تعیین اثرات عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه بر دردهای محیطی و احشایی در موش سوری

مجید جدیدی[۱](Ph.D)، حمیدرضا ثامنی[۲](Ph.D)، زینب میربیگی [۳](M.D Student)، مریم جعفری [۴](B.Sc)، عباسعلی طاهریان[۴*](M.D)

۱- *مرکز تحقیقات فیزیولوژی، گروه فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران*

۲- *مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران*

۳- *کمیته تحقیقات دانشجویان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران*

۴- *آزمایشگاه درد، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران*

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات نشان دادند مصرف سیستمیک زردچوبه دارای اثرات ضد التهابی، آنتی‌اکسیدان، ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد توموری و ضد دردی در دردهای نوروپاتیک می‌باشد، ولی چگونگی مکانیسم این اثرات هنوز کاملاً شناخته نشده است. این مطالعه با هدف بررسی اثرات ضد دردی حاد، مزمن و احشایی عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه با استفاده از آزمون‌های ارزیابی درد استاندارد در حیوانات آزمایشگاهی طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۱۶۰ سر موش سوری جوان (آلبینو) در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم و در گروه‌های ۸ تایی مورد استفاده قرار گرفتند. عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش و وهیکل (سالین) هم حجم عصاره، به صورت داخل صفاقی و ۳۰ دقیقه قبل از ارزیابی درد تزریق و آزمون انجام شد. درد حاد و مزمن در آزمون‌های ارزیابی درد Hot plate، Tail flick و Formalin و درد احشایی در مدل Writhing ناشی از تزریق داخل صفاقی اسید استیک مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل دارای اثرات ضد دردی است (P<۰/۰۵). بالاترین دوز عصاره نیز اثر ضد دردی بیش‌تری از خود نشان داد (P<۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: یافته‌های تحقیق نشان داد که عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه اثرات تعدیلی بر درد محیطی و احشایی دارد.

واژه‌های کلیدی: زردچوبه، کورکومین، درد محیطی، درد احشایی، موش سوری.

مقدمه

درد احساس ناخوشایندی است که به علت صدمات وارده به بافت‌های مختلف بدن ایجاد می‌شود. نباید فراموش کرد که درد هشداری است که وجود و یا احتمال وجود خطر را در یک عضو نشان می‌دهد [۱]. در طی یک بررسی به عمل آمده توسط انجمن درد آمریکا فقط در این کشور پنجاه میلیون نفر در سنین مختلف از درد رنج می‌برند که برای کنترل کردن درد آن‌ها بیش از ۱۰۰ میلیون دلار هزینه لازم است [۲]. انسان از زمانی که درد را شناخت در پی پیدا کردن راهی برای یافتن علت آن و چگونگی برطرف کردن آن بوده است [۳]. یکی از راه‌های مبارزه با درد استفاده از داروهای شیمیایی است. عوارض جانبی داروهای صناعی باعث شده که جهت دستیابی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳-۳۳۳۵۴۲۱۸

Email: Taherian 99@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۹

به داروهای ضد درد جدید با کاربری بالا و عوارض جانبی کم‌تر، گیاهان دارویی و مواد طبیعی مورد توجه بیش‌تری قرار گیرند [۴]. یکی از گیاهانی که از دیرباز به عنوان چاشنی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گرفته و در طب سنتی نیز کاربردهای زیادی برای آن ذکر شده زردچوبه می‌باشد.

زردچوبه گیاه بومی نواحی گرم آسیا، نظیر کشورهای هندوستان، پاکستان، اندونزی، جنوب چین و بومی آفریقا و آمریکای جنوبی است و در ایران رویش ندارد [۵،۶]. کورکومین ترکیب فعال بیولوژیکی زردچوبه است و بیش‌تر خواص درمانی زردچوبه از جمله اثر آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی و حفاظت کبدی گزارش شده آن را به کورکومین نسبت می‌دهند [۹-۷]. کورکومین ماده موثره ریزوم گیاه زردچوبه به نام شیمیایی difeouloylmethane با فرمول شیمیایی (C_{12} H_{20} O_6) است. علاوه بر کورکومین ترکیبات شیمیایی متعدد از جمله روغن فرار، زینجیبرن، آلفا و بتا تورمرین و مواد دیگر مانند آرابینوز، فروکتوز، گلوکز و نشاسته در ریزوم گیاه زردچوبه وجود دارد. رنگ زردچوبه مربوط به مواد رنگی مثل کورکومین، دس متوکسی کورکومین و بیس دس متوکسی است [۱۲-۱۰]. در کتب طب سنتی موارد مصرف متعددی برای زردچوبه از قبیل تسکین درد دندان، برطرف‌کننده درد و ورم زخم، مسکن درد مفاصل و برطرف‌کننده ورم‌ها ذکر شده است [۱۳].

در مطالعات جدید نیز گزارشاتی در مورد اثرات ضد دردی و ضد التهابی، ضد سرطانی، محافظت کبدی، اختلالات گوارشی، قلبی و عروقی، بیماری آلزایمر، آرتریت روماتوئید، دیابت و سیستم ایمنی توسط زنجبیل و زردچوبه منتشر شده است [۱۵،۱۴].

با توجه به احتمال وجود اثرات ضد دردی در زردچوبه و زنجبیل و عدم انتشار مطالعات در مورد اثرات ضد دردی عصاره هیدروالکلی زردچوبه بر آن شدیم تا اثرات ضد دردی عصاره هیدروالکلی ریزوم این گیاه را بر روی آزمون‌های اختصاصی سنجش درد در حیوانات آزمایشگاهی را مورد بررسی قرار دهیم. به‌نظر می‌رسد با انجام آزمایشات تکمیلی بتوان هم اثر ضد دردی و هم نقش گیرنده‌های موثر را بهتر شناسایی کرد.

مواد و روش‌ها

حیوانات .در این مطالعه ۱۶۰ سر موش سوری نر نژاد آلبینو albino در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات مورد آزمایش از بین جمعیت کل در دسترس در مرکز تکثیر و نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان انتخاب و به‌طور تصادفی در گروه‌های ۸ تایی قرار گرفتند. محل نگه‌داری آن‌ها در یک اطاق کنترل شده از نظر حرارت و رطوبت با سیکل منظم ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد بود. آب و غذا نیز به مقدار کافی در اختیار آن‌ها قرار داشت و جهت انجام آزمایشات حداقل یک ساعت قبل به آزمایشگاه درد منتقل می‌شدند. با توجه به سیکل بیولوژیکی حیوانات زمان انجام آزمون‌ها از ساعت ۹ صبح تا ۲ بعداز ظهر بود.

نحوه عصاره‌گیری ریزوم زردچوبه به روش سوکسله.

برای تهیه عصاره هیدروالکلی زردچوبه، ۲۵۰ گرم ریزوم آن از یکی از عطاری‌های معروف شهر تهیه شد. جهت اطمینان، نمونه مورد نظر به تایید مرکز آموزشی علمی کاربردی جهاد کشاورزی استان سمنان رسید. در همان مرکز نیز عصاره‌گیری به روش سوکسله انجام گرفت. عصاره به دست آمده که نسبتاً غلیظ هم بود در دستگاه بن‌ماری با حرارت حدود ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا آب آن کاملاً تبخیر شود. محصول خشک به دست آمده وزن و در محل مناسبی (یخچال) نگه‌داری شد. بر اساس دوزهای مورد نیاز محلول خشک در نرمال سالین حل و مورد استفاده قرار گرفت.

گروه‌های آزمایشی. در هر آزمون بررسی درد ۵ گروه ۸تایی مورد استفاده قرار گرفتند.

۱- گروه کنترل (n=۸)

۲- گروه و هیکل یا سالین (n=۸)

۳- گروه‌های دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش (n=۱۷)، [۲۴،۱۶].

آزمون‌های مورد استفاده قرار گرفته برای ایجاد و سنجش درد

Hot plate Test. در این آزمون درد حاد ایجاد و مورد بررسی قرار می‌گیرد. برای این منظور از دستگاه ساخت شرکت IITC Life Sciences ، مدل ۳۹ استفاده شد. دستگاه مجهز به زمان‌سنج و ترموستات بوده و حرارت مورد نظر برای ایجاد درد در پاهای حیوان به‌وسیله مقاومت الکتریکی تولید می‌شود. در این مطالعه درجه حرارت دستگاه بر روی ۵۲/۵±۰/۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. بلافاصله پس از قرار دادن حیوان بر روی صفحه داغ، زمان‌سنج فعال را فعال می‌کنیم. با اولین واکنشی که حیوان شروع برای لیسیدن پاهای جلویی خود می‌کند و یا پاهای عقبی را بالا می‌برد، زمان‌سنج را متوقف کرده و مدت زمان ثبت شده توسط دستگاه را به‌عنوانLatency (زمان پاسخ به درد) در نظر می‌گیریم. برای جلوگیری از سوختن و صدمه به پاهای حیوان، Cutoff را ۴۵ ثانیه در نظر گرفته می‌گیریم [۱۸].

Tail Flick Test. از روش‌های استاندارد دیگری که برای سنجش درد حاد استفاده می‌شود آزمون TF است. در این مطالعه دستگاه ساخت شرکت (Ugo Basile) ، مدل ۳۷۳۶۰ از کشور ایتالیا مورد استفاده قرار گرفت. حیوان مورد آزمایش بدون ایجاد استرس و با استفاده از حوله روی دستگاه طوری مقید می‌شد که دم آن به آزادی قابل حرکت باشد. اشعه از طریق کانالی به زیر دم حیوان تابیده می‌شود. شدت تابش در این دستگاه بین ۰ تا ۹۹ متغیر و قابل کنترل می‌باشد. در این مطالعه شدت ۵۰ و برای جلوگیری از آسیب به دم حیوان Cut offرا ۱۳ ثانیه در نظر گرفتیم. پس از قرار دادن دم حیوان در مسیر تابش اشعه، با فشار یک تکمه اشعه به قسمت خاصی از دم که برای همه حیوانات یکسان در نظر گرفته می‌شود تابیده و هم‌زمان دستگاه زمان تابش را ثبت می‌کند. در صورت حرکت دم حیوان در اثر سوزش، تابش اشعه خودکار قطع شده و این زمان که با حساسیت ۰/۱ ثانیه به ثبت می‌رسد، که به‌عنوان زمان پاسخ به درد در نظر گرفته می‌شود [۱۹].

Formalin Test. در آزمون فرمالین درد حاد و مزمن مورد سنجش قرار می‌گیرد. در این آزمون از یک چهارپایه آلومینیومی با صفحه شیشه‌ای که مکعبی از جنس پلکسی‌گلاس به ابعاد ۳۰ سانتی‌متر روی آن قرار دارد استفاده می‌شود که حیوان جهت آزمون در این فضا قرار می‌گیرد. برای مشاهده بهتر حرکات موش در فاصله‌ای از سطح شیشه و سطح افق، آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه قرار می‌گیرد. جهت انجام آزمایش، فرمالین با غلظت ۳٪ و با دوز ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از سرنگ انسولین به صورت زیر جلدی به کف پای راست عقبی موش تزریق می‌شود. کل زمان برحسب ثانیه که برای لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده صرف می‌شود، در دوره‌های زمانی ۵ دقیقه اول برای درد حاد و ۱۵ تا ۶۰ دقیقه بعد به‌عنوان شاخص درد مزمن، اندازه‌گیری می‌شود. بعد از ۵ دقیقه اول، در فاصله دقایق ۵ الی ۱۵، حیوان رفتار خاصی را از خود نشان نمی‌دهد. از دقیقه ۱۵ تا ۶۰، فاز دوم درد شروع می‌شود و حیوان دوباره به علت ایجاد درد به لیسیدن کف پای مربوطه می‌پردازد که حدود ۴۵ دقیقه طول می‌کشد [۲۰].

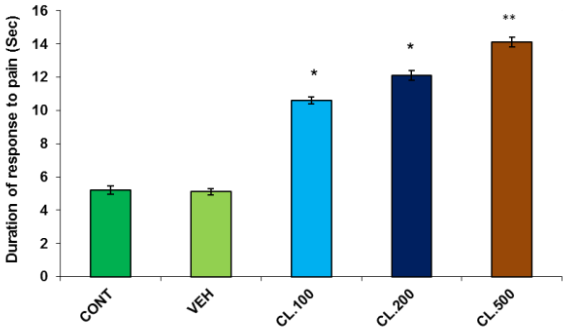
Writhing Test. در آزمون رایتینگ، تزریق اسید استیک با غلظت (۱٪) و با دوز ۱ ml/kg به صورت داخل صفاقی باعث ایجاد درد احشایی می‌شود. این درد واکنش‌های انقباضی و کشیدن اندام‌ها را به‌دنبال دارد. در این آزمون ابتدا عصاره به صورت داخل صفاقی و ۳۰ دقیقه بعد اسید استیک با غلظت ذکر شده و به صورت داخل صفاقی تزریق و بلافاصله حیوان در جایگاه مخصوص قرار می‌گیرد. زمان و تعداد این واکنش‌ها ثبت و با گروه کنترل مقایسه می‌شود [۲۱].

تجزیه و تحلیل داده‌ها. نتایج به‌دست آمده به صورت mean±SEM ارائه شدند. یافته‌ها در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و تست تکمیلی توکی (Tukey) توسط نرم‌افزار SPSS مورد

تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

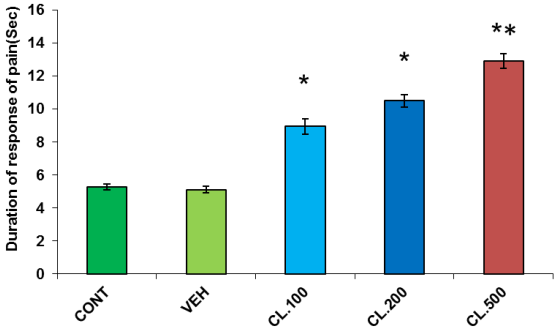
نتایج

Hot Plate. نتایج اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد حاد در مدل ارزیابی HP، ۳۰ دقیقه قبل از انجام آزمون در شکل ۱ دیده می‌شود. نتایج دال بر افزایش معنی‌دار زمان تحمل به درد، در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل است (P<۰/۰۵ ،$F_{(5,42)}$=۴۰۸/۵۶۵ P<۰/۰۰۱) دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بهترین نتیجه را بروز داد (P<۰/۰۱).



شکل ۱. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه بر درد حاد در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل (نرمال سالین) در مدل ارزیابی Hot Plate. * (P<0.05) در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH. **(P<0.01) بیشترین اثر در مقایسه با گروه های CONT و VEH. CL=Curcuma Longa VEH=Vehicle CONT=Control

Tail Flick. بررسی داده‌های این آزمون نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد حاد در مدل ارزیابی Tail Flick در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل (نرمال سالین) افزایش معنی‌داری در تحمل به درد را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵) (شکل ۲). (P<۰/۰۰۱ ،$F_{(5,42)}$=۱۲۲/۱۷۰) عصاره با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش دارای بیش‌ترین اثر ضد دردی بود (P<۰/۰۱).

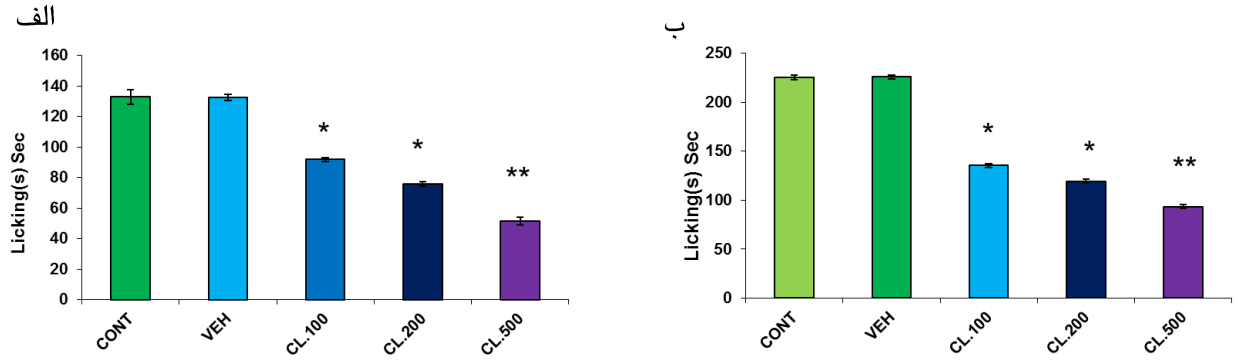


شکل ۲. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد حاد در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل در آزمون Tail Flick (P<0.05). * (P<0.05) در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH. **(P<0.01) بیشترین اثر در مقایسه با گروه های CONT و VEH. CL=Curcuma Longa VEH=Vehicle CONT=Control

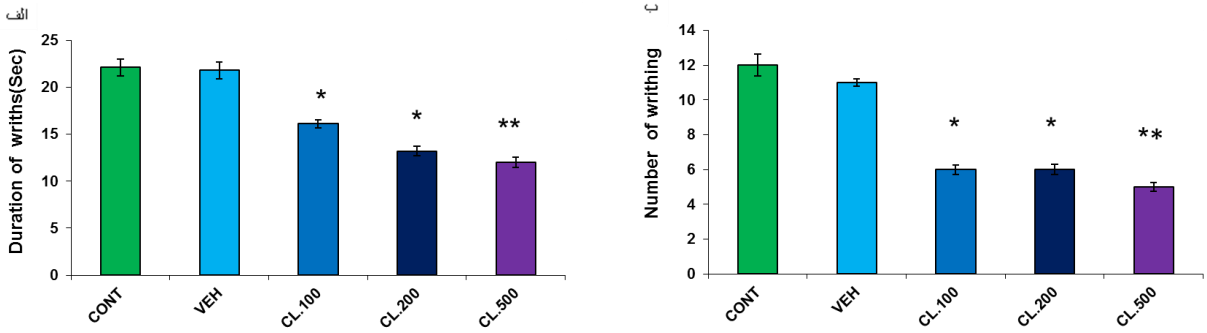
Formalin. نتایج به‌دست آمده در این آزمون دال بر اثرات ضد دردی تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین، بر درد حاد (شکل۳ الف) (P<۰/۰۰۱ ،$F_{(5,42)}$=۲۰۹/۲۸۳) و درد مزمن (شکل ۳ ب) (P<۰/۰۰۱ ، $F_{(5,42)}$=۱/۰۷۲E3) در مدل ارزیابی فرمالین می‌باشد. در مقایسه با گروه کنترل زمان لیسیدن کف پایی را که فرمالین تزریق شده بود (ناشی از درد تزریق فرمالین)، به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین اثر با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بود (P<۰/۰۱).

Writhing. بررسی نتایج به‌دست آمده در این آزمون نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر درد احشایی در مدل ارزیابی writhing، ۳۰ دقیقه قبل از انجام تست، در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل (نرمال سالین) زمان (شکل ۴ الف) (P<۰/۰۰۱ ،$F_{(5,42)}$=۴۷/۷۷۹) و تعداد رایت‌های انجام شده (شکل ۴ ب) (P<۰/۰۰۱ ،$F_{(5,42)}$=۸۳/۱۷۶) توسط حیوان را

کاهش می‌دهد که دال بر اثرات ضد دردی عصاره می‌باشد (P<۰/۰۵). ضمن این‌که بیش‌ترین اثر با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بود (P<۰/۰۱).



شکل ۳. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه با دوزهای۱۰۰، ۲۰۰ و۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل در فاز حاد (الف) و فاز مزمن (ب) آزمون فرمالین (P<0.05). * (P<0.05) در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH. **(P<0.01) بیشترین اثر در مقایسه با گروه های CONT و VEH. CONT=Control VEH=Vehicle CL=Curcuma Longa



شکل ۴. اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه در مقایسه با گروه کنترل و وهیکل(نرمال سالین) در آزمون بررسی درد احشایی ناشی از تزریق اسید استیک با دوزهای۱۰۰ ، ۲۰۰ و۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش بر کاهش زمان درد احشایی(زمان رایت ها) (الف) و کاهش تعداد رایت ها (ب) (P<0.05). * (P<0.05) در مقایسه با گروه‌های CONT و VEH. **(P<0.01) بیشترین اثر در مقایسه با گروه های CONT و VEH. CONT=Control VEH=Vehicle CL=Curcuma Longa

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعات ما نشان داد که:

الف – عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه با هر سه دوز (۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان) دارای اثرات ضد دردی در آزمون‌های ارزیابی درد (Hot plate، Tail flick، Formalin و Writhing) در حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. ضمن این‌که بیش‌ترین اثر عصاره در بالاترین دوز بود.

ب – ۷۲ ساعت پس از تزریق دوزهای سه گانه عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه (۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان) هیچ‌گونه مرگ و میری مشاهده نشد. در این تحقیق سعی شد تا فعالیت ضد دردی عصاره با استفاده از هر دو روش ارزیابی درد حرارتی و شیمیایی در موش سوری مورد بررسی قرار گیرد. برای بررسی اثرات ضد دردی مرکزی و محیطی از این آزمون‌ها استفاده می‌شود. آزمون‌های Hot plate و Tail flick که نسبت به اثرات ضد دردی مرکزی حساس هستند جهت بررسی دردهای حاد مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲۴-۲۲]. آزمون فرمالین دو فاز دارد و می‌توان هر دو نوع درد حاد و مزمن را مورد سنجش قرار داد [۲۵]. در تست رایتینگ ناشی از تزریق اسید استیک ضمن بررسی دردهای احشایی، اثرات مرکزی و محیطی عصاره هم مورد بررسی قرار می‌گیرد [۲۶]. نتایج این تحقیق

نشان داد که استفاده سیستمیک از عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه می‌تواند به صورت وابسته به دوز زمان واکنش به حرارت در آزمون‌های HP و TF را افزایش و زمان لیسیدن پایی که فرمالین در آن تزریق شده (پاسخ به درد) در آزمون فرمالین و هم‌چنین کاهش تعداد و زمان رایت‌های ایجاد شده در آزمون Writhing، باعث تعدیل درد حاد، مزمن و احشایی شود. نتایج این تحقیق دال بر این بود که عصاره مورد استفاده در محدوده بین ۱۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان دارای اثرات ضد دردی است و در بالاترین دوز در مقایسه با گروه کنترل بیش‌ترین اثر را از خود نشان می‌دهد.

در آزمون Hp درد حاد ناشی از حرارت مورد سنجش قرار می‌گیرد و دخالت انسانی در این آزمون کم‌تر است. شاید بتوان گفت این آزمون در سنجش درد حاد از حساسیت بیش‌تری برخوردار است. نتایج مطالعات قبلی نشان داده است که در انتقال دردهای ناشی از حرارت به مرکز سیستم اوپیوئیدی نقش اساسی دارد [۲۷]. هم‌چنین مشخص شده که آزمون‌های درد حرارتی بیش‌تر به گیرنده‌های مو اوپیوئیدی حساس بوده ولی آزمون‌های غیر حرارتی به گیرنده‌های اوپیوئیدی کاپا حساس هستند [۲۸،۲۹]. آزمون Hp که برای ارزیابی فعالیت ضد دردهای مرکزی مورد استفاده قرار می‌گیرد، مسئول فوق نخاعی مسیر درد بوده [۲۲،۲۴] و یک مدل مرکزی انتخابی برای ضد دردهای مشتق از اوپیوئیدها می‌باشد [۳۰]. از آن‌جایی که در این مطالعه استفاده از عصاره هیدروالکلی ریزوم زردچوبه منجر به بروز اثرات ضد دردی قوی در این آزمون شد لذا به‌نظر می‌رسد عصاره دارای ترکیب و یا ترکیباتی است که اثرات ضد دردی مرکزی دارد.

در آزمون TF نیز که یک واکنش نخاعی است درد حاد مورد بررسی قرار می‌گیرد. ممکن است این رفلکس نخاعی خالص نباشد و بسیار پیچیده‌تر از آن است که فقط یک مرکز فوق نخاعی دخالت داشته باشد و به‌نظر می‌رسد مدار نخاعی- پیازی- نخاعی واسطه انجام آن باشد [۳۴-۳۱]. بروز اثرات ضد دردی عصاره در این آزمون نشان‌دهنده تاثیر عصاره بر مراکز نخاعی و فوق نخاعی است.

در آزمون فرمالین بر خلاف دو آزمون قبلی درد حاد و مزمن مورد بررسی قرار می‌گیرد. این آزمون دو فاز جداگانه دارد. فاز ابتدایی نوروژنیک بوده و فاز دوم التهابی است [۳۵]. در فاز اول آزمون که بلافاصله پس از تزریق فرمالین شروع می‌شود درد حاصله ناشی از اثر مستقیم فرمالین بر گیرنده‌های عصبی حس درد بوده که آن را درد حاد و یا عصبی (Neurogenic) می‌نامند. فاز دوم درد در آزمون فرمالین که ناشی از ایجاد صدمه بافتی در اثر تزریق فرمالین است به عنوان درد مزمن و یا التهابی (Inflammatory) مورد بررسی قرار می‌گیرد. در فاز دوم واسطه‌هایی مانند هیستامین، کینین، سروتونین و پروستاگلاندین‌ها از سلول‌های بافت صدمه دیده آزاد می‌شوند. این واسطه‌ها حداقل ایجاد مسئول قسمتی از این التهاب می‌باشند که باعث تحریک گیرنده‌های درد و منجر به بروز درد می‌شوند [۳۶]. در این آزمون داروهای ضد درد موثر مرکزی مانند نارکوتیک‌ها هر دو فاز را کاهش می‌دهند در حالی‌که داروهای اثرکننده محیطی فقط بر فاز دوم اثر دارند [۲۵]. داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی مانند ایندومتاسین نیز فقط درد فاز دوم را کاهش می‌دهند ولی بر فاز اول بی‌تاثیر هستند. به‌نظر می‌رسد که در فاز اول ماده P و برادی کینین اثر داشته در حالی که در فاز دوم هیستامین، سروتونین، برادی کینین و پروستاگلاندین‌ها نقش دارند [۳۷،۳۵]. نتایج مرحله اول اساساً ناشی از تحریک مستقیم گیرنده‌های درد است در حالی‌که فاز دوم شامل یک دوره حساسی است که در طی آن پدیده التهابی رخ می‌دهد. منشاء مرکزی یا محیطی بودن این مرحله مورد بحث است [۳۸]. در برخی از موارد نتایج فاز دوم را مربوط به فرایندهای مرکزی ناشی از فعال نمودن نورون‌ها در فاز اول می‌دانند [۳۹]. نتایج مطالعه ما نشان داد که استفاده داخل صفاقی عصاره زردچوبه در هر دو فاز آزمون فرمالین زمان لیسیدن و یا گاز گرفتن پا توسط حیوان (درد ایجاد شده) کاهش می‌یابد. در حقیقت این اثر نشان می‌دهد که عصاره دارای ترکیباتی است که به هر دو صورت مرکزی و محیطی بر روی درد اثر گذاشته و منجر به بروز اثرات ضد دردی می‌شود.

رایتینگ وابسته به اسید استیک در موش سوری به عنوان یک آزمون سنجش درد احشایی قابل استناد است [۴۰]. بر خلاف آزمون‌های قبلی که درد حاد و مزمن ارزیابی می‌شد، در این آزمون درد احشایی (انقباضات شکمی و کشش اندام‌ها) ناشی از تحریک پریتوئن به‌دنبال تزریق اسید استیک مورد بررسی قرار می‌گیرد. از آن‌جایی که انقباضات شکمی ایجاد شده بعد از تزریق داخل صفاقی اسید استیک ناشی از حساسیت گیرنده‌های ضد دردی به پروستاگلاندین‌ها می‌باشد، بنابراین ممکن است عصاره اثرات ضد دردی خود را احتمالاً به‌وسیله کاهش سنتز و یا عمل‌کرد پروستاگلاندین‌ها اعمال کند. استفاده داخل صفاقی اسید استیک منجر به آزادی پروستاگلاندین‌ها و واسطه‌های سیستم سمپاتومیمتیک مانند پروستاگلاندین E2α و F2α و افزایش سطح آن‌ها در مایع صفاقی حیواناتی می‌شود که در آن‌ها اسید استیک داخل صفاقی تزریق شده است [۴۱]. پاسخ‌های رایتینگ وابسته به اسید استیک، یک روش حساس به ارزیابی ضد دردهای عمل‌کننده محیطی می‌باشند. به‌نظر می‌رسد در این پاسخ‌ها، ماست‌سل‌های پریتوئنی [۴۲]، کانال‌های یونی حساس به اسید [۴۳]، و مسیرهای پروستاگلاندینی واسطه‌گری می‌کنند [۴۴]. با توجه به بروز اثرات ضد دردی عصاره زردچوبه در این آزمون، به‌نظر می‌رسد عصاره دارای ترکیباتی است که شبیه ضد دردهای محیطی عمل کرده و اثرات ضد دردی بسیار خوبی از خود بروز داده است.

در مورد اثرات ضد دردی عصاره کامل زردچوبه مطالعات اندکی انجام شده ولی بر روی کورکومین که از ترکیبات اصلی زردچوبه می‌باشد و اعتقاد بر این است که عامل اصلی در بروز اثرات زردچوبه می‌باشد مطالعات بیش‌تری صورت گرفته که نتایج آن‌ها با این تحقیق هم‌خوانی دارد.

در یک مطالعه‌ای که در مورد اثرات ضد دردی زردچوبه انجام شده بود مشخص شد که این گیاه دارای اثرات تسکینی بر درد دندان و مفاصل است [۴۵]. از سوی دیگر Sharma و همکارانش گزارش دادند که کورکومین که از ترکیبات اصلی زردچوبه می‌باشد در حیوانات دیابتی قادر به کاهش درد نوروپاتیکی است که در آزمون صفحه داغ و غوطه‌وری دم در آب داغ آن را ثابت کردند [۴۶]. نتایج مطالعه دیگری نشان داده است که در استفاده از یک ترکیب دارای چند ماده با نام JCICM-6 که یکی از ترکیبات آن کورکومین بوده اثرات ضد دردی در آزمون پرش دم و رایتینگ دیده شده است [۴۷]. در مطالعه‌ای که حسین تاجیک و همکارانش انجام دادند اثرات ضد دردی کورکومین در آزمون رایتینگ را گزارش نمودند [۴۸]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ انجام شد اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد دردی و ضد التهابی اسانس خوراکی زردچوبه مورد بررسی قرار گرفت که نتایج دال بر کاهش اثرات ضد دردی در آزمون رایتینگ بود [۴۹]. در تحقیق wantana که بر روی اثرات ضد درد، ضد تب و ضد التهابی عصاره کلروفرمی، متانولی و عصاره آبی زنجبیل که خوراکی مورد استفاده قرار گرفت انجام شد اثرات ضد دردی در زنجبیل گزارش شد [۵۰]. در مطالعه‌ای که توسط peerati و همکاران بر روی عصاره خوراکی زنجبیل انجام شد اثرات ضد دردی و ضد التهابی گیاه گزارش شد [۱۴]. به‌طور خلاصه می‌توان گفت عصاره این گیاه دارای اثرات ضد دردی قوی می‌باشد که این توانایی ارزشمند در مدل‌های ارزیابی درد مرکزی و محیطی و احشایی به خوبی مشخص شد. این اثر می‌تواند به علت وجود ترکیبات مختلف موجود در ریزوم گیاه زردچوبه از جمله کورکومین باشد.

این گونه تحقیقات می‌تواند قدم‌های اولیه برای یافتن یک داروی ضد درد قوی بدون عوارض جانبی داروهای شیمیایی باشد. برای این منظور لازم است برای بررسی و شناسایی نقش گیرنده‌های مختلف در بروز اثرات ضد دردی عصاره مطالعات بیش‌تری انجام شوند.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر اساس بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شماره ۵۵۰ و پایان‌نامه خانم زینب میربیگی دانشجوی پزشکی می‌باشد.

منابع

[1] Hochain P, Capet C, Colin R. Digestive complications of aspirin. Rev Med Intern 2000; 21: 50S-59S.

[2] Pilotto A, Franceschi M, Leandro G. The risk of upper gasterointestinal bleeding in elderly users of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs: the role of gasteroprotective drugs. Aging Clin Exp Res 2003; 15: 494-499.

[3] Sur R, Martin K, Liebel F. Antiinflammatory activity of parthenolidedepleted Feverfew (Tanacetum parthenium). Inflam Pharmacol 2009; 17: 42-49.

[4] Pahlavan Y, Sepehri GR, Afarinesh Khaki MR, Sheibani V, Esmail Pour Bezenjani K, Pahlavan B. Intervention of morphine and naloxone on analgesic effects of origanum vulgare extract in male rat. J Ardabil Univ Med Sci 2011; 11: 134-142. (persain).

[5] Keys JD. Chinese herbs, their botany, chemistry and pharmacodynamics. Rutland, VT, CE Tuttle.1976.

[6] Standard of ASEAN herbal medicine, Vol. 1. Jakarta, SEAN Countries, 1993.

[7] Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U, Banerjee R. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. Current Sci 2004; 87: 1325-1330.

[8] Amouoghli Tabrizi B, Mohajeri D. Protective effect of edible turmeric (Curcuma longa Linn.) powder on early hepatic injury in diabetic rats. KAUMS J (FEYZ) 2010; 14: 190-199. (Persian).

[9] Khorsandi Ls, Taheri-Mobarekeh M, Klantary H. The protective effect of turmeric ((Curcuma Longa) (CL)) extract on acetaminophen-Induced liver damage in mice. ZUMS J 2006; 14: 23-29.

[10] Leung A. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics. 1th ed. John Wiley & Sons, New York, NY 1980; 313-314.

[11] Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of Curcuma longa. Plan Med 1991; 57: 1-7.

[12] Boon H, Wong J. Botanical medicine and cancer: a review of the safety and efficacy. Exp Opin Pharmacol 2004; 5: 2485-2501.

[13] Aqili Khorasani MH. Makhzan-al-adviah. 2th ed. Enqlab slami Press. Tehran Iran 1371; 601-602.

[14] Ruangsang P, Tewtrakul S, Reanmongkol W. Evaluation of the analgesic and anti-inflamatory activities of curcuma mangga Val and Zijp rhizomes. J Nat Med 2010; 64: 36-41.

[15] Hoseini HF, Zahmatkesh M, Haghighi M. A review on pharmacological effects of curcuma longa. Med Plant 1388; 9: 1-15. (Persian).

[16] Taherian AA, Babaei M,Vafaei AA, Jarrahi M, Jadidi M, Sadeghi H. Ntinoceceptive effects of hydroalchoholic extract of Thymus Vulgaris. Pak J Pharm Sci 2009; 22: 83-89.

[17] Taheriana AA, Vafaei AA, Ameri J. Opiate system mediate the antinociceptive effects of coriandrum sativum in mice. Iranian J Pharm Res 2012; 11: 679-688.

[18] Woolfe G, Macdonald AD. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (demerol). J Pharmacol Exp Ther 1944; 80: 300-307.

[19] D.Amour EE, Smith DL. A method of determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther 1941; 72: 74-79.

[20] Dobuisson D, Dennis SG. The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain 1977; 4: 161-174.

[21] Ahmed F, Selim MS, Das AK, Choudhuri MS. Antiinflammatory and antinociceptive activities of Lippia nodiflora Linn. Pharmazie 2004; 59: 329-333.

[22] Forman LJ. NMDA receptor antagonism produces antinociception which is partially mediated by brain opiods and dopamine. Life Sci 1999; 64: 1877-1887.

[23] Chapman CR, Casey KL, Dubner R, Foley KM, Gracely RH, Reading AE. Pain measurement: an overview. Pain 1985; 22: 1-31.

[24] Morales L, Perez-Garcia C, Alguacil LF. Effects of yohimbine on the antinociceptive and place conditioning effects of opioid agonists in rodents. Br J Pharmacol 2001; 133: 172-178.

[25] Shibatta M, Ohkubo T, Takashi H, Inoki R. Modified formalin test, characteristic biphasic pain response. J Pain 1989; 38: 347-352.

[26] Malmberg AB, Yaksh TL. Antinociceptive actions of spinal anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. J Pharmacol Exp Ther 1992; 263: 136-146.

[27] Besra SE, Sharma RM, Gomes A. Anti-inflammatory effect of petroleum ether extract of leaves of Litchi chinensis Gaertn (Sapinadaceae). J Ethnopharmacol 1996; 54: 1-6.

[28] Abbott F, Young SN. Effect of 5-hydroxy tryptanin precursors on morphine analgesia in the formalin test. Pharmacol Biochem Behav 1988; 31: 855-860.

[29] Furst S, Gyires K, Knoll J. Analgesic profile of rimazolium as compared to different classes of painkillers. Drug Res 1988; 4: 552-557.

[30] Abbott FV, Melzack R. Brainstem lesions dissociated neural mechanisms of morphine analgesia in different kinds of pain. Brain Res 1982; 251: 149-155.

[31] King TE, Joynes RL, Grau JW. Tail-flick test: II. The role of supraspinal systems and avoidance learning. Behav Neurosci 1997; 111: 754-776.

[32] Irwin S, Houde RW, Bennett DR, Hendershot LC, Steevers MH. The effects of morphine, methadone and meperidine on some reflex responses of spinal animals to nociceptive stimulation. J Pharmacol Exp Ther 1951; 101: 132-143.

[33] Bonnycastle DD, Cook L, and Ipsen J The action of some analgesic drugs in intact and chronic spinal rats. Acta Pharmacol Toxicol 1953; 9: 332-336.

[34] Sinclair JG, Main CD, and Lo GF Spinal vs supraspinal actions of morphine on the rat tail-flick reflex. J Pain 1988; 33: 357-362.

[35] Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. J Pain 1987; 30: 103-114.

[36] Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Pharmacology. 1th ed Churchill Livingston, New York 1998; 614-616.

[37] Yashpal K, Coderre TJ. Influence of formalin concentration on the antinociceptive effects of anti-inflammatory drugs in the formalin test in rats: separate mechanisms underlying the nociceptive effects of low- and high-concentration formalin. Eur J Pain 1998; 2: 63-68.

[38] Tjølsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. J Pain 1992; 51: 5-17.

[39] Coderre TJ, Fundytus ME, McKenna JE, Dalal S, Melzack R. The formalin test: a validation of the weighted-scores method of behavioural pain rating. J Pain 1993; 54: 43-50.

[40] Hasan SM, Hossain MM, Akter R, Jamila M, Mazumder ME, Alam MA, et al . Analgesic activity of the different fractions of the aerial parts of Commelina benghalensis Linn. Intern J Pharm 2010; 6: 63-67.

[41] Deraedt R, Joughney S, Delevakee F, Falhour M. Release of prostaglandin E and F in an algogenic reaction and its inhibition. Eur J Pharmacol 1980; 51: 17-24.

[42] Ribeiro RA, Vale ML, Thomazzi SM. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. Eur J Pharm 2000; 387: 111-118.

[43] Voilley N. "Acid-sensing ion channels (ASICs): new targets for the analgesic effects of non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Cur Drug Targ 2004; 3: 71-79.

[44] Mirad Hossain MD, Shawkat Ali M, Saha A, Alimuzzaman MD. Antinociceptive activity of whole plant extracts of Paederia foetida. Dhaka Univ J Pharm Scie 2006; 5: 67- 69.

[45] Chainani-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of Curcumin component of turmeric (curcuma longa). J Alter Compl Med 2003; 9: 161-168.

[46] Sharma S, Kulkarni SK, Agriwala JN, Chopra K. Curcumin attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. Eur J Pharmacol 2006; 536: 256-261.

[47] Zhou H, Wang YF, Liu XZ, Jiang ZH, Bian ZX, Liu HX. Supressive effects of JCICM-6, the extract of an anti-arthritic herbal formula, on the experimental inflammatory and nociceptive models in rodents. Biol Pharm Bull 2006; 29: 253-260.

[48] Tajik H, Tamaddonfard E, Hamzeh-Gooshchi N. The effect of curcumin (Active substance of turmeric) on the acetic acid-induced visceral nociception in rats. Pakist J Boil Sci 2008; 11: 312-314.

[49] Liju VB, Jeena K, Kuttan R. An evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of essential oil from Curcuma longa. L. Indian J Pharmacol 2011; 43: 526-531.

[50] Reanmongkol W, Subhadhirasakul S, Khaisombat N, Fuengnawakit P, Jantasila S, Khamjun A. Investigation the antinociceptive, antipyretic and anti-inflammatory activities of Curcuma aeruginosa Roxb. extracts in experimental animals. Songk J Sci Technol 2006; 28: 999-1008.

Effects of hydroalchoholic extract of Turmeric (*Curcuma longa*) Rhizome on the peripheral and visceral pain in mice

Majid Jadidi (Ph.D)[1], Hamid-Reza Sameni (Ph.D)[2], Zeynab mirbeygi (M.D Student)[3], Maryam Jafari (B.Sc)[4], Abbas Ali Taherian (M.D)[*4]

1 - Research Center of Physiology and Dept. of Medical Physics, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

2 - Research Center of Nervous System Stem Cells, Dept. of Anatomical Sciences, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

3 - Student research committee, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

4 - Laboratory of Pain. Research Center of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 9 Jun 2015; Accepted: 30 Dec 2015)

Introduction*:* Previously it has been shown that Curcuma longa (CL) has anti-inflammatory, antioxidant, antiviral, antifungal, antitumor, and antiniceceptive activity in neuropathic injury, when it is administered systemically, although the mechanisms that mediate these effects are not clear. The aim of present study was to determine the peripheral and visceral antinoceceptive effects of hydroalchoholic extract of CL on peripheral and visceral neuropathic pain in mice.

Materials and methods*:* This study was conducted using 160 young adult male albino mice (25-30 g.) in 20 groups (n=8). CL (100, 200, and 500 mg/Kg IP), vehicle (VEH), and (Saline) were injected interaperitonealy 30 min before the pain evaluation tests. Acute and chronic pains were assessed by host plate, tail flick and formaline tests models and visceral pain was assessed by writhing test.

Results*:* Results indicated that CL has analgesic effects on neuropathic pain ($p<0.05$) than the control group and the higher dose of CL was more effective ($p<0.001$).

Conclusion*:* The above findings showed that CL has modulatory effects on peripheral and visceral pains.

Keywords*: Curcuma longa*, Curcumin, peripheral Pain, visceral pain, Mice

* Corresponding author. Tel: +98 23 33354218

taherian 99@Yahoo.com