

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

18975



دانشگاه علوم پزشکی کرمان  
دانشکده داروسازی و علوم دارویی  
مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس  
پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

بررسی اثر ضددردی و ضد التهابی عصاره متانولی پرکوله دانه زنیان با  
تستهای هات پلیت، فرمالین و پلتیسموگرافی در موش NMRI

توسط:

نیما رحیمی

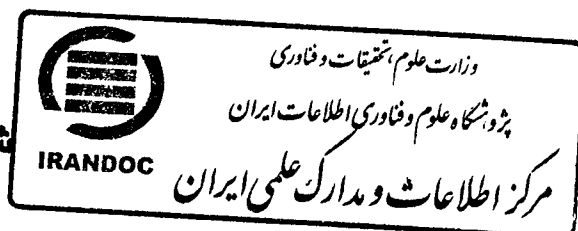
به راهنمایی:

دکتر محمود رضا حیدری

۱۴۹۷۴۷

۱۳۸۹/۱۰/۱۳

شماره پایان نامه: ۵۷۲



تابستان ۱۳۸۹

تقدیم به:

باغبانان مهربان و صمیمی باغ وجودم که بقای سایه لطفشان بر سرم را همواره از خداوند  
متعال مسئلت دارم.

**مهربانترینم پدرم**

وجود استوار و پر مهری که سرشار از شور و نشاط و حیات است، مویش به سفیدی  
گرایید تا در صفحه‌ی روزگار روی سپید بمانم.

**عزیزترینم مادرم**

او که لبانش بارگاه دعاست و شبنم نگاهش بدرقه‌گر همیشگی راهم و وجودش برایم همه  
عشق است، با دلی مالا مال از عشق و محبت بر پایش بوسه می‌زنم.

**عزیزانم: شهاب، سیما، حلیمه، زهرا، رضوان**

که وجود پر مهرشان مایه دلگرمی و امید است و آینده روشن آنها تجلی گاه ارزوهای من  
است.

**دایی عزیزم و خانواده ایشان**

که لطفشان، همیشه در ذهنم باقی می‌ماند و همیشه مدیون زحماتشان هستم.

## دوستان خوبم در ورودی ۸۳

جابر، میلاد، مهدی، حسین، امین، بهزاد، میلاد، سعید، یحیی، رضا، محمدعلی، امیر، مسعود،  
مصطفی، امین، سروش، مهدی، رضا، نسکی، رخشنده، خداوردی، زارع شاهی، رامیار، محرم  
خانی، زهدی، ملکیان، صادقی زاده

و دوستان عزیزم

بیشرن، مهدی، محمود، فرامرز، حمید

که یادشان همیشه در ذهنم باقی می ماند

و ارزوی موفقیت بیکران برایشان دارم.

با سپاس از

استاد بزرگوارم دکتر محمود رضا حیدری

که در تمامی مراحل این تحقیق صمیمانه یاریم نمود.

با تشکر از زحمات اساتید ارجمند دوران تحصیل بویژه

دکتر دریایی، دکتر تقیبی، خانم دکتر مهربانی، خانم دکتر شریفی فر، دکتر امیر

حیدری، دکتر خزائلی، دکتر پرداختی، دکتر رضائی فر، دکتر حسن زاده، دکتر

سهروردی، دکتر ماندگاری، دکتر مصحفی

با تشکر از کارکنان محترم کتابخانه، خانم رفیعی پور، خانم قضوی و آقای زمانی

با تشکر از کارکنان محترم آموزش، خانم‌ها عظیمی و سپهری

و تمامی پرسنل زحمتکش دانشکده داروسازی

## خلاصه

مقدمه: یکی از اهداف تحقیقات بیولوژیکی یافتن موادی جهت کاهش و تسکین درد می باشد. در این راستا استفاده از گیاهان دارویی اهمیت دارد. گیاه زنیان از خانواده چتریان در طب سنتی ایران به عنوان یک ماده تسکین دهنده معرفی شده و در دردهای نروپاتیک و سردرد استفاده می شود. هدف از این تحقیق بررسی اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره متانولی دانه زنیان می باشد.

روش کار: عصاره متانولی دانه زنیان با روش پرکوله تهیه شد و سپس خشک و تغلیظ گردید. سپس دوزهای ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ mg/kg از عصاره متانولی در حلال نرمال سالین آماده شد و بصورت داخل صفاقی به موش ها تزریق گردید. اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره متانولی دانه زنیان با تست های فرمالین، هات پلیت و کاراگینین مورد ارزیابی قرار گرفت. ایسوپروفن با دوز ۲۰۰ mg/kg و مرفین با دوز ۲/۵ mg/kg به عنوان کنترل مثبت و نرمال سالین به مقدار ۱۰ ml/kg به عنوان کنترل منفی استفاده شدند.

نتایج: نتایج تست فرمالین نشان داد که هیچ یک از دوزهای عصاره متانولی اثر ضد دردی مناسبی در فاز حاد ایجاد نکرد. اما در فاز مزمن همه دوزهای عصاره متانولی، در مقایسه با گروه کنترل منفی اثر ضد دردی مناسبی ایجاد کرد و دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره موثرترین دوز بود که به میزان ۵۸/۲۴٪ در فاز مزمن درد را مهار نمود. نتایج حاصل از تست هات پلیت نشان داد که هیچ یک از دوزهای عصاره متانولی، در تمام زمان های مورد بررسی و در مقایسه با گروه های کنترل اثر ضد دردی مناسبی ایجاد نداشتند.

نتایج تست کاراگینین نشان داد که دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره متانولی در مقایسه با گروه کنترل به طور موثری اثر ضد التهابی داشت و بطوریکه به میزان ۴۱/۷۵٪ در فاز حاد و ۴۵/۲۲٪ درصد در فاز مزمن

---

التهاب را مهار کرد. دوزهای ۱۵۰ و ۲۰۰ mg/kg عصاره باعث ایجاد خواب آلودگی و بی حالی در موش‌ها می شد.

بحث و نتیجه گیری : براساس یافته‌های مطالعه عصاره متانولی دانه زنیان درد را به طور موثری در فاز التهابی کاهش می دهد و همچنین اثر ضد التهابی مناسبی ایجاد می کند. که ممکن است به خاطر وجود روغن‌های ضروری یا ترپن‌های موجود در آن باشد که اثرات ضد دردی و ضد التهابی این ترکیبات گزارش شده است.

کلمات کلیدی : زنیان، عصاره متانولی ، ضد دردی، ضد التهابی، تست فرمالین ، تست کاراگینین، تست هات پلیت.

---

**Abstract**

**Introduction:** One of the objectives of biological investigations is to find substances which are involved in relieving pain. In this regard, application of medicinal plants is of high importance. *Trachyspermum copticum* L. from Umbelliferae family has been introduced as an analgesic agent in Iranian traditional medicine and it is used to relieve neuropathic pain and headache. Study of anti-inflammatory and antinociceptive effects of methanolic extract of *Trachyspermum copticum* L. seeds is the devise of this research

**Methods:** Methanolic extract of *Trachyspermum copticum* L seeds was prepared using percolation method and it was concentrated to dryness. Then doses of 10, 25, 50, 100, 150, and 200 mg/kg of the methanolic extract were prepared in normal saline and it was injected *via* intraperitoneal to mice. The analgesic and anti-inflammatory effects of the extract were evaluated by Formalin, Hotplate and Carrageenan tests. Ibuprofen, 200 mg/kg, and morphin, 2.5 mg/kg, were used as positive controls and normal saline 10 ml/kg, as negative controls.

**Results:** The result of Formalin test showed that none of doses applied had antinociception effect in acute phase, but all of doses induced significant antinociception and anti-inflammation compared to negative control group in chronic phase and dose of 100 mg/kg was the most effective one with 58.24% inhibition of pain in chronic phase. The result of Hotplate test showed that, none of applied doses had analgesic effect in all studied times in comparison with controls. The result of Carrageenan test showed that the dose of 100 mg/kg of the methanolic extract induced significant anti-inflammation effect compared to control groups so it that could



---

inhibited inflammation with levels of 41.75% in acute phase and 45.22% in chronic phase.

Also, the doses of 150 and 200 mg/kg, induced sedation and lethargy in mice.

**Conclusion:** According to the findings this study, the methanolic extract of *Trachyspermum copticum* L. significantly reduced pain sensation in chronic phase and exhibited significant anti-inflammatory effect. This may be due to its essential oil or terpenes which has been reported to have analgesic and anti-inflammatory effects.

**Key words:** *Trachyspermum copticum* L, Methanolic extract, Antinociception, Anti-inflammation, Formalin test, Carageenan test, Hotplate test

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
I.....	خلاصه فارسی.....
III.....	خلاصه انگلیسی.....
V.....	فهرست مطالب.....

## فصل اول: مقدمه

۲.....	۱-۱- پیشگفتار و هدف.....
۴.....	۱-۲- زنیان.....
۵.....	۱-۲-۱- مشخصات کلی گیاه و محل رویش.....
۵.....	۱-۲-۲- اندام دارویی و ترکیبات شیمیایی.....
۶.....	۱-۲-۳- موارد مصرف در طب سنتی.....
۶.....	۱-۲-۴- اثرات فارماکولوژیک.....
۷.....	۱-۲-۵- شکل گیاه زنیان.....
۸.....	۱-۳- التهاب.....
۹.....	۱-۴- درد.....
۹.....	۱-۴-۱- تعریف درد.....
۹.....	۱-۴-۲- انواع درد و کیفیت آنها.....
۹.....	۱-۴-۳- محرکهای ایجاد درد.....

- ۱-۴-۴-گیرنده های درد و تحریک آنها ..... ۱۰
- ۱-۴-۵- فیبرهای انتقال دهنده درد ..... ۱۰
- ۱-۴-۶- درک درد ..... ۱۱
- ۱-۴-۷- مکانیسم های کنترل مرکزی حس درد ..... ۱۱
- ۱-۵-۰- داروهای ضد درد ..... ۱۲
- ۱-۵-۱- داروهای مسکن اپیوئیدی ..... ۱۲
- ۱-۵-۲- داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs) ..... ۱۴

### فصل دوم: مواد، دستگاهها و روشها

- ۲-۱-۱- مواد مورد استفاده ..... ۱۶
- ۲-۲- دستگاههای مورد استفاده ..... ۱۷
- ۲-۳- روش کار ..... ۱۷
- ۲-۳-۱- تهیه عصاره گیاهی ..... ۱۷
- ۲-۳-۱-۱- انتخاب حلال ..... ۱۷
- ۲-۳-۱-۲- روش عصاره گیری ..... ۱۸
- ۲-۳-۲- تهیه محلولهای تزریقی عصاره ..... ۱۹
- ۲-۳-۳- حیوان مورد آزمایش و شرایط آزمایشگاهی نگهداری حیوانات ..... ۱۹
- ۲-۳-۴- آزمونهای فارماکولوژی جهت بررسی اثرات ضد دردی و ضد التهابی ..... ۲۰
- ۲-۳-۴-۱- تست فرمالین Formalin test ..... ۲۰
- ۲-۳-۴-۲- آزمون Hot Plate ..... ۲۱

۲۲..... Carageenan test تست کاراگینین ۳-۴-۳-۲

۲۴..... آنالیز آماری ۴-۲

### فصل سوم: نتایج

۱-۳- مقایسه اثر ضددردی دوزهای مختلف عصاره پرکوله زنیان با گروه حامل در فاز حاد به

روش فرمالین..... ۲۶

۲-۳- مقایسه اثر ضد درد و ضد التهابی دوزهای مختلف عصاره پرکوله زنیان با گروه حامل در فاز

مزمن به روش فرمالین..... ۲۶

۳-۳- مقایسه پاسخ ضد دردی مؤثرترین دوز عصاره پرکوله زنیان با مرفین و ایبوپروفن به روش

فرمالین در فاز حاد..... ۲۷

۴-۳- مقایسه پاسخ ضد دردی و ضد التهابی مؤثرترین دوز عصاره پرکوله زنیان با مرفین و

ایبوپروفن به روش فرمالین در فاز مزمن..... ۲۷

۵-۳- مقایسه اثر ضد التهابی دوزهای مختلف عصاره پرکوله زنیان با گروه حامل با تست کاراگینین

..... ۲۷

۶-۳- مقایسه اثر ضد التهابی مؤثرترین دوز عصاره پرکوله زنیان با مرفین و ایبوپروفن با تست

کاراگینین..... ۲۸

۷-۳- مقایسه پاسخ ضد دردی مؤثرترین دوز عصاره پرکوله زنیان با مرفین و ایبوپروفن به روش

Hot plate..... ۲۸

نمودار ۱-۳- مقایسه درصد مهار درد دوزهای مختلف عصاره پرکوله در فاز حاد تست فرمالین

..... ۳۰

نمودار ۲-۳- مقایسه درصد مهار درد دوزهای مختلف عصاره پرکوله زنیان در فاز مزمن تست

فرمالین..... ۳۱

نمودار ۳-۳- مقایسه درصد مهار درد موثرترین دوز عصاره پرکوله زنیان با مرفین و ایپوپرفن در

فاز حاد تست فرمالین ..... ۳۲

نمودار ۴-۳- مقایسه درصد مهار درد موثرترین دوز عصاره پرکوله زنیان با مرفین و ایپوپرفن در فاز

مزمن تست فرمالین ..... ۳۳

نمودار ۵-۳- مقایسه درصد مهار التهاب دوزهای مختلف عصاره پرکوله زنیان، یک ساعت پس از

تزریق کاراگنین..... ۳۴

نمودار ۶-۳- مقایسه درصد مهار التهاب دوزهای مختلف عصاره پرکوله زنیان سه ساعت پس از

تزریق کاراگنین..... ۳۵

نمودار ۷-۳- مقایسه اثر ضد التهابی موثرترین دوز عصاره پرکوله زنیان با مرفین و ایپوپرفن یک

ساعت پس از تزریق کاراگنین..... ۳۶

نمودار ۸-۳- مقایسه اثر ضد التهابی موثرترین دوز عصاره پرکوله زنیان با مرفین و ایپوپرفن سه

ساعت پس از تزریق کاراگنین..... ۳۷

نمودار ۹-۳- مقایسه حداکثر اثر ضد دردی عصاره پرکوله زنیان با مرفین و ایپوپرفن در تست

Hotplate..... ۳۸

## فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۴-۱- بحث ، نتیجه گیری و پیشنهادات..... ۳۹

## فصل پنجم: منابع

منابع..... ۴۸

# فصل اول :

مقدمه

## ۱-۱- پیشگفتار و هدف

درد اصولاً یکی از مکانیسم‌های محافظ بدن و نشانه عمومی اکثر بیماری‌هاست و زمانی ایجاد می‌شود که بافت‌های بدن تخریب شوند و بدین ترتیب موجب واکنش شخص برای دفع محرک درد زان می‌شود (۱). لذا بشر از آغاز پیدایش به فکر چاره جویی و مقابله با درد بوده است.

التهاب نیریک پاسخ محافظتی و طبیعی است که به مجموعه‌ای از تغییرات بافتی گفته می‌شود که بافت در برابر آسیب ناشی از عوامل میکروبیولوژیک، ضربه، مواد شیمیایی و هر پدیده‌ای دیگر از خود نشان می‌دهند (۲).

محققان و پزشکان همواره به دنبال راهی برای غلبه بر درد بوده‌اند، اگر چه یافتن علت درد بسیار مهم است، اما قبل از هر چیز شخص به دنبال تسکین درد می‌باشد. استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماریها، التیام زخم‌ها و تخفیف دردها به زمان‌های اولیه پیدایش انسان بر می‌گردد. اگر چه به کارگیری گیاهان دارویی برای درمان بیماریهای مختلف از جمله تخفیف درد از دوران باستان تاکنون رایج بوده است. در قرون جدید با توجه به سنتز وسیع داروهای شیمیایی توجه کمی به گیاه درمانی شده است. امروزه از داروهای ضد درد و ضد التهاب صنعتی، جهت کاهش درد و التهاب استفاده می‌شود که با احتمال بروز عوارض جانبی از جمله ایجاد وابستگی ایجاد زخم‌های گوارشی و عوارض دیگر همراه است. با توجه به این عوارض نامطلوب، تحقیقات برای کشف داروهایی که علاوه بر داشتن کارایی مطلوب، عوارض کمتری نیز داشته باشند. انجام شده و مقالات متعددی به چاپ رسیده است (۳-۶).



در بررسی منابع طلب سنتی به اثرات ضد دردی بسیاری از گیاهان داروئی اشاره شده است. گیاه زنیان از جمله این گیاهان مورد استفاده در طب سنتی می‌باشد. برای این گیاه اثرات ضد درد روماتیسم و دردهای نورولوژیک ذکر شده است (۷-۹).

در بررسی مقالات پیرامون اثرات ضددردی عصاره‌ی زنیان مطالعه‌ای بر روی دردهای فازیک صورت گرفته که در این مطالعه از عصاره‌ی اتانولی میوه‌ی زنیان با دوز  $10 \text{ mg/kg}$  و تست Tail flick به عنوان یک تست استاندارد ایجاد کننده‌ی درد استفاده شده است. که اثر ضد دردی مناسبی نشان داده است (۱۰).

همچنین اثرات اسانس میوه‌ی این گیاه بر درد بررسی شده است که نشان دهنده‌ی اثر ضددردی این گیاه می‌باشد. که در این مطالعه از دوز  $20 \text{ ml/kg}$  اسانس میوه‌ی زنیان و از تست فرمالین به عنوان تست استاندارد ایجاد کننده‌ی درد استفاده شده است (۱۱) و همچنین در مطالعه‌ی دیگر اثر ضدالتهابی عصاره‌ی اتانولی و آبی زنیان بررسی شده است که در این مطالعه از تست کاراگینین به عنوان تست استاندارد ایجاد کننده‌ی التهاب و عصاره‌ی اتانولی و آبی میوه‌ی زنیان با دوز

$100 \text{ mg/kg}$  به صورت خوراکی استفاده شده است. که اثر ضد التهابی مناسبی نشان داده است (۱۲).

همانطور که بیان شد گرچه مطالعات و بررسی‌هایی در مورد اثر ضد دردی گیاه زنیان انجام شده اما در این مطالعات و بررسی‌ها صرفاً از یک دوز استفاده شده که توجیهی برای انتخاب آن ذکر نشده لذا هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی دوزهای مختلف عصاره متانولی میوه گیاه زنیان جهت مشخص

نمودن دوزی که حداکثر اثر ضد دردی را دارد می‌باشد (Dose – Response).

لذا با توجه به دوزهای کار شده در تحقیقات قبلی که عصاره‌ی اتانولی و اسانس میوه‌ی زنیان مورد استفاده قرار گرفته (۱۰-۱۲) در این تحقیق عصاره‌ی متانولی میوه زنیان با دوزهای مختلف در محدوده ۱۰-۳۰۰ mg/kg و با استفاده از تست‌های فرمالین، هات پلیت و کاراگینین مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به نتایج حین تحقیق دوزهای دیگر انتخاب شدند تا دوزی که بهترین اثر ضددردی را ایجاد می‌نماید، مشخص شود.

### ۱-۲- زنیان (*Trachyspermum copticum* L)

این گیاه براساس طبقه بندی گیاهشناسی دارای جایگاه زیر می‌باشد:

سلسله (kingdom): Plante

شاخه (Division): MagnolioPhyta

رده (Class): Magnoliopsida

راسته (order): Apiales

خانواده (Family): Apiaceae

جنس (Genus): *Trachyspermum*

گونه (Species): *T. copticum*

این گیاه با نام *Carum Copticum* نیز شناخته میشود اما نام علمی اصلی آن

*Trachyspermum copticum* است (۹، ۱۳، ۱۴).

### ۱-۲-۱- مشخصات کلی گیاه و محل رویش

زنیان گیاهی است علفی، یک ساله، بی کرک، به ارتفاع ۳۰ تا ۹۰ سانتیمتر که به حالت خودرو در نواحی شرق هند، ایران و مصر می‌روید. بعلاوه در نواحی مذکور و نقاط مختلف دیگر پرورش می‌یابد. بعلاوه در نواحی مذکور و نقاط مختلف دیگر پرورش می‌یابد. برگهائی با پهنک منقسم با بریدگیهای نازک و ظریف و گلھائی به رنگ سفید و مجتمع به صورت چتر مرکب دارد. اشعه چتر آن کوتاه، دارای طول نسبتاً مساوی و منتهی به براکته‌های باریک در محل اتصال به یکدیگر است. میوه‌اش کوچک، بیضوی، به رنگ قهوه‌ای مایل به زرد و دارای بوئی شبیه بوی تیمول است. بر روی میوه آن، ۵ خط طولی نخی شکل، به رنگ روشن‌تر و دو نوع تار نازک تک سلولی مشاهده می‌شود بطوری که بعضی از آنها کوتاه و مخروطی و برخی دیگر دارای یک قسمت متورم در انتها می‌باشند (۱۴).

### ۱-۲-۲- اندام دارویی و ترکیبات شیمیایی

قسمت مورد استفاده این گیاه، میوه آن است که زنیان نیز نامیده می‌شود. میوه گیاه دارای اسانی است که به اسانس آژوان موسوم می‌باشد. مایعی با بوی معطر و با وزن مخصوص بین ۰/۹۱ الی ۰/۹۳ است. شامل ۳۵ تا ۵۰ درصد تیمول، ۱۵ تا ۲۰ درصد سیمن، ۳۰ تا ۴۰ درصد آلفا پینن، میرسن، دیپنتن، گاما ترپینن و کارواکرول به مقدار بسیار کم است. ترکیبات شیمیایی دیگر از جمله پروتئین، چربی به میزان ۱۴/۵ درصد که شامل اسیدهای چرب میریستیک، پالمیتیک، پالمیتولئیک، استئاریک، پتروسلنیک، اولئیک، اسید لینولئیک میباشد و کاتیونها که شامل سدیم، پتاسیم، آهن، کلسیم، منیزیم، روی، مس و کبالت است (۱۷-۱۴ و ۹).

### ۱-۲-۳-موارد مصرف در طب سنتی

از گیاه زنیان در طب سنتی ایران به عنوان بادشکن، مقوی معده و همچنین در درمان اسهال، کولیک و دیس پسی استفاده می‌کرده‌اند.

همچنین از آن به عنوان ضد کرم و کاهش دهنده‌ی دردهای روماتوئید و نورولوژیک از جمله دردهای مفصلی و سردرد استفاده می‌شده است (۷۸،۱۴).

### ۱-۲-۴-اثرات فارماکولوژیک

قابلیت بلوک گیرنده‌های  $H_1$  هیستامین (۱۸) - اثر ضد سرفه (۱۹) اثر انتی کولینرژیک (۲۰).