمان واکنش (2/4 ± 5/91 ثانیه) به محرک حرارتی و گروه دریافت کننده مورفین بیشترین زمان واکنش (3/34 ± 11/57) را در بین گروه‌های مورد مطالعه داشتند که این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود (p<0/001).

عصاره الکلی ریزوم زنبق در هر سه دوز توانست در مقایسه با گروه کنترل سبب افزایش معنی‌دار زمان واکنش به محرک حرارتی شود [IR₁₀₀ (p=0/018)، IR₂₀₀ (p=0/005) و IR₃₀₀ (p<0/001)]. با اینحال تنها دوز 300 عصاره در مقایسه با گروه دریافت کننده مورفین اثر ضد دردی مشابه این گروه را نشان داد [IR₁₀₀ (p=0/007) و IR₂₀₀ (p=0/024) و IR₃₀₀ (p=0/29)].

مقایسه دوزهای مختلف زنبق نشان داد که در 30 دقیقه نخست تفاوت معنی داری بین آن‌ها وجود نداشت به نحوی که مقایسه زمان پاسخ به محرک درد حرارتی بین دوزهای 100 با 200 (p=0/97)، 100 با 300 (p=0/62) و دوزهای 200 و 300 (p=0/25) اختلاف معنی داری را نشان نداد. مقایسه زمان پاسخ به درد حرارتی گروه‌های مختلف 60 دقیقه بعد از دریافت مداخله نیز تفاوت معنی داری را بین گروه‌ها نشان داد (p<0/001).

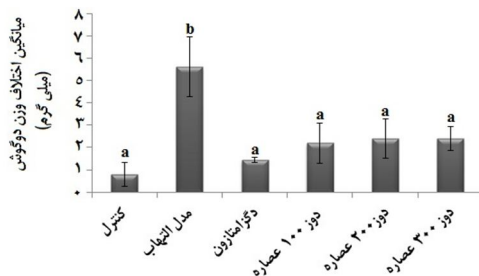
عصاره ریزوم زنبق در هر سه دوز توانست به طور معنی داری زمان پاسخ به محرک حرارتی را در موش‌ها افزایش دهد که این افزایش در مقایسه با گروه کنترل معنی

جدول ۱: بررسی اثرات ضد دردی عصاره الکی ریزوم زنبق در تست هات پلیت

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار مدت زمان پاسخ به محرک حرارتی در ثانیه		
	۳۰ دقیقه بعد از تزریق	۶۰ دقیقه بعد از تزریق	۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق
کنترل	۵/۹۱ ± ۲/۴۰ ^a	۵/۰۴ ± ۱/۷۲ ^a	۴/۱۳ ± ۳/۲۹ ^a
سولفات مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم)	۱۱/۵۷ ± ۳/۳۴ ^b	۱۰/۵۷ ± ۳/۰۶ ^b	۹/۹۶ ± ۳/۴۱ ^b
عصاره الکی ریزوم زنبق (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	۸/۶۴ ± ۲/۷۶ ^c	۸/۱۱ ± ۲/۷۹ ^c	۷/۷۲ ± ۳/۲۲ ^{b,c}
عصاره الکی ریزوم زنبق (۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	۸/۹۱ ± ۳/۰۸ ^c	۱۰/۰۰ ± ۳/۲۲ ^{b,c}	۱۰/۲۹ ± ۳/۵۷ ^b
عصاره الکی ریزوم زنبق (۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	۹/۹۱ ± ۲/۷۵ ^{b,c}	۹/۴۱ ± ۳/۲۱ ^{b,c}	۹/۵۶ ± ۲/۴۱ ^b

مقادیر به صورت انحراف معیار \pm میانگین برای هر گروه ارائه شده است. (a, b, c) حروف مشابه در هر ستون نشان گر عدم اختلاف و حروف غیر مشابه نشان گر وجود تفاوت معنی دار ($p < 0/05$) می باشد.

تست گزیل: نتایج بررسی اثرات ضد التهابی در قالب نمودار ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که میانگین اختلاف وزن در گوش های حیوانات گروه مدل التهاب (۵/۶ ± ۱/۳۴ میلی گرم) به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل (۰/۸۰ ± ۰/۵۴ میلی گرم) افزایش یافته بود که این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود ($p = 0/005$). میانگین اختلاف وزن گوش ها در گروه دریافت کننده دگزامتازون (کنترل مثبت) به طور معنی داری کمتر از گروه مدل التهاب بود ($p = 0/005$, $0/14 \pm 1/44$) و تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشت ($p = 0/109$). مقایسه میانگین اختلاف وزن گوش ها در گروه های دریافت کننده عصاره ریزوم زنبق بیابانی با گروه کنترل نشان داد که در تمام این گروه ها عصاره توانسته بود بطور موثری سبب مهار التهاب گردد به صورتی که میانگین اختلاف وزن گوش ها در گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰ زنبق بیابانی ($0/90 \pm 2/20$, $p = 0/044$), دوز ۲۰۰ زنبق بیابانی ($0/89 \pm 2/40$, $p = 0/042$) و دوز ۳۰۰ زنبق بیابانی ($0/54 \pm 2/40$, $p = 0/041$) بطور معنی داری کمتر از گروه کنترل بود. مقایسه دوزهای مختلف زنبق بیابانی با یکدیگر تفاوت معنی داری را نشان نداد ($p < 0/05$). مقایسه اثر ضد التهابی عصاره ریشه زنبق بیابانی با داروی دگزامتازون نشان داد در گروه دریافت کننده دگزامتازون کمترین اختلاف وزن بین گوش های حیوانات وجود داشت، اما مقایسه میانگین آن با ارقام متناظر آن در گروه های دریافت کننده دوزهای ۱۰۰



نمودار ۱: بررسی اثرات ضد التهابی عصاره الکی ریزوم زنبق بیابانی با استفاده از تست گزیل. (a, b) حروف مشابه نشان گر عدم اختلاف و حروف غیر مشابه نشان گر وجود تفاوت معنی دار ($p < 0/05$) می باشد.

بحث

در این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره الکی ریزوم زنبق بیابانی دوزهای ۱۰۰ تا ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره مذکور به صورت تزریق درون صفاقی به موش های کوچک آزمایشگاهی تلقیح شد و آستانه درک درد حرارتی در آن ها با استفاده از تست هات پلیت و اثر ضد التهابی آن با آزمون گزیل مورد سنجش و محاسبه قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره ریزوم زنبق بیابانی سبب افزایش آستانه ادراک درد حرارتی می شود. بدین ترتیب که در ۳۰ دقیقه بعد از دریافت عصاره در تمام

دوزها میانگین زمان درک درد حرارتی به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود و تا دو ساعت بعد از دریافت نیز این اثر ادامه داشت. از طرفی در قیاس با اثر ضد دردی مورفین، پس از نیم ساعت دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، پس از یک ساعت دوزهای ۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و در دو ساعت پس از دریافت مداخلات، تمام دوزهای مورد داخله اثر ضد دردی معادل مورفین را نشان دادند. نتایج ارزیابی اثرات ضد التهابی نیز نشان داد که ریزوم زنبق بیابانی در مدت زمان یک ساعت بعد از مداخله در تمامی دوزها و به طور معنی داری سبب کاهش التهاب گوش، ایجاد شده توسط گزلبل گردید. از این رو به نظر می رسد اثر ضد التهابی آن به مراتب بیشتر از اثر ضد دردی باشد چراکه تفاوتی در دوزها وجود نداشت و این بدین معنی است که در حداقل دوز استفاده شده نیز غلظت مواد موثره آن در خون فراتر از آستانه اثر بوده است. در بررسی منابع موجود، پژوهشی که اثرات ضد دردی گیاه زنبق را مورد ارزیابی قرار داده باشد، یافت نشد. اما بررسی اثرات مواد تشکیل دهنده اختصاصی ریشه زنبق می تواند چرایی نتایج یافته های این مطالعه را تبیین نماید. در مطالعه فیتوشیمی که توسط آیت اللهی و همکاران در سال ۲۰۰۴ برای نخستین بار بر روی ترکیبات موجود در ریزوم زنبق بیابانی صورت گرفت، دو ایزوفلاونوئید اختصاصی *Irisone B* و *Irlin A* شناسایی و گزارش گردیدند (۱۷). در مطالعه دیگری که توسط معین و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام گرفته است، علاوه بر دو ترکیب یاد شده، وجود یک دی هیدروفلانول به نام *Songarical* در ریزوم این گیاه گزارش شده است (۱۸). در خصوص ایزوفلاونوئیدها که یک دسته از فلاونوئیدها می باشند، خاصیت ضد التهابی یکی از اثرات محرز شده آن ها به شمار می رود که در مطالعات گوناگون به تایید رسیده است. به عنوان مثال در مطالعه رحمان و همکاران در سال ۲۰۰۳ اثرات ضد التهابی ۹ ایزوفلاونوئید استخراج شده از ریزوم *Iris germanica* که گونه دیگری از جنس زنبق می باشد و در کشور ترکیه رویش دارد، مورد

ارزیابی قرار گرفته است و نتایج تحقیقات آن ها نشان داده است که ۷ ایزوفلاونوئید استخراج شده از گیاه مذکور اثرات ضد التهابی قویتر از ایندومتاسین و آسپرین داشته اند (۱۹). اخیراً در مطالعات متعدد نشان داده شده است که ایزوفلاونوئیدها در درمان بسیاری از بیماری های مزمن که التهاب در پاتوژن آن ها نقش اساسی دارد، با داشتن اثر ضد التهابی می توانند اثرات سودمندی داشته باشند (۲۰). اگرچه در بسیاری از موارد اثرات آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها و ایزوفلاونوئیدها به عنوان مکانیسم اثر آن ها برای خواص گوناگون معرفی شده است (۳)، اما مطالعات مولکولی نشان داده اند که مسیرهای سلولی گوناگونی می توانند سبب القای خاصیت ضد التهابی شوند که در این میان ایزوفلاونوئیدهای گیاهی مختلف با داشتن اثر تنظیمی بر فاکتور هسته ای کاپا (NF- κ B) و کاهش فعالیت تولید آنزیم و سیتوکاین های پیش التهابی سبب القای اثر ضد التهابی می شوند (۲۱). ایزوفلاونوئیدها با داشتن اثر بر شماری از مسیرهای سیگنالینگ سلولی به صورت اختصاصی سبب مهار التهاب می شوند. بدین ترتیب که با فعال کردن پروتئین کیناز فعال شونده توسط آدنوزین مونوفسفات (AMPK)، پروتئین کیناز سی (PKC) و پروتئین کیناز فعال شونده توسط میتوزن (MAPK) سبب تنظیم ظرفیت باند شدن DNA با فاکتورهای رونویسی نظیر NF- κ B که یکی از مهم ترین فاکتورهای اثر گذار در التهاب و ایمنی است، می گردند (۲۲-۲۴). در مطالعه کیم و همکاران، مداخله با دیادزین که یک ایزوفلاونوئید شناخته شده است، سبب مهار فعالیت NF- κ B شد (۲۵). مکانیسم ضد التهابی شناخته شده دیگری که ایزوفلاونوئیدها از طریق آن سبب کاهش التهاب می شوند، مهار تولید سیتوکاین ها و کموکاین های پیش التهابی نظیر اینترلوکین ها و فاکتور نکروز دهنده تومری آلفا (TNF- α) می باشد (۲۶). یکی از ایزوفلاونوئیدهای موجود در گیاهان خانواده زنبق *Irisflorentin* می باشد که در مطالعه ای که توسط گائو و همکاران در سال ۲۰۱۴ منتشر گردید، سبب کاهش بیان

حیوانات، مورد آزمایش قرار نگرفت. حال که اثر ضد دردی و ضد التهابی این عصاره گیاهی مشخص گردیده است، پیشنهاد می‌شود این مهم در پژوهش‌های آتی مد نظر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه اولیه نشان می‌دهند ایزوفلاونوئیدهای موجود در ریزوم زنبق بیابانی دارای خواص ضد التهاب و ضد درد قابل ملاحظه‌ای می‌باشند و این گیاه می‌تواند جهت استخراج مواد موثره به منظور تبیین مکانیسم‌های ضد دردی دقیق در پژوهش‌های آتی مد نظر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از یافته‌های پایان نامه دوره دکتری عمومی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند (کد: ۷۵۷)، آقای ابوالفضل آهنی می‌باشد. بدین وسیله از جناب آقای مهندس محسن پویان، پژوهش‌گر پیشکسوت حوزه گیاهان دارویی که در تشخیص گیاه شناسی و جمع‌آوری نمونه با ما همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمائیم. از همکاران مرکز تحقیقات طب تجربی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند که امکانات اجرای این پژوهش را فراهم نمودند نیز قدردانی می‌شود.

منابع

1. Soumaya K-J, Dhekra M, Fadwa C, Zied G, Ilef L, Kamel G, et al. Pharmacological, antioxidant, genotoxic studies and modulation of rat splenocyte functions by *Cyperus rotundus* extracts. *BMC Complement Altern Med*. 2013;13:1.
2. Argoff CE, Viscusi ER. The use of opioid analgesics for chronic pain: minimizing the risk for harm. *Am J Gastroenterol Suppl*. 2014; 2:3-8.

اینترلوکین‌های ۱ بتا و اینترلوکین ۶ و هم‌چنین فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا گردید (۲۷). به طور کلی در فرآیند ایجاد یک پاسخ التهابی در سطح سلولی، فسفولیپاز A2 سبب تولید آراشیدونیک اسید از غشای پلاسمایی شده که بوسیله آنزیم‌هایی نظیر سیکلواکسیژناز (COX) و لیپواکسیژناز (LOX) به پروستاگلاندین، لکوترین‌ها و ترومبوکسان متابولیزه می‌شود. محصولات متابولیسم آراشیدونیک اسید واسطه‌های اصلی ایجاد التهاب می‌باشند (۲۸). ایزوفلاونوئیدها با مهار بیان آنزیم‌های COX و LOX نشان داده‌اند که می‌توانند سبب القای خاصیت ضد التهابی گردند (۲۰، ۲۲).

همان‌طور که پیشتر اشاره شد، ریزوم زنبق بیابانی علاوه بر ایزوفلاونوئیدها که اثرات ضد التهابی مشاهده شده، به نظر می‌رسد به دلیل وجود آن‌ها باشد، دارای ۷ ترکیب فلاونوئیدی شناخته شده و یک ترکیب فلاونوئیدی اختصاصی (Songarical) می‌باشد. یافته‌های تحقیقات بیشتر در زمینه گیاه شیمی نشان داده‌اند که فلاونوئیدهای ریشه زنبق بیابانی دارای خواص فیتواستروژنیک می‌باشند (۱۸). در شکل‌گیری پاسخ درد میانجی‌گرهای متعددی چون پروستاگلاندین‌ها، سایتوکاین‌ها، هیستامین، سروتونین، ماده P (P substance)، کپسایسین و نیتریک اکساید دخیل هستند. مطالعات مختلف که به ارزیابی اثرات ضد دردی ترکیبات گیاهی پرداخته‌اند، نشان داده‌اند که فلاونوئیدها و به‌خصوص فلاونوئیدهای با خواص فیتواستروژنیک می‌توانند با کنترل عملکرد یک یا چند میانجی‌گر درد سبب مهار آن شوند هم‌چنین شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهند برخی فلاونوئیدها با داشتن اثر بر روی گیرنده‌های گابا A می‌توانند سبب تسکین درد شوند (۲۹). احتمال می‌رود بخشی از خواص ضد درد این گیاه به دلیل خواص ضد التهابی آن نیز باشد که به تفصیل مورد بحث قرار گرفت.

یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های این طرح عدم تعیین مسیر ضد دردی می‌باشد که به دلیل مجهول بودن داشتن یا نداشتن اثر ضد دردی و استفاده از کمترین تعداد

- Department of Veterans Affairs medical system and standard reference compendia. Clin Pharmacol Ther. 2010;87:48-51.
4. Xiao Y, Lei J, Ye G, Xu H, You H-J. Role of thalamic nuclei in the modulation of Fos expression within the cerebral cortex during hypertonic saline-induced muscle nociception. Neuroscience. 2015;304:36-46.
 5. Charkhpour M, Parvizpour A, Ebrahimi F, Izadpanah E, Hasanzadeh K. [Evaluation of the effect of intra cerebroventricular administration of CCPA on reduction of tolerance to the analgesic effect of morphine in rat]. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2011;15:1-9.
 6. Ricardo Buenaventura M, Rajive Adlaka M, Nalini Sehgal M. Opioid complications and side effects. Pain physician. 2008;1:1.
 7. Stevenson DD. Diagnosis, prevention, and treatment of adverse reactions to aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. J Allergy Clin Immunol. 1984;74:617-22.
 8. Schmidt PC, Ruchinelli G, Mackey SC, Carroll IR. Perioperative Gabapentinoids: Choice of Agent, Dose, Timing, and Effects on Chronic Postsurgical Pain. Survey of Anesthesiology. 2014;58:96-7.
 9. Moeini R, Gorji N, Ghods R, Mozaffarpur SA. [Evaluation published documents of persian traditional medicine in Pubmed by the end of 2015]. JBUMS. 2017;19:21-6.
 10. Başer KH, Demirci B, Orhan IE, Kartal M, Sekeroglu N, Sener B. Composition of volatiles from three Iris species of Turkey. J Essent Oil Res. 2011;23:66-71.
 11. Wang H, Cui Y, Zhao C. Flavonoids of the genus Iris (Iridaceae). Mini reviews in medicinal chemistry. 2010;10:643-61.
 12. Ghravani Z, Hosseini M, Hassanzadeh Taheri MM, Fard MH, Abedini MR. Evaluation of hypoglycemic and hypolipidemic effects of internal septum of walnut fruit in alloxan-induced diabetic rats. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2016; 13:94-100.
 3. Olvey E, Clauschee S, Malone D. Comparison of critical drug-drug interaction listings: the 13. Fard MH, Naseh G, Lotfi N, Hosseini SM, Hosseini M. Effects of aqueous extract of turnip leaf (*Brassica rapa*) in alloxan-induced diabetic rats. Avicenna J Phytomed. 2015;5:148.
 14. Moniruzzaman M, Ferdous A, Irin S. Evaluation of antinociceptive effect of ethanol extract of *Hedyotis corymbosa* Linn. whole plant in mice. J Ethnopharmacol. 2015;161:82-5.
 15. Paudel KR, Das BP, Rauniar G, Sangraula H, Deo S, Bhattacharya S. Antinociceptive effect of amitriptyline in mice of acute pain models. Indian J Exp Biol. 2007;45:529-31.
 16. Li C-W, Wu X-L, Zhao X-N, Su Z-Q, Chen H-M, Wang X-F, et al. Anti-Inflammatory Property of the Ethanol Extract of the Root and Rhizome of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. ScientificWorldJournal. 2013;2013: 434151.
 17. Delazar A, Shoeb M, Kumarasamy Y, Byres M, Nahar L, Modarresi M, et al. Two isoflavones from *Iris songarica* Schrenk. DARU. 2004;12:54-7.
 18. Moein MR, Khan SI, Ali Z, Ayatollahi SA, Kobarfard F, Nasim S, et al. Flavonoids from *Iris songarica* and their Antioxidant and Estrogenic Activity. Planta med. 2008;74:1492-5.
 19. Rahman A-u, Nasim S, Baig I, Jalil S, Orhan I, Sener B, et al. Anti-inflammatory isoflavonoids from the rhizomes of *Iris germanica*. J Ethnopharmacol. 2003;86:177-80.
 20. Yu J, Bi X, Yu B, Chen D. Isoflavones: Anti-Inflammatory Benefit and Possible Caveats. Nutrients. 2016;8:361.
 21. Gomes A, Fernandes E, Lima JL, Mira L, Corvo ML. Molecular mechanisms of anti-inflammatory activity mediated by flavonoids. Curr Med Chem. 2008;15:1586-605.
 22. Ji G, Zhang Y, Yang Q, Cheng S, Hao J, Zhao X, et al. Genistein suppresses LPS-induced inflammatory response through inhibiting NF- κ B following AMP kinase activation in RAW 264.7 macrophages. PLoS One. 2012;7:e53101.
 23. Park J-S, Woo M-S, Kim D-H, Hyun J-W, Kim W-K, Lee J-C, et al. Anti-inflammatory mechanisms of isoflavone metabolites in

- lipopolysaccharide-stimulated microglial cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007;320:1237-45.
24. Zhai X, Lin M, Zhang F, Hu Y, Xu X, Li Y, et al. Dietary flavonoid genistein induces Nrf2 and phase II detoxification gene expression via ERKs and PKC pathways and protects against oxidative stress in Caco- 2 cells. *Mol Nutr Food Res.* 2013;57:249-59.
25. Kim JW, Jin YC, Kim YM, Rhie S, Kim HJ, Seo HG, et al. Daidzein administration in vivo reduces myocardial injury in a rat ischemia/reperfusion model by inhibiting NF-kB activation. *Life sci.* 2009;84:227-34.
26. Blay M, Espinel A, Delgado M, Baiges I, Blade C, Arola L, et al. Isoflavone effect on gene expression profile and biomarkers of inflammation. *J Pharm Biomed Anal.* 2010;51:382-90.
27. Gao Y, Fang L, Liu F, Zong C, Cai R, Chen X, et al. Suppressive effects of irisfloreantin on LPS-induced inflammatory responses in RAW 264.7 macrophages. *Exp Biol Med.* 2014;239:1018-1024.
28. Marzocchella L, Fantini M, Benvenuto M, Masuelli L, Tresoldi I, Modesti A, et al. Dietary flavonoids: molecular mechanisms of action as anti-inflammatory agents. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2011; 5:200-220.
29. Bahmani M, Shirzad H, Majlesi M, Shahinfard N, Rafieian-Kopaei M. A review study on analgesic applications of Iranian medicinal plants. *Asian Pac J Trop Med.* 2014;7:S43-S53.