



## Evaluation of the analgesic and anxiolytic effects of *Dracocephalum polychaetum*

Mojtaba Khodami<sup>1</sup>, Mehdi Abbasnejad<sup>2\*</sup>, Vahid Sheibani<sup>1</sup>, Mina Mobasher<sup>1</sup>, Mitra Mehrabani<sup>3</sup>,  
Akbar Anaie Goodary<sup>4</sup>, Sahar Salari<sup>2</sup>

1. Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Science, Kerman, Iran

2. Dept. Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

3. Herbal and Treaditional Medicine Research Center, Kerman University of Medical Science, Kerman, Iran

4. Research center of ministry of education, kerman, Iran

Received: 14 Nov 2010

Accepted: 11 June 2010

### Abstract

**Introduction:** *Dracocephalum polychaetum bornum* is exclusively found in a limited geographical area in the Kerman province; It is used by the local people for treatment of abdominal pain, meteorism and musculoskeletal pain. No study has been performed on the effects of *D. polychaetum bornum*, so the aim of this work was to assess the role of the extract and essential oil of this plant on pain and anxiety assessed by formalin test and elevated plus-maze (EPM), respectively, in male rats.

**Methods:** Analgesic effects: One hundred twelve NMRI male rats were divided into 14 groups. Aqueous extract and essential oil were administered to 8 groups at doses of 25, 50, 100 and 200 mg/kg i.p., while 2 groups were treated with normal saline, and the last 4 groups (sham positive) received ASA (300 mg/kg) and morphine (2.5 mg/kg).

Anxiolytic effect: Forty-two NMRI male rats were divided into 7 groups. Four groups were injected intraperitoneally with 25, 50, 100 and 200 mg/kg of the extract of the plant and 2 groups were injected with normal saline (control group) and 1 mg/kg diazepam (positive sham). Anxiolytic effect was evaluated by EPM.

**Results:** The results showed that the extract but not the essential oil at the dose of 200 mg/kg had a significant analgesic effect 25, 30 and 35 minutes after administration. The findings on the anxiolytic effect revealed that there was no significant difference between groups treated with different doses.

**Conclusion:** This study showed that *D. polychaetum bornum* had analgesic effects.

**Key words:** pain, anxiety, *Dracocephalum polychaetum bornum*, formalin test, elevated plus-maze

\* Corresponding author e-mail: mabbas@mail.uk.ac.ir  
Available online at: www.phypha.ir/ppj

## بررسی اثر ضد دردی و ضد اضطرابی عصاره و اسانس گیاه *Dracocephalu polychaetum bornum* در موش صحرائی نر

مجتبی خدای،<sup>۱</sup> مهدی عباس نژاد<sup>۲\*</sup>، وحید شیانی<sup>۱</sup>، مینا مبشر<sup>۱</sup>، میترا مهربانی<sup>۳</sup>، اکبر آنایی گودری<sup>۴</sup>، سحر سالاری<sup>۲</sup>

۱. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان

۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

۳. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و سنتی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان

۴. مرکز تحقیقات وزارت آموزش و پرورش، کرمان

پذیرش: ۲۱ خرداد ۹۰

دریافت: ۲۳ آبان ۸۹

### چکیده

**مقدمه:** گیاه مفرو یکی از گیاهان منحصر به یک منطقه جغرافیایی در استان کرمان است که بصورت سنتی برای درمان دل درد، نفخ و درد از آن استفاده می شود؛ تا بحال مطالعه علمی و تجربی مشخصی در خصوص آن صورت نگرفته لذا هدف این تحقیق ارزیابی اثر ضد دردی و ضد اضطرابی عصاره و اسانس گیاه *Dracocephalu polychaetum bornum* توسط مدل رفتاری Elevated plus-maze (EPM) می باشد.

**روش ها:** اثر ضد دردی: بدین منظور ۱۱۱ سر موش صحرائی از نژاد NMRI در ۱۴ گروه توزیع شدند. هشت گروه عصاره آبی و یا اسانس را با دوزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی دریافت کردند، دو گروه نرمال سالین و چهار گروه هم بعنوان شاهد مثبت، ۲ گروه استیل سالیسیلیک اسید با دوز ۳۰۰ mg/kg و ۲ گروه مورفین را با دوز ۵/۲ mg/kg دریافت کردند. اثر ضد اضطرابی: بدین منظور از ۴۲ سر موش صحرائی نردر شش گروه استفاده شد. گروه شاهد (نرمال سالین)، گروه شاهد مثبت (دیازپام با دوز ۱ mg/kg) و گروههای دریافت کننده عصاره آبی گیاه با دوزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی. سپس مدل رفتاری EPM مورد استفاده قرار گرفت.

**یافته ها:** یافته ها نشان داد که دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره گیاه در زمان های ۲۵، ۳۰ و ۳۵ دقیقه اثر ضد دردی معنی داری را نشان داد. در هیچکدام از دوزهای بکار رفته اثر ضد اضطرابی معنی داری دیده نشد.

**نتیجه گیری:** در این تحقیق مشخص شد عصاره گیاه مفرو در دوزهای بکار رفته دارای اثر ضد دردی و فاقد اثر ضد اضطرابی است.

واژه های کلیدی: درد، اضطراب، *Dracocephalum polychaetum bornum*، آزمون فرمالین، Elevated plus-maze

### مقدمه

ایجاد می شود و تا چند دهه گذشته آن چه که به عنوان دارو در این زمینه مورد استفاده قرار می گرفت عمدتاً منشأ گیاهی داشت [۳۷] با پیشرفت سریع علوم داروهای صناعی بیشتر جایگزین دارو های گیاهی و سنتی گردیده اند، تجربه چند دهه اخیر نشان می دهد داروهای صناعی با وجود اثرات ضد دردی موثر، عوارض جانبی غیر قابل انکاری را باعث می شوند [۶].

درد به دلیل پیدایش یک بیماری و یا شروع آسیب بافتی

mabbas@mail.uk.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

تیلینین، اسید اولئانولیک و آکاستین است [۲۰، ۲۵ و ۲۹]. و نیز اثر ضد دردی اسانس *D.kotschy* در موش ثابت شده است [۱۶]. هم چنین این گیاه در درمان بیماریهای روماتیسمی [۱۳] و [۲۴] ضد تب [۱۵ و ۲۹] و پایین آورنده چربی خون، استفاده می شود. در طی بررسی فیتوشیمیائی گیاه *bornum* *D.polychaetum* دکتر مهربانی و همکاران نشان دادند درصد قابل توجه اسانس در گیاه (۱/۳ درصد) (زرد کم رنگ که بخش عمده آن را مونوترپن ها شامل لیمونن ۱۶/۵۵ درصد، پریرل آلدئید ۶۹/۶ درصد، پریرل الکل ۷/۲۵ درصد، لیمونن ۱۰ درصد، استات ۵/۳۵ درصد تشکیل می دهند) وجود دارد که می توانند توجیه کننده مصرف این گیاه در مشکلات گوارشی که عمدتاً منشاء باکتریائی دارد، باشد. مطالعات انجام شده حضور دو آکلیکون فلاونی آپیژنی و لوتسولین را در عصاره متانولی سر شاخه های هوایی گیاه مورد نظر نشان می دهد. لازم به یاد آوری است، پریرل آلدئید که تا کنون در هیچ گونه ای از *Dracocephalum* ها گزارش نشده است در این گونه وجود دارد [۲۷]. تحقیقات نشان داده لیمونن که یکی از اجزاء عمده این اسانس می باشد که به عنوان کاهش دهنده قند خون [۳۰]، رهایش مونو آمین ها از برش های بافت عصبی بخصوص رهایش دوپامین [۱۴]، ضد باکتری [۳۲]، یک مهار کننده آنزیم مبدل آنژیوتانسین، ضد تومور، ضد ویروس، باکتری کش، پیش گیری کننده از سرطان (اثر ضد التهابی و ضد سرطانی) [۳۶]، ضد کاندیدا یا خلط آور، مهار کننده رشد قارچ ها، ضد اسپاسم [۳۸] ( $ED_{50}=0.197 \text{ mg/ml}$ ) و مسکن، ضد اضطراب [۵، ۱۲ و ۱۷]، آرام بخش [۵] و ضد افسردگی [۲۴] مطرح می باشد و پریرل آلدئید که بیش از ۵۰ درصد اسانس را تشکیل می دهد اثرات باکتری کش، ضد کاندیدا و ضد قارچ و نیز اثرات تسکینی از خود نشان داده است. در خصوص پریرل آلدئید و پریرل الکل خواص درمانی شناخته شده دیگری از جمله خاصیت گشاد کنندگی عروقی پریرل آلدئید که گفته شده مربوط به اثر بلوک کنندگی کانالهای کلسیمی می باشد [۳۵] حشره کشی [۳۱] و ضد سرطان [۴] را نیز دارا است. آنالیز GC-MS روغن *D.kotschy* نشان داد عمده ترین ترکیبات آن را ژرانیول (۳۵/۸٪)،  $C_{10}H_{14}O$  (۲۶/۶٪)، لیمونن (۱۵/۸٪) و ۱-دی متوکسی دکان (۱۴/۵٪) تشکیل می دهد [۳۴]. عصاره هیدرو الکلی *D.kotschy* سطوح تری گلیسرید،

اضطراب یک عامل هشدار دهنده محسوب می گردد که خبر از خطری قریب الوقوع می دهد [۳]. ناهنجاری های اضطرابی رایج ترین بیماری های روانی در دنیا هستند. استرس باعث پیری زودرس، کاهش قدرت سیستم ایمنی و پیدایش بیماری های قلبی عروقی و متابولیسمی می گردد [۲]. مدارهای نوروئی که واکنش اضطرابی به یک محیط جدید مانند مدل اضطرابی ماز بعلاوه مرتفع را سبب می شوند، شامل فیبرهایی از آمیگدال، هیپوکامپ، هسته های مسیر منزوی و هیپوتالاموس می باشد [۳۴]. بنزودیازپین ها جزء اولین داروهایی می باشند که بطور گسترده در ۴۵ سال گذشته برای درمان چند نوع از اضطراب استفاده می شده اند [۲۱]. اثرات جانبی آنها وسیع است که شامل تسکین، استراحت عضلات، فراموشی و وابستگی جسمی می باشد [۲۷].

به دلیل عوارض جانبی داروهای ضد درد و ضد اضطراب موجود، امروزه استفاده از گیاهان دارویی دوباره مورد نظر محققان است و می رود که جایگاه جدیدی در درمان بیماری ها پیدا کند. کشور ایران از نظر گیاهان دارویی بعلت داشتن اکوسیستم متفاوت، دارای تنوع بسیار خوب و شاید منحصر به فردی است بنابراین توجه به این مهم به خصوص برای دسته های دارویی پر مصرف از جمله ضد دردها و ضد اضطراب ها، بسیار اهمیت دارد. گیاه *D.polychaetum bornum* از خانواده نعناعیان دارای ۵۰ گونه در جهان است که هشت گونه علفی آن در ایران وجود دارد و این گونه یکی از ۸ گونه جنس *Dracocephalum* است که تنها در ایران می روید و این ویژگی را دارد که در عین حال انحصاری ایران و استان کرمان می باشد [۳۳ و ۴۰]. این گونه تحت عنوان بادرنجبویه کرمانی یا لاله زاری شناخته می شود. همچنین در طب سنتی منطقه کرمان به دلیل بوی خوش و به عنوان ضد دل درد و نفخ با نام مفرو استفاده می شود هم چنین به عنوان ضد درد، برای درمان اختلالات کلیه، دندان درد و سرماخوردگی [۲۰] اختلالات کبدی و احتقان [۷] استفاده می شود. این گیاه فعالیت آنتی اکسیدانی دارد [۸]. گونه های مختلف *Dracocephalum* دارای فلاونوئید، دی ترپن، تانن و اسیدهای فنلی می باشند [۲۵ و ۲۲]. *D.moldavica* دارای اسانس با جزء عمده ژرانیال، ژرانیال استات، نورال و اسیدهای فنلی رزمارینک و کافئیک، مشتقات سینامیک اسید، تانن، دی و تری ترپن هایی مانند

رسانده و به ازای هر ۱۰ گرم وزن موش ۰/۱ میلی لیتر از آن توسط سرنگ انسولین به صورت داخل صفاقی تزریق شد. حیوانات آزمایشگاهی: حیوانات مورد استفاده موش های صحرایی نر از نژاد NMRI با وزن ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم در ۱۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند، شرایط نگهداری حیوانات دوره نوری تاریکی ۱۱ ساعت، با آب و غذای کافی در دسترس و نیز دمای  $23 \pm 1$  بود. بر اساس قوانین بین الملل رعایت اصول اخلاقی جهت کار با حیوانات تمام اصول اخلاقی در این زمینه رعایت شده است.

بررسی اثر ضد دردی: به منظور ارزیابی اثر ضد دردی ابتدا به حیوانات اجازه داده می شد به مدت ۲۰ دقیقه در محفظه فرمالین قرار گیرند تا استرس آنها رفع گردد، (نیم ساعت قبل از شروع آزمایش، دوزهای مختلف گیاهی به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق می شد). سپس با استفاده از سرنگ انسولین، ۲۵μl از فرمالین ۰/۵٪ به صورت زیر جلدی به کف پای حیوان تزریق و بلافاصله آن را در جعبه تست فرمالین گذاشته و عکس العمل حیوان به درد از طریق آینه ای که زیر محفظه تعبیه شده ثبت می شد.

نحوه نمره دادن به پاسخ حیوان به درد به این شرح بود:

- ۱) تعادل کامل در راه رفتن و توزیع مساوی وزن بین دو پا، امتیاز صفر.
  - ۲) اشکال در راه رفتن و کاستن فشار بر روی پای دردناک و بالا نگه داشتن آن، امتیاز ۱.
  - ۳) بالا نگه داشتن پای دردناک و لیسیدن آن امتیاز ۲.
  - ۴) گاز گرفتن پای دردناک، امتیاز ۳.
- امتیازها در طول ۶۰ دقیقه به صورت ۱۱ بلوک ۵ دقیقه ای محاسبه گردید، درجه شدت درد از تقسیم جمع کلیه امتیازهای ثبت شده در طی ۵ دقیقه (۳۰۰ ثانیه) طبق فرمول زیر بدست می آید:

$$\text{Pain score} = 0T_0 + 1T_1 + 2T_2 + 3T_3 / 300 \text{ sec}$$

$T_0$ ،  $T_1$ ،  $T_2$ ،  $T_3$  تعداد ۱۵ ثانیه هایی است که حیوان در یک دوره ۵ دقیقه ای بترتیب رفتارهای شماره ۱، ۲، ۳، ۴ را نشان می دهد [۴۰].

بررسی اثر ضد اضطرابی: در این مرحله از ۴۲ سر موش صحرایی در ۶ گروه ۷ تایی استفاده شد. عصاره گیاه مذکور با دوزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی

کلسترول تام، LDL را کاهش و سطح HDL را افزایش داده است [۱۱]. همچنین گزارش شده که عصاره این گیاه توانایی القا روند آپوپتوز را در لنفوسیت دارا است [۱۳]. لیمون و آلفا ترپینول بعنوان مهمترین ترکیبات ضد دردی موجود در عصاره این گیاه معرفی گردیدند [۱۶].

با توجه به وجود ترکیبات متعدد دارویی بخصوص مونو ترپین ها در گونه های این جنس و اثرات متفاوت و متنوع دارویی که بصورت تجربی به اثبات رسیده و یا در طب سنتی به آن اشاره شده و نیز با توجه به این که *D. polychaetum* مختص منطقه جغرافیایی ایران و آن هم کرمان است و بصورت سنتی برای تسکین درد، ضد نفخ و درد دل بکار می رود ما بر آن شدیم که اثرات ضد دردی و ضد اضطرابی عصاره و اسانس گیاه مزبور را بررسی کنیم.

## مواد و روش ها

گیاه *D. polychaetum* از منطقه هزار شهرستان بردسیر جمع آوری و پس از تأیید گیاه شناس، نمونه در هرباریوم خشک و سپس اسانس و عصاره آماده گردید. از ۱۰۰ گرم از گیاه به مدت ۲ ساعت با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) به روش هیدروستیلیشن اسانس گیری انجام گرفت. برای تهیه عصاره نیز ۱۰۰ گرم از سر شاخه های گلدار گیاه را آسیاب کرده و به مدت ۴۸ ساعت سه بار با متانول ۸۰ درصد خیسانده و حاصل را پس از صاف کردن با دستگاه روتاری در حرارت ۴۰ درجه سانتی گراد تا حجم یک پنجم تغلیظ و عصاره با دستگاه فریز درایر کاملاً خشک کرده و وزن به دست آمده را به وسیله ترازوی دیجیتال محاسبه و محلول آن را در نرمال سالین با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر (محلول استوک) تهیه، از این محلول غلظت های مورد نظر ساخته شد.

برای تهیه محلولی با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم، ۰/۵ میلی لیتر از محلول استوک را با نرمال سالین به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده و همچنین برای محلولی با دوز ۰/۷۵، ۷۵ میلی لیتر محلول استوک و برای تهیه محلولی با دوز ۱/۱۰۰ میلی لیتر از محلول استوک و برای دوز ۲/۲۰۰ میلی لیتر از محلول استوک را برداشته و با نرمال سالین به حجم ۱۰ میلی لیتر

post-hoc انجام گرفت و سطح معنی دار  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

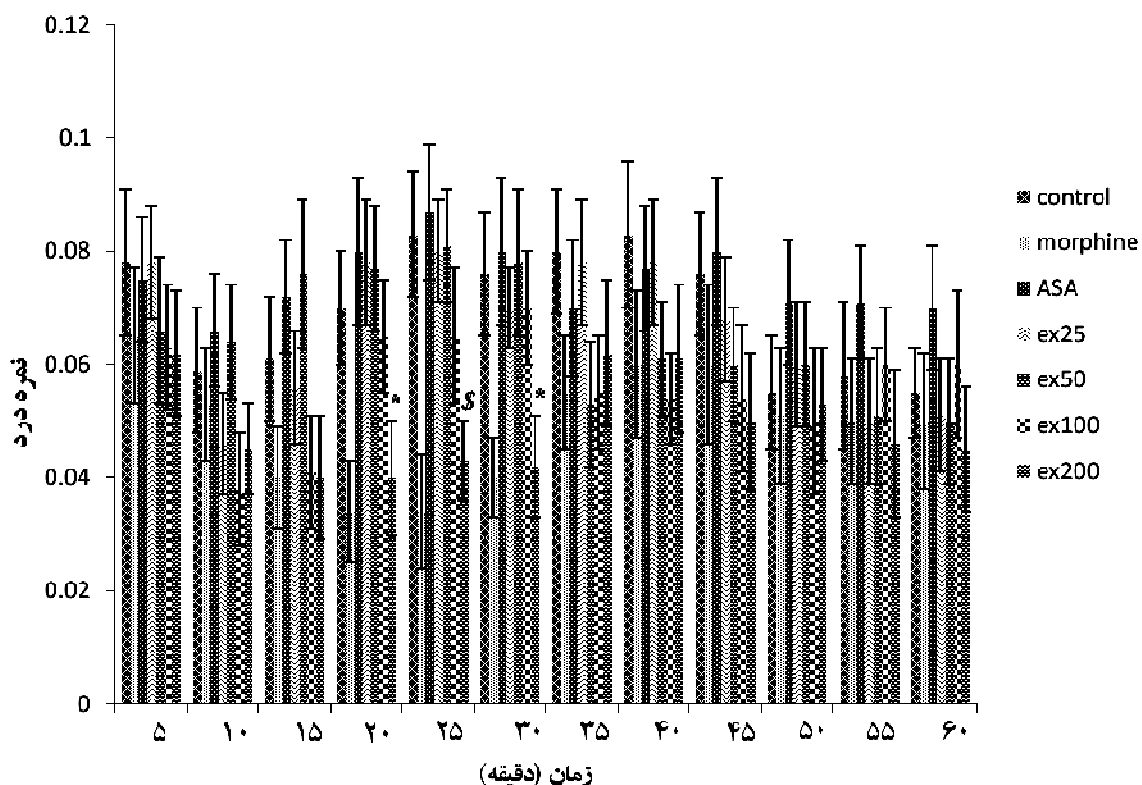
### یافته ها

بررسی اثر ضد دردی: بررسی اثر ضد دردی *bornum* در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg نشان داد که عصاره گیاه با دوز ۲۰۰ mg/kg در مقایسه با گروه کنترل و گروه دریافت کننده ASA در ۲۵، ۳۰ و ۴۰ دقیقه (شکل ۱). بررسی اثر ضد دردی متفاوت می باشد (شکل ۱). بررسی اثر ضد دردی دوزهای متفاوت اسانس گیاه *D. polychaetum bornum* در دوزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg در مقایسه با گروه کنترل و گروه دریافت کننده مرفین و ASA حاکی از هیچ گونه اختلاف معنی داری می باشد (شکل ۲).

به موش های صحرایی تزریق شد. هر دوز ۳۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش در دستگاه ماز بعلاوه ای شکل مرتفع (EPM) تزریق می شد و اثر ضد اضطرابی در EPM با دیازپام با دوز ۱ mg/kg مقایسه گردید.

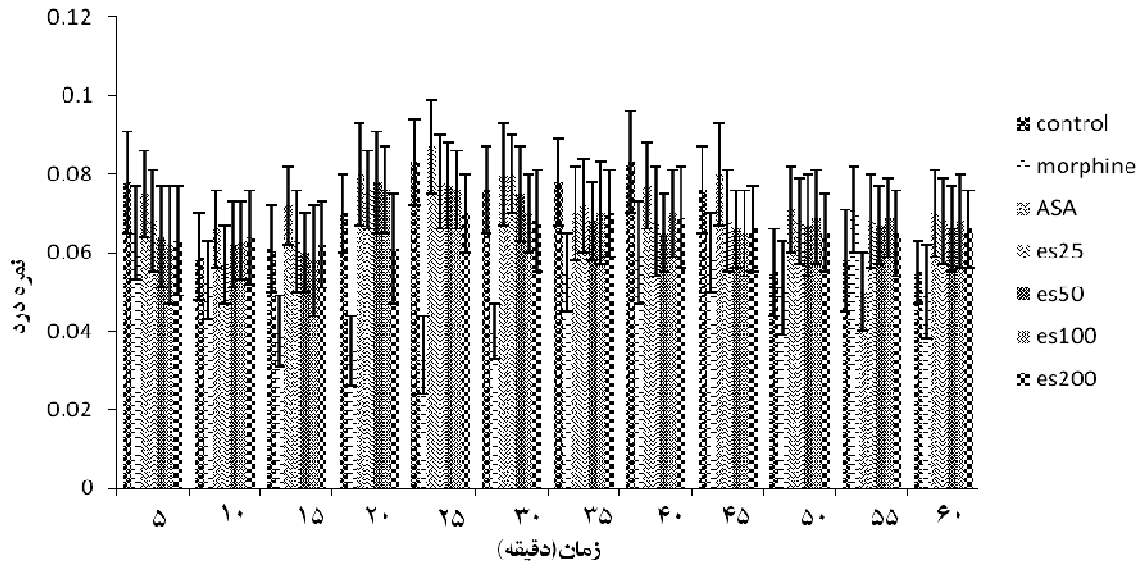
EPM برای مطالعه اضطراب در جوندگان از اهمیت و اعتبار بالایی برخوردار است. در این روش شاخص های متعددی سنجیده شد که شامل: ۱- تعداد ورود به بازوی بسته، ۲- مدت زمان ماندن در بازو های بسته، ۳- تعداد ورود به بازوی باز و ۴- مدت زمان ماندن در بازو های باز. بعد از اتمام مدت آزمایش حیوان از ماز خارج و دستگاه با پنبه و الکل تمیز می شود. منظور از ورود به بازوها هنگامی است که هر چهار پای حیوان در بازوی مورد نظر قرار گیرد همچنین مربع مرکزی جز هیچ کدام از بازو ها محسوب نمی شود [۱۹].

تجزیه و تحلیل آماری داده ها: داده ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  ثبت شده است. محاسبه آماری جهت وجود اختلاف معنی دار میان گروههای آزمایشی به روش t-test یا آنالیز واریانس (ANOVA) و به دنبال آن Tukey

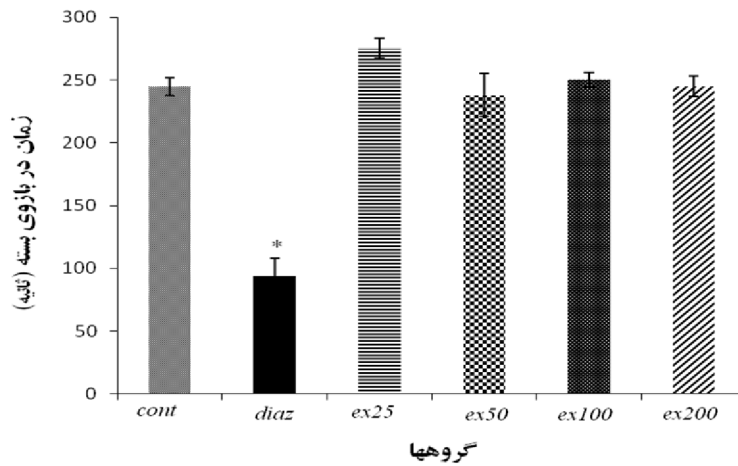


شکل ۱- اثرات دوزهای مختلف عصاره گیاه مفرو بر درد در تست فرمالین در مقایسه با اسپرین (ASA)، مرفین و کنترل. همانطور که از نمودار بر می آید غلظت ۲۰۰ mg/kg عصاره در مقایسه با کنترل و ASA در زمانهای ۲۰، ۲۵ و ۳۰ دقیقه تفاوت معنی داری نشان می دهد

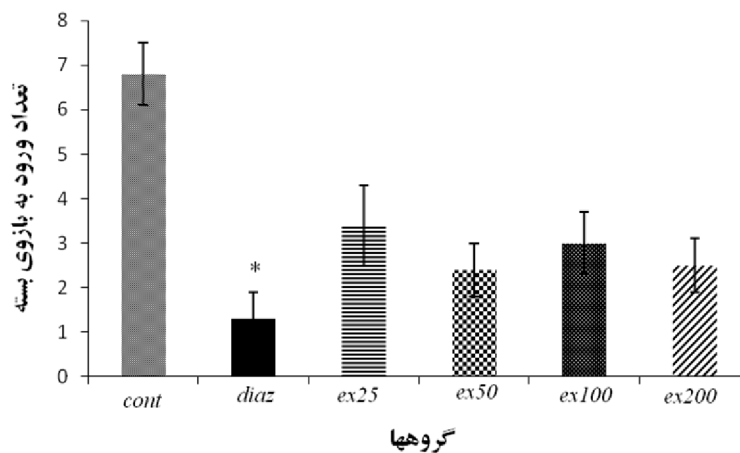
$^{\#}P < 0.05$  vs control, ASA,  $^{\$}P < 0.01$  vs control, ASA



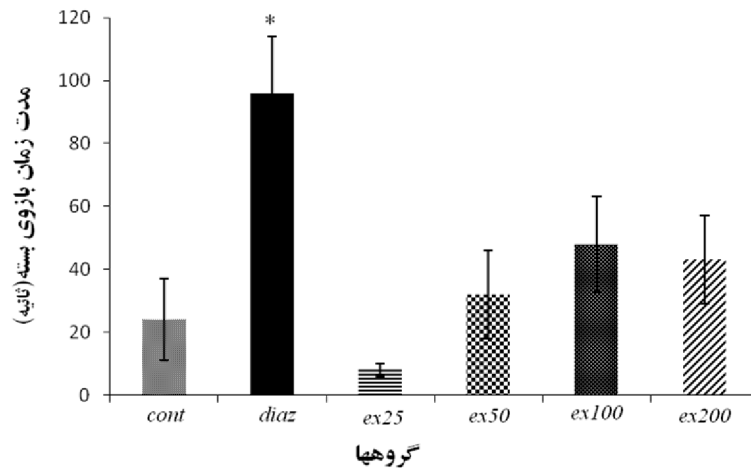
شکل ۲- اثرات اسانس گیاه مفرو بر درد در تست فرمالین در مقایسه با گروه دریافت کننده اسپرین، مرفین و کنترل، همانطور که منحنی نشان می دهد تفاوت معنی داری بین گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف اسانس گیاه و گروه های دریافت کننده مرفین و ASA وجود ندارد.



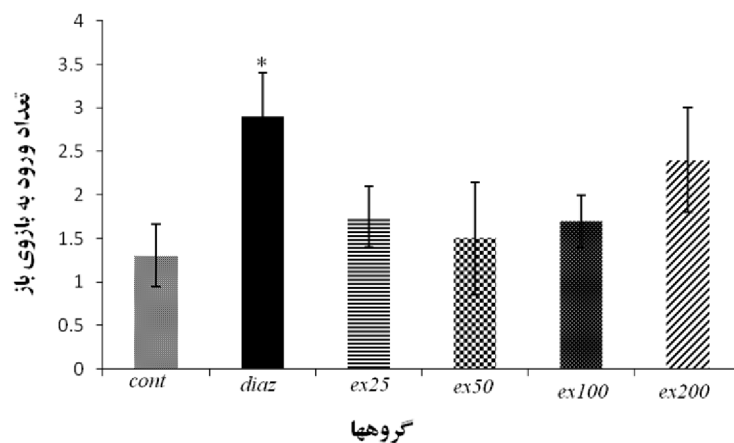
شکل ۳- اثر دوزهای مختلف عصاره گیاه مفرو (0، 25، 50، 100 و 200 mg/kg) در مقایسه با گروه دریافت کننده دیازپام و گروه کنترل در آزمایش EPM بر مدت زمان ماندن در بازوی بسته. بر اساس نتایج به دست آمده گروه دریافت کننده دیازپام اختلاف معنی داری با بقیه گروه ها نشان داده است. اما بین دوزهای مختلف عصاره گیاه مفرو و گروه کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نشد.  $P < 0.0001$  vs Control. diaz= diazepam, Cont= control.



شکل ۴- اثر دوزهای مختلف عصاره گیاه مفرو (0، 25، 50، 100 و 200 mg/kg) در مقایسه با گروه کنترل و گروه دریافت کننده دیازپام بر تعداد ورود به بازوی بسته. گروه دریافت کننده دیازپام اختلاف معنی داری را در تعداد ورود به بازوی بسته در مقایسه با گروه کنترل نشان داده است. گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره گیاه مفرو هم نسبت به گروه کنترل به تعداد دفعات کمتری وارد بازوی بسته شده اند اما این اختلاف معنی دار نبود.  $P < 0.001$  vs control. diaz = diazepam, cont= control.



**شکل ۵-** اثر روزهای مختلف عصاره گیاه مفرو (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg) نسبت به گروه دریافت کننده دیازپام و گروه کنترل در مدت زمان ماندن در بازوی باز. نتایج نشان داد که گروه دریافت کننده دیازپام اختلاف معنی داری نسبت به بقیه گروه ها نشان داده است. گروه های دریافت کننده دوز های ۱۰۰، ۵۰ و ۲۰۰ mg/kg مدت زمان بیشتری را نسبت به گروه کنترل در بازوی باز سپری کرده است اما این نتایج معنی دار نمی باشد. cont= control, diaz=diazepam. \*P<0.01 vs control.



**شکل ۶-** اثر دوزهای مختلف عصاره گیاه مفرو (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg) در تعداد ورود به بازوی باز در مقایسه با گروه دریافت کننده دیازپام و گروه کنترل. گروه دریافت کننده دیازپام اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل و گروه دریافت کننده دوز ۲۵ mg/kg عصاره گیاه مفرو نشان داد. گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره گیاه مفرو به تعداد دفعات بیشتری نسبت به گروه کنترل وارد بازوی باز شده اند اما این نتایج معنی دار نبود. diaz=diazepam. cont= control. \*P<0.01 vs control and dose of 25 mg/kg of extract.

کرده اند اما هیچ اختلاف معنی داری بین گروه ها مشاهده نشد (شکل ۴).

نتایج نمودار ۵ نشان داد که دیازپام در مقایسه با بقیه گروه ها با اختلاف معنی داری (P<0.01) مدت زمان بیشتری را در بازوی باز سپری کرده است. گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره گیاه *D. polychaetum bornum* هم نسبت به گروه کنترل مدت زمان بیشتر اما بدون معنی را در بازوی باز سپری کرده اند (شکل ۵).

بررسی فاکتور تعداد ورود به بازوی باز نشان داد که گروه دریافت کننده دیازپام نسبت به گروه کنترل و گروه دریافت کننده دوز ۲۵ mg/kg عصاره گیاه *bornum* *D. polychaetum* تعداد ورود بیشتری به بازوی باز را نشان

بررسی اثر ضد اضطرابی: بر اساس نتایج به دست آمده، حیوانات دریافت کننده دیازپام نسبت به بقیه گروه ها مدت زمان کمتری را در بازوی بسته با اختلاف معنی داری (P<0.0001) سپری کرده اند، اما بین گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره گیاه *D. polychaetum bornum* با گروه کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۳).

نتایج به دست آمده در مورد تعداد ورود به بازوی بسته نشان داد که گروه دریافت کننده دیازپام با اختلاف معنی داری (P<0.001) نسبت به بقیه گروه ها زمان کمتری را در بازوی بسته سپری کرده است. به علاوه گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره گیاه *D. polychaetum bornum* هم نسبت به گروه کنترل زمان کمتری را در بازوی بسته سپری

داد ( $P < 0.01$ ). گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره گیاه *D. polychaetum bornum* هم تعداد ورود بیشتری را به بازوی باز نسبت به گروه کنترل نشان دادند اما اختلاف معنی داری بین گروه ها مشاهده نشد (شکل ۶).

## بحث

بررسی اثر ضد دردی: در این تحقیق اثر ضد دردی عصاره آبی و نیز اسانس گیاه مفرو یا *D. polychaetum* به روش آزمون فرمالین مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد اسانس گیاه مزبور در هیچکدام از دوز های مصرفی در مقایسه با کنترل اثر ضد دردی از خود نشان نمی دهد، اما عصاره آبی گیاه در دوز ۲۰۰ mg/kg در زمانهای ۲۰، ۲۵ و ۳۰ دقیقه در مقایسه با نرمال سالین و ASA دارای اثر ضد دردی می باشد. بطور کلی در آزمون فرمالین تزریق زیر جلدی فرمالین باعث ایجاد درد دو فازی می شود، در فاز اول که شامل ۵ دقیقه است، به دلیل تحریک و افزایش تخلیه فیبرهای کف پای حیوان درد حاد (فاز ۱) پیدا می شود. در فاز دوم، درد از ۱۰ الی ۱۵ دقیقه بعد از تزریق شروع می شود و به مدت ۲۰ تا ۹۰ دقیقه طول می کشد که درد مزمن (تونیک) نامیده می شود [۳۸]. بنابراین عملکرد دارو های ضد درد برای این دو فاز متفاوت می باشد بطوری که داروهای نارکوتیک مثل مورفین غالباً به صورت مرکزی عمل کرده و بر مرحله اول درد موثرند [۹ و ۱۰]، در حالیکه داروهای ضد التهابی استروئیدی بیشتر در فاز دوم درد موثر هستند [۹]. با توجه به اینکه عصاره مفرو فقط در فاز دوم اثر ضد دردی دارد لذا به نظر می رسد عمدتاً اثر ضد دردی خود را از طریق اثر ضد التهابی بروز می دهد. در فاز اول آزمون فرمالین تغییراتی در دستگاه عصبی مرکزی موش رخ می دهد که فاز دوم پاسخ به درد را ایجاد می کند، اگر چه پدیده التهاب پاسخ مربوط به فاز دوم را ایجاد می کند. ASA باعث بی دردی واضحی در فاز دوم می شود و اثرات مختصری را در فاز اول از خود نشان می دهد، در این تحقیق ASA در فاز اول و یا دوم نتوانسته اثر ضد دردی معنی داری طبق آنچه که انتظار می رفت بروز دهد، که تنها توجیه آن از نظر ما استفاده از دوز میانگین مورد استفاده در پژوهش های مشابه می باشد [۹ و ۳۰]. بنابراین به نظر می رسد اثر ضد دردی عصاره

مفرو مربوط به ترکیبات موثر در فاز دوم می باشد، و از آنجا که اسانس گیاه مزبور اثر ضد دردی موثری در دوزهای بکار برده شده نداشت، بنابراین یا ترکیبات ضد درد موجود عمدتاً باید از نوع ترکیباتی باشند که اساساً وارد اسانس نمی گردند یا غلظت کمتری در اسانس خواهند داشت. قبلاً گزارشهای متعددی در خصوص اثر ضد دردی بعضی از مونوترپن ها [۲۶] صورت گرفته که بخشی از ترکیبات موجود در انواع این خانواده گیاهی می باشند [۳۳]. لیمونن و پریل الکل که به میزان زیادی در اسانس این گیاه وجود دارند [۲۷] اثرات ضد دردی قابل توجهی دارند [۱۶] و نیز مشخص گردیده لیمونن دارای اثرات ضد التهابی نیز می باشد [۳۲]. یکی دیگر از اثرات پریل آلدئید موجود در گیاه، اثر بلوک کنندگی کانالهای کلسیمی می باشد [۳۴] و این ترکیبات می توانند بدین روش از رهائش مواد التهابی و مواد ایجاد کننده فاز دوم درد جلوگیری به عمل آورند. از آنجا که پریل آلدئید به مقدار زیادی بیش از ۵۰ درصد اسانس گیاه را تشکیل می دهد در این خصوص بایستی تحقیقات مکمل را پایه گذاری کرد. قبلاً نیز به اثرات ضد دردی اسانس گیاه گونه دیگری از این گیاه به نام *D. kotschy* اشاره شده بود، اما نکته قابل توجه مؤثرتر بودن دوز ۲۰۰ نسبت به دوزهای دیگر است از آنجا که این دوز بالاترین دوز مورد استفاده بوده بنابراین شاید بتوان گفت علت مواد مؤثره بر درد در عصاره این گیاه در حدی نیست که در دوزهای پایین تر هم اثر را بصورت معنی دار بتوان دید [۱۶]، برای شناخت دقیق مکانیسم و ترکیب موثر بر مهار درد در این عصاره احتیاج به طراحی تحقیقات مکمل می باشد. اطلاعات فعلی در خصوص این گیاه بسیار اندک است چون به علت پراکندگی منحصر به فرد کمتر در دسترس محققین بوده اما با توجه به نتایج گزارش شده تا حدودی استفاده سنتی این گیاه در منطقه رویشی آن (هزار) به عنوان ضد اسپاسم و ضد درد دارای توجیه می باشد.

بررسی اثر ضد اضطرابی: تحقیق حاضر به بررسی اثر عصاره الکلی مفرو در کاهش اضطراب به روش تزریق داخل صفاقی در موشهای صحرایی نر پرداخته است. نتایج نشان داد که مفرو ظاهراً تعداد ورود به بازوی بسته را در EPM کاهش داده و باعث افزایش مدت زمان ورود به بازوی باز و افزایش تعداد ورود به بازوی باز نسبت به گروه کنترل شده است که این نتایج از نظر آماری نمی تواند بیانگر اثرات ضد اضطرابی گیاه



می باشد و از این طریق می تواند اثرات ضد اضطرابی خود را اعمال کند [۱]. با توجه به وجود چنین ترکیبات ضد اضطرابی بنابراین می توان نتیجه گرفت مقدار مواد موثر در دوزهای به کار رفته نتوانسته اند اثرات معنی داری را نشان دهند و شاید در همین خصوص لازم باشد نوع عصاره و نیز دوزهای متفاوت و همین طور اسانس گیاهی آن مورد ارزیابی قرار گیرد.

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی گیاه *D. polychaetum* در دوز ۲۰۰ mg/kg دارای اثر ضد دردی می باشد که احتمالاً این اثر را از طریق مهار رهایش مواد التهابی و مواد ایجاد کننده فاز دوم درد اعمال می کند که برای شناخت دقیق مکانیسم و ترکیبات موثر این گیاه بر مهار درد احتیاج به طراحی تحقیقات تکمیلی می باشد.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از مسئولین مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان که هزینه این پروژه را تامین نموده اند تشکر و قدر دانی می گردد.

## References

- [1] Award R, Arnason JT, Trudeau V, Bergeron C, Budzinski JW, Foster BC, Phytochemical and biological analysis of skullcap (*scutellaria lateriflora* l): A medical plant with anxiolytic properties. *Phytomedicine* 10 (2003) 640-649.
- [2] Bisson If, Menut CD, Alessio P, Anti-inflammatory senescence actives 5203-L molecule to promote healthy aging and prolongation of life span. *Rejuvenation Res* 11 (2008) 399-407.
- [3] Boissy A, Fear and fearfulness in animals. *Q Rev Biol* 70 (1995) 165-191.
- [4] Boon PJ, Van der boon D, Mulder GJ, Cytotoxicity and biotrans formation of the anticancer drug perillyl alcohol in Pc 11 cells and in the rat. *Toxicol Appl pharmacol* 167 (2000) 55-62.
- [5] Carvalho-freitas MI, Costa M, Anxiolytic and sedative effect of extracts and essential oil from *Citrus aurantium*

مفرو یا *Dracocephalum polychaetum bornum* باشد. لیمون که یکی از مونوترپن های موجود در گونه های مختلف جنس *Dracocephalum* است، به عنوان یک ماده ضد اضطراب [۵، ۱۲ و ۱۷] و آرام بخش [۵] شناخته می شود. لیمون دارای فعالیت بیولوژیکی مرتبط با سرکوب فعالیت حرکتی می باشد زیرا استفاده از آن در تست زمینه باز (OFT) موجب کاهش حرکات خود بخودی، بالا بردن دستها و تیمار کردن می شود [۱۷]. هم چنین لیمون میزان ورود به بازوی باز در تست EPM را در هنگام استفاده از آگونیست گیرنده 5-HT<sub>1A</sub> و آگونیست گیرنده های D<sub>2</sub> و D<sub>3</sub> و D<sub>4</sub> را افزایش می دهد [۵]. در عصاره های گیاهی که حاوی لیمون هستند اثرات ضد اضطرابی خوبی گزارش شده است [۲۸]. لوتولین نیز به عنوان یک فلاونوئید با اثر بر سیستم عصبی مرکزی دارای اثر ضد اضطرابی می باشد. وقتی بدانیم که لوتولین یک مهار کننده موثر MAO بخصوص MAO-A نسبت به B است [۱۸] مطالعه مکانیسم اثر ضد اضطرابی آن اهمیت زیاد و جدی پیدا می کند. گزارش شده است که فلاونوئید آکلیکال، باسیکالین (*bacicalein*) که در بعضی از جنس های این گیاه یافت شده است قادر به اتصال به جایگاه بنزودیازپینی گیرنده گابای A

1. *Biol Pharm Bull* 25 (2002)1629-33.

- [6] Chevalier A, *The encyclopedia of medicinal plants*. London-Dorling, Kin dereseley book, 1996, p. 171-173.
- [7] Dastmalchi K, Dorman HJD, Kosar M, Hiltunen R, Chemical composition and in vitro anti-oxidant evaluation of the water soluble moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* l) extract. *Food science and technology* 40 (2007) 239-248.
- [8] Dastmalchi K, *Dracocephalum moldavica* l and *Melissa officinalis*: *Chemistry and bioactivity relevant in Alzheimer disease therapy*. Helsinki, 2008.
- [9] Dray A, Urban L, New pharmacological strategies for pain relief. *Pharmacol toxicol* 36 (1996) 253-260.
- [10] Dubuisson D, Dennis SG, The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphin, meperdin and the brain stem stimulation in rats cats. *Pain* 4 (1997)161-4.
- [11] Ebrahim Sajadi S, Movahedian Atar AM, Yektaian A, Antihyperlipidemic effect of hydroalcolic extract and

- polyphenolic fraction from *Dracocephalum kotschy* boiss. **Pharm. Acta helv.** 73 (1998) 167-170.
- [12] Faturi CB, Leite JR, Barreto Alves P, Canton AC, Teixeira-Silva F, Anxiolytic-effect of sweet orange aroma in Wistar rats. **Neuro-psychopharmacology & Biopsychiatry** 34 (2010) 605-609.
- [13] Faham N, Javidnia K, Bahmani M, Amin Ghofran Z, Calycotrian. An immunoinhibitory compound from extract of *Dracocephalum kotschy*. **Phytother Res** 22 (2008) 1154-1158.
- [14] Fukumoto S, Sawasaki E, Okuyama M, Miyake Y, Okogosi H, Flaver component of monoterpenes in citrus essential oils enhances the release of monoamines from rat brain slices. **Nur neurosci** 9 (2006) 73-80.
- [15] Ghafghazi T, Samsam Sheriat H, Movahedian A and Purmoghadam M, A study on the morphology, phytochemistry, pharmacology and clinical activities of *Dracocephalum kotschy* Boiss. **4<sup>th</sup> seminar on medicinal plants**, Tehran medical sciences university, Tehran (1990).
- [16] Golshani S, Karamkhani F, Monsef-Esfahani HR and Abdullah M, Antinociceptive effect of essential oil of *Dracocephalum kotschy* in the mouse writhing test. **J Pharmaceut Sci** 7 (2004) 76-79.
- [17] Gurgano AC, Celeso AR, Cesta AL, Costa M, Essential oils from *Citrus reticulata* reduce anxiety and prolong ether sleeping time in mice. **Tree and forestry science and biotech** 2 (2008) 111-114.
- [18] Han XH, Hong SS, Hwang JS, Lee MK, Hwang BY, Ro JS, Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. **Arch Pharm Res** 30 (2007) 13 – 17.
- [19] Handly SL, Meib Lane JW, An assessment of the elevated plus maze for studying anxiety and anxiety modulating drugs. **Pharmacol toxicol meth.** 29 (1993) 119-138.
- [20] Hosseini MS, El-Sherbeng SE, Khalil MY, Naghib NY, Aly SM, Growth character and chemical constituents of *Dracocephalum moldavica* L. plants in relation to compost fertilizer and planting distance. **Scientia Horticulture** 108 (2006) 322-337.
- [21] Jordan AD, Kordik CP, Reitz AB, Sanphillipo PJ, Novel anxiolytic agents-1994 to present. **Expert opin therape, patents** 6 (1994) 1047-1060.
- [22] Kakasy AZ, Lemberkovic E, Kursinszki L, Janicsak G and Szoek E, Data to the phytochemical evaluation of moldavian dragon head (*Dracocephalum moldavica* L., lamiaceae). **Herba polonica** 3 (2004) 111-119.
- [23] Kaplan HI, Sadok BJ, **Comprehensive text book of psychiatry**. 8<sup>th</sup> edition. New York. Lippincott Williams and Wilkins, 2005.
- [24] Komari T, Fujiwara R, Tanida M, Nomura J, Potential anti-depressant effect of lemon odor in rats. **Eur Neurophysiopharmacol** 5 (1995) 477-480.
- [25] Li JB, Tian X, Analysis of the essential oil of *Dracocephalum moldavica* L. **zhongguo zhong yao za zhi** 26 (2003) 697-698.
- [26] Matsuda H, Yoshikawa M, Iinuma M, Kubo M, Antinociceptive and anti-inflammatory activities of limonin isolated from the fruits of *Evodia rutaecarpa* var. *bodinieri*. **Planta Med** 64 (1998) 339-342.
- [27] Mehrabani M, Roholahi S, Fromadi AR, Evaluation the phytochemical effects of *Dracocephalum polychaetum Bornm.* **J of Med Plants** 16 (1384) 36-42.
- [28] Murakami S, Matsura M, Satou T, Hayashi S, Koike K, Effect of the essential oil from leaves of alpine zeruon on behavioral alteration in mice. **Nat Prod Commun** 4 (2009) 119-132.
- [29] Naghibi F, Mosaddegh M, Mohamadi Motamed S, Labiatae family in folk medicine in Iran, from ethnobiology to pharmacology. **Iranian J of pharmaceutical research** 2 (2005) 63-79.
- [30] Ohkubo T, Shibata M, Takahashi H, Inoki R, Roles of substance P and somatostatin on transmission of nociceptive information induced by formalin in spinal cord. **J Pharmacol Exp Ther** 252 (1990) 1161-1168.
- [31] Omolo M, Okinyo D, Ndiege IO, Fumigant toxicity of the essential oils of some African plants against *Anopheles gambiae* s.s. **phyto medicine** 11 (2005) 241-246.
- [32] Parlattan A, Saricoban C, Ozcan MM, Chemical composition and antimicrobial activity of the extracts of kefir cumin (*Lactuca trilobum* L.) fruits from different regions. **Int J food Sci Nutr** 26 (2008) 1-11.
- [33] Saeidnia S, Gohari AR, Hadjiakhoondi A, Shafiee A, Bioactive compounds of the volatile oil of *Dracocephalum kotschy*. **Z natureforsch** 62 (2007) 793-796.
- [34] Saeidnia S, Gohari AR, Uchiyama N, Two new monoterpenes glycosides and trypanocidal terpenoids from *Dracocephalum kotschy*. **Chem.**

- Pharm. bull* 10 (2004) 1149-1150.
- [35] Takagi S, Goto H, Shimada Y, Vasodilative effect of perilaldehyde on isolated rat aorta. *Phytomedicine* 11(2005) 333-337.
- [36] Vanamala J, Leonardi T, Patil BS, Suppression of colon carcinogenesis by bioactive compounds in grapefruit. *Carcinogenesis* 27 (2006) 1157-1165.
- [37] Velag G, *Herbal medicines*. Ghoghnoos publisher, Tehran, 1992, p. 116.
- [38] Viana GS Do, Vale TG, Furtado EC, Somotos JR JG, Central effect of citral, myrecene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippa Alba* (mill) n.e. brown. *Biol Pharm Bull* 23(2000) 1314-1317.
- [39] Windle R, Shanks N, Lightman S, Ingram C, Central oxitocin administration reduces stress-induced corticosterone release and anxiety behavior in rats. *Endocrinology*, 138(1997) 2829-2834.
- [40] Zargari A, *Herbal Medicine*. Tehran University publisher, 1991, p. 130-132.