

## دخالت احتمالی مورفین و نالوکسان در ایجاد اثر ضد دردی عصاره آبی

### مرزنجوش در موش صحرایی نر

یاسمین پهلوان<sup>۱</sup>، دکتر غلامرضا سپهری<sup>۲</sup>، محمدرضا آفرینش خاکی<sup>۳</sup>، دکتر وحید شبیانی<sup>۴</sup>، خدیجه

اسماعیل پور بزنجانی<sup>۵</sup>، بهاره پهلوان<sup>۶</sup>

<sup>۱</sup>نویسنده مسئول: کارشناسی ارشد فیزیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل و محقق مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان، کرمان، ایران

E-mail: Pahlevan2008@gmail.com

<sup>۲</sup>استاد گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان و محقق مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان، کرمان، ایران <sup>۳</sup> دانشجوی دکتری

فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران <sup>۴</sup>دانشیار گروه فیزیولوژی <sup>۵</sup>کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی

کرمان و محقق مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان، کرمان، ایران <sup>۶</sup> دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

#### چکیده

**زمینه و هدف:** از میان سیستم‌های مختلفی که در مکانیسم کنترل درد دخیل هستند، نقش سیستم اپیوئیدی در مهار درد دارای اهمیت زیادی می‌باشد. گیاه مرزنجوش در طب سنتی دارای خواص ضد دردی بوده و در برخی از مناطق ایران از جمله شمال و شمال غربی، گسترده شده است. تاکنون درباره‌ی مکانیسم دقیق اثر ضد دردی گیاه مرزنجوش گزارشی منتشر نشده است. از این رو در مطالعه حاضر، اثر تداخلی عصاره آبی مرزنجوش با آگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی (مورفین) و آنتاگونیست آنها (نالوکسان) مورد بررسی قرار گرفته است.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش صحرایی نر، با محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم، استفاده شد (هر گروه ۷ سر). موش‌ها با تزریق کنامین (۸۰ mg/kg rat) و زیلازین (۱۰ mg/kg rat) به صورت داخل صفاقی بی‌هوش شدند. کانول گذاری در ناحیه بطن چپ مغز با استفاده از دستگاه استریوتاکس و اطلس پاکسینوز انجام گرفت. جهت بی‌هوشی ۷-۵ روز به حیوانات فرصت داده شد. در مطالعه پایلوت، دوز ۳ μg/rat، i.c.v. از عصاره به عنوان دوز ضد مؤثر دردی تعیین گردید. حیوانات به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه‌های کنترل (۱ و ۲) تجویز توأم سالیین (0/5ml /rat، i.p) عصاره ۳ μg/rat، i.c.v یا سالیین 5 μl (0/rat، i.c.v)، گروه‌های اصلی: مورفین (۲mg/kg، i.p) / عصاره (۳ μg/rat، i.c.v)، نالوکسان (۱ mg/kg، i.p) / عصاره (3 μg/rat، i.c.v). صورت گرفت. سنجش درد با دستگاه Tail flick در دقایق ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵، ۹۰، ۱۲۰ صورت گرفت. نتایج با نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری Repeated Measurement و ANOVA بررسی گردید.

**یافته‌ها:** تجویز توأم نالوکسان (۱mg/kg، i.p) به همراه عصاره موجب کاهش معنی‌داری در اثر ضد دردی عصاره گردید ( $p < 0/05$ ). همچنین، کاهش معنی‌داری در میانگین پاسخ تأخیری به محرک دردناک در زمان‌های ۹۰ دقیقه و ۱۲۰ دقیقه بعد از مداخله در مقایسه با گروه کنترل، در آزمون Tail-Flick مشاهده شد ( $p < 0/05$ ،  $p < 0/01$ ).

**نتیجه گیری:** بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که حداقل قسمتی از اثرات ضد دردی عصاره آبی مرزنجوش از طریق گیرنده‌های اپیوئیدی میانجی‌گری می‌گردد.

**کلمات کلیدی:** مرزنجوش؛ مورفین؛ نالوکسان؛ اثرات ضد دردی

دریافت: ۸۹/۱۲/۱۲ پذیرش: ۹۰/۳/۲۰

#### مقدمه

کمتز، توجه به گیاهان دارویی و مواد طبیعی است و امروزه مطالعه گونه‌های گیاهی که به طور سنتی به عنوان ضد درد مصرف می‌شوند، یک استراتژی

یکی از راه کارهای ممکن جهت دستیابی به داروهای ضد درد جدید با کاربری بالا و آثار محدودکننده

لطفاً به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

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(2): 134-142. (Full text in persain)

ضد ژنوتوکسی، ضد درد، ضد اسپاسم و ضد التهاب می‌باشد [۵].

کاربردهای پزشکی و دارویی متعددی برای گیاهان خانواده‌ی نعناع گزارش شده است. گیاه مرزنجوش دارای اثرات ضدالتهابی و ضد میکروبی قابل توجهی می‌باشد [۶،۷].

اثرات ضد التهابی گونه‌هایی از گیاهان در رابطه با اثرات ضد دردی آنها مورد بررسی قرار گرفته است [۷]. همچنین گزارشاتی از اثرات آنتی‌موتازنی و آنتی‌کارسینوژنی برای مرزنجوش منتشر شده است [۸]. مرزنجوش گیاهی است که سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های فنلی و یک منبع مهم برای افزودنی‌های غذایی محسوب می‌شود. این گیاهان در طب سنتی در درمان بیماری‌های مزمن و در رابطه با درمان بیماری‌های مرتبط با اکسیدان‌ها نظیر دیابت اهمیت فوق‌العاده‌ای دارند [۸،۹].

اثرات ضد دردی در یکی دیگر از گونه‌های مرزنجوش نیز مورد بررسی قرار گرفته و تأیید شده است [۱۰].

مشخص شده است که مونوترپن‌های فنولی همچون تیمول به راحتی می‌توانند از سد خونی مغزی عبور نمایند و به صورت وابسته به دوز اثرات آنتی‌اکسیدانی اعمال نمایند. همچنین عصاره‌ی این گیاه، محتوی ترکیبات اکسیژن‌داری همچون بورنتول<sup>۶</sup> و اسید اورسالیک<sup>۷</sup> می‌باشد [۱۱،۱۰].

برخی از ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌ی گیاه، مانند ترپنوئیدها با وزن مولکولی پایین که اجازه‌ی عبور مواد از غشای سلول‌ها را تسهیل می‌کنند اثرات بیولوژیکی از جمله اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی این گیاه را القا می‌کنند [۱۲،۱۳].

هدیکی و همکاران، وجود دو ترکیب به نام اورینگانول A و B را در ترکیب این گیاه گزارش نموده‌اند [۱۴].

تحقیقاتی پرثمر در راه تهیه داروهای ضد درد جدید محسوب می‌شود. از میان سیستم‌های مختلف عصبی که در مکانیسم تعدیل درد دخیل هستند، نقش سیستم اپیوئیدی در مهار درد دارای اهمیت زیادی می‌باشند [۱].

مطالعات مشابهی در جهت پی بردن به مکانیسم تعدیل درد توسط گیاهان و ترکیبات سازنده‌ی آنها انجام شده است. لذا تجویز داخل بطنی یک دارو در نشان دادن نقش جایگاه‌های اثر مخصوص آن دارو در مغز و نیز عملکرد آن مفید می‌باشد. گیاه مرزنجوش<sup>۱</sup>، از خانواده نعناعیان<sup>۲</sup>، گیاهی است که در ایران تحت عنوان مرزنجوش خزری شناخته می‌شود [۲]. این گیاه در طب سنتی به عنوان گیاه درمانی، دارای اهمیت زیادی می‌باشد [۳]. این گیاه در ایران بیشتر در مناطق شمالی و شمال غرب پراکندگی دارد و در مناطق گرم جنوبی یافت نمی‌شود. اورینگانو<sup>۳</sup> گیاهی است معطر و بومی مدیترانه و معمولاً برای اهداف دارویی و درمانی کاربرد داشته است [۳،۴].

بوسیله‌ی تکنیک گاز کروماتوگرافی، ۲۷ ماده شیمیایی در ترکیبات سازنده‌ی این گیاه شناخته شده است. از مهمترین ترکیباتی که در عصاره‌ی این گیاه وجود دارد، می‌توان به مونوترپن‌های فنولی تیمول<sup>۴</sup> (۳۵٪) و کارواکرول<sup>۵</sup> (۳۲٪) اشاره کرد [۵].

بیشتر اثرات بیولوژیکی این گیاه مربوط به کارواکرول موجود در ترکیب آن است [۵].

گیاهان خانواده‌ی اورینگونیوم سرشار از کارواکرول (یک ایزومر فنیل ترپنی تیمول) هستند. کارواکرول مسئول خواص بیولوژیکی مرزنجوش است [۴،۵].

کارواکرول دارای اثرات دارویی متعددی شامل اثرات ضد باکتریایی، ضد توموری، ضد موتازنی،

<sup>1</sup> *Origanum Vulgare L. ssp. viridis*

<sup>2</sup> Labiatae

<sup>3</sup> *Origanum Vulgare*

<sup>4</sup> Thymole

<sup>5</sup> Carvacrol

<sup>6</sup> Borneol

<sup>7</sup> Ursolic acid

پس از وزن کردن حیوان، موش‌ها با تزریق کتامین هیدروکلراید (۸۰ mg/kg/rat) و زایلوزین (۱۰ mg/kg/rat)، به صورت تزریق داخل صفاقی بیهوش می‌شدند. برای بررسی اثرات عصاره بر سیستم عصبی مرکزی تزریق به صورت داخل بطن مغزی انجام شد. برای رسیدن به بطن سوم از دستگاه استریوتاکس استفاده شد. در این روش به منظور قرار دادن کانون راهنما در ناحیه بطن، ابتدا دستگاه استریوتاکس را بر روی صفر تنظیم کرده، مختصات قدامی، خلفی، جانبی، پشتی و شکمی آن ثبت می‌شد. مختصات ناحیه بطن طرفی مورد استفاده عبارت بودند از: ۳/۵ میلی‌متر به سمت عقب نسبت به برگما، ۱/۲ میلی‌متر در سمت چپ خط وسط و عمق ۰/۹ میلی‌متر از سطح سخت شامه جمجمه [۱۸].

یک هفته جهت بهبود یافتن محل عمل جراحی، به حیوان فرصت داده می‌شد و سپس آزمایشات انجام می‌گرفت. بلافاصله پس از اتمام تزریق، حیوان را داخل محفظه‌ی مخصوص<sup>۸</sup> قرار داده و سپس در جایگاه ویژه‌ی در دستگاه Tail-Flick قرار داده می‌شد. حساسیت<sup>۹</sup> دستگاه Tail-Flick ۶ تا ۷ و تمرکز<sup>۱۰</sup> ۹/۵ و زمان قطع نور دهی<sup>۱۱</sup> ۲۰ ثانیه تنظیم گردید تا از آسیب دیدن حیوان در اثر حرارت زیاد جلوگیری شود.

پس از اطمینان از قرار گرفتن دم حیوان روی سنسور دستگاه و آرام شدن حیوان، کلید روشن فعال گردید. در این حالت نور متمرکز شده به دو سوم انتهایی دم موش تابیده می‌شد که به منزله‌ی یک تحریک دردناک بود. سپس زمان لازم برای پس کشیدن دم یا پاسخ تأخیری اندازه‌گیری می‌شد. این عمل به مدت ۲ ساعت، در دقایق ۱۲۰، ۹۰، ۷۵، ۶۰، ۴۵، ۳۰

روزمارینیک اسید که قسمت عمده عصاره آبی گیاه مرزنجوش را تشکیل می‌دهد، به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بسیار موثر مطرح می‌باشد. این پژوهشگران اثرات آنتی‌اکسیدانی اوریکانول A و B موجود در عصاره آبی مرزنجوش قابل مقایسه با روزمارینیک اسید دانسته‌اند [۱۴].

اثرات ضد دردی تعدادی از گیاهان خانواده نعناع در رابطه با سیستم اپیوئیدی بررسی شده است [۱۵]. ارضی و همکاران وجود اثر ضد دردی را در گیاه مرزنجوش گزارش نموده‌اند. این پژوهشگران تزریق عصاره آبی این گیاه را به صورت داخل صفاقی و سنجش اثر ضد دردی آن را با استفاده از آزمون فرمالین انجام داده بودند [۱۶].

در مطالعه قبلی ما، تزریق داخل بطن مغزی عصاره آبی مرزنجوش (با دوز ۳ میکروگرم بر کیلوگرم به ازای هر موش) اثر ضد دردی قابل ملاحظه‌ای را در موش صحرایی نشان داد [۱۷]. اما تاکنون درباره مکانیسم‌های اثر ضد دردی گیاه مرزنجوش گزارشی منتشر نشده است، لذا در مطالعه حاضر به بررسی اثر تداخلی عصاره‌ی آبی مرزنجوش با آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های اپیوئیدی بر سیستم ضد دردی پرداخته شده است.

## روش کار

در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، با محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم، تهیه شده از مرکز نگهداری حیوانات مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان مورد استفاده قرار گرفت (هر گروه هفت سر موش). حیوانات در قفس‌های مخصوص در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای (۳ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد) در حیوان‌خانه، نگهداری می‌شدند. در ضمن همه حیوانات آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. غذای حیوان‌ها از کارخانه خوارک دام و طیور پارس تهران تهیه و بصورت پلیت‌های فشرده در اختیار موش‌ها قرار داده می‌شد.

<sup>8</sup> Restrainer

<sup>9</sup> Sensitivity

<sup>10</sup> Fucus

<sup>11</sup> Cut of point

رفتار حیوان تعیین می‌شد. برای این منظور در این گروه اثر این ماده بررسی شد و این گروه، به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد.

در گروه سالیین، ۰/۵ ml نرمال سالیین به صورت داخل صفاقی به هر حیوان تزریق گردید. ۲۰ دقیقه بعد از تزریق نرمال سالیین به صورت داخل صفاقی، ۵ میکرو لیتر نرمال سالیین به صورت داخل بطنی به حیوان تزریق و آزمون Tail-Flick، انجام شد.

گروه عصاره: در مطالعه پیلوت، دوز ۳  $\mu\text{g/kg}$  rat از عصاره گیاه مرزنجوش به عنوان دوز مؤثر ضد دردی تعیین شد. در گروه دوم نیز همانند گروه قبلی کانول گذاری انجام شد و بعد از یک هفته آزمایشات انجام گرفت. بدین صورت که ابتدا از هر حیوان Base line گرفته شد، حجم مشخص نرمال سالیین به صورت داخل صفاقی تزریق شد و ۲۰ دقیقه بعد ۵ میکرو لیتر دوز ۳  $\mu\text{g/kg}$  rat عصاره آبی مرزنجوش که به عنوان دوز مؤثر ضد دردی تعیین شده بود، به صورت داخل بطنی تزریق و آزمون Tail-Flick مانند گروه های قبلی، انجام شد

گروه نالوکسان: بعد از جراحی و کانول گذاری حیوانات مانند گروه دوم مورد بررسی قرار گرفتند. در این گروه آنتاگونیست گیرنده های اپیویدی، یعنی نالوکسان با دوز ۱  $\text{mg/kg}$  به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق می‌شد. ۲۰ دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی نالوکسان ۵ میکرو لیتر دوز ۳  $\mu\text{g/rat}$  عصاره آبی مرزنجوش، به صورت داخل بطنی تزریق شد و بلافاصله بعد از تزریق، آزمون Tail-Flick مانند گروه های قبلی انجام گرفت.

گروه مرفین: جراحی و کانول گذاری در این گروه نیز مانند گروه های قبلی انجام گرفت. با این تفاوت که در این گروه، آگونیست گیرنده های اپیویدی یعنی مرفین به میزان ۲  $\text{mg/kg}$  به صورت تزریق داخل صفاقی تجویز شد و سپس ۳  $\mu\text{g/rat}$  عصاره آبی

دقیقه روی حیوان انجام می‌شد و داده ها به دقت ثبت می‌شدند.

پس از خاتمه ی آزمایشات و ثبت علایم رفتاری، حیوان بیهوش و پس از کشتن حیوان، توسط گیوتین مغز حیوان خارج می‌گردید. بافت مغز در محلول فرمالین ۱۰٪ به مدت ۳ الی ۴ روز فیکس می‌شد و سپس برشهای لازم از محل کانول گذاری تهیه شده و جهت تأیید محل قرارگیری کانول مورد مطالعه قرار می‌گرفت. تعدادی از مغزها توسط جوهر معمولی رنگ آمیزی شدند تا اطمینان حاصل شود که دارو به محل مورد نظر تزریق شده است.

مطالعات قبلی وجود اثر ضد دردی در عصاره آبی مرزنجوش (600mg/kg.i.p) در موش صحرایی نر را تأیید نموده اند [۱۶].

مطالعه قبلی ما اثر ضد دردی قابل ملاحظه ای را در نتیجه تزریق داخل بطنی عصاره آبی مرزنجوش (۳ میکروگرم بر کیلوگرم به ازای هر رت به صورت تزریق داخل بطنی) در موش صحرایی نر نشان داد [۱۷].

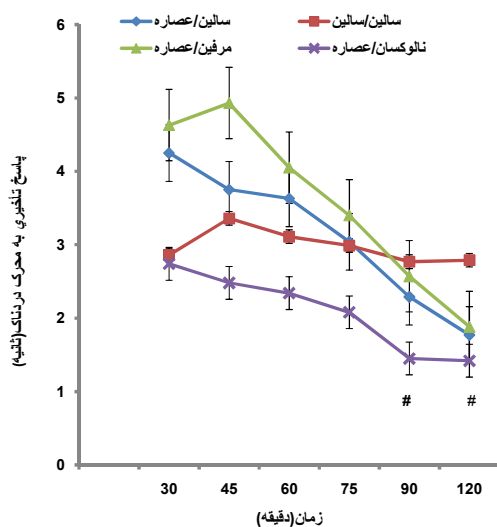
برای بررسی دخالت احتمالی سیستم اپیویدی در ایجاد اثر ضد دردی عصاره، در یک گروه از موش ها، آنتاگونیست انتخابی سیستم اپیویدی یعنی نالوکسان (۱  $\text{mg/kg.i.p}$ ) [۱۹] و در گروه دیگری مورفین (۲  $\text{mg/kg.i.p}$ ) [۲۰] یا نرمال سالیین (به عنوان حلال) به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. موش ها ۲۰ دقیقه بعد، دوز ۳  $\mu\text{g/kg}$  rat عصاره یا نرمال سالیین به صورت داخل بطنی دریافت کردند. میزان پاسخ به محرک دردناک، توسط آزمون Tail-Flick بعد از تزریق عصاره و یا نرمال سالیین مورد ارزیابی قرار گرفت

گروه سالیین: در گروه اول، کانول گذاری انجام شد. موش ها به مدت یک هفته در اتاق حیوانات نگهداری شدند. برای انجام آزمایشات ابتدا از حیوان Base line گرفته شد. از آنجا که حلال عصاره نرمال سالیین بود بایستی اثرات تجویز خالص نرمال سالیین به تنهایی بر

مقایسه با گروه کنترل، مشاهده شد ( $p < 0.05$ ).

همچنین بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر، میانگین پاسخ تأخیری به محرک دردناک متعاقب تجویز توأم مورفین (۲ mg/kg) و عصاره (۳ μg/rat) نسبت به گروهی که تجویز توأم سالین و عصاره انجام شده بود، افزایش معنی‌داری نشان نداد.

نمودار ۱. مقایسه‌ی پاسخ تأخیری به محرک دردناک در گروه‌های سالین/عصاره و تزریق توأم آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی/عصاره مرزنجوش در زمانهای مختلف بعد از مداخله



# ( $P < 0.05$ ) سطح معنی‌داری اثر ضد دردی تجویز توأم دارو/عصاره در مقایسه با گروه سالین/عصاره در زمان‌های مختلف در آزمون Tail-Flick

هر نقطه نمایانگر میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین<sup>۱۵</sup> پاسخ تأخیری به محرک دردناک در زمان‌های ۱۲۰، ۹۰، ۷۵، ۶۰، ۴۵، ۳۰ دقیقه بعد از مداخله<sup>۱۶</sup>، با استفاده از دستگاه Tail-Flick می‌باشد ( $n=7$ ). کاهش معنی‌داری در میانگین پاسخ تأخیری به محرک دردناک در گروه نالوکسان/عصاره در زمان‌های ۹۰ دقیقه و ۱۲۰ دقیقه بعد از مداخله در مقایسه با گروه کنترل، مشاهده شد ( $p < 0.05$ ،  $p < 0.01$ ) (نمودار ۱).

مرزنجوش، به صورت داخل بطنی تزریق شد و بلافاصله بعد از تزریق، آزمون Tail-Flick مانند گروه‌های قبلی انجام گرفت.

### تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون آماری به روش اندازه گیری‌های مکرر<sup>۱۲</sup> مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به تفاوت معنی‌داری که در اندازه گیری‌های مکرر در دوزها یا داروهای مختلف عصاره مرزنجوش مشاهده شد، به روش آنالیز واریانس یک طرفه<sup>۱۳</sup> تأثیرات در زمان‌های مختلف مقایسه گردید. برای حذف اثر آزمون تکرار بر روی خطای آماری مقدار  $p$  به روش بونفرونی<sup>۱۴</sup> تعدیل شد. همچنین  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد و داده‌ها در نمودار به صورت میانگین به اضافه منهای خطای استاندارد میانگین نشان داده شده است.

### یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصل از آزمون آماری، تجویز توأم مورفین/عصاره و یا نالوکسان/عصاره در مقایسه با گروه سالین/عصاره در زمان‌های مختلف اختلافات معنی‌داری در میانگین پاسخ تأخیری به محرک دردناک در آزمون Tail-Flick نشان داد، ( $p < 0.05$ ) ( $F=28/04, df=7$ ) (نمودار ۱).

در گروهی که تجویز توأم نالوکسان و عصاره انجام شد، میانگین پاسخ تأخیری به محرک دردناک به طور معنی‌داری کمتر از گروه تزریق توأم سالین/عصاره بود ( $p < 0.05$ ) (نمودار ۱).

کاهش معنی‌داری در میانگین پاسخ تأخیری به محرک دردناک در گروه نالوکسان/عصاره در زمان‌های ۹۰ دقیقه و ۱۲۰ دقیقه بعد از مداخله در

<sup>12</sup> Repeated Measurement

<sup>13</sup> ANOVA

<sup>14</sup> Bonferroni

<sup>15</sup> Mean+SEM

<sup>16</sup> Post treatment

**بحث**

در مطالعه قبلی ما نشان داده شد که تزریق داخل بطنی عصاره آبی مرزنجوش با دوز  $3\mu\text{g}/\text{rat}$  اثرات ضد دردی قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه کنترل با استفاده از آزمون Tail flick نشان می‌دهد [۱۷].

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر، تجویز توأم نالوکسان ( $1\text{ mg}/\text{kg.i.p.}$ ) به همراه عصاره موجب کاهش معنی‌داری در اثر ضد دردی عصاره گردید ( $p < 0.05$ ). نالوکسان به عنوان کاهش دهنده آستانه‌ی درد شناخته شده است [۱۹].

همچنین بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر، میانگین پاسخ تأخیری به محرک دردناک متعاقب تجویز توأم مورفین ( $2\text{mg}/\text{kg}$ ) و عصاره ( $3\mu\text{g}/\text{rat}$ ) نسبت به گروهی که تجویز توأم سالیین و عصاره انجام شده بود، افزایش معنی‌داری نشان نداد. این مطلب را می‌توان این گونه توجیه کرد که تجویز عصاره با دوز  $3\mu\text{g}/\text{rat}$  به تنهایی اثر ضد دردی داشته است، مورفین هم به تنهایی اثر ضد دردی دارد [۱۹، ۱۸]. به بیان بهتر، عصاره مذکور به اندازه‌ی کافی گیرنده‌های مورد نظر را اشغال کرده است، به نحوی که تجویز توأم مورفین همراه با عصاره اثر بیشتری ایجاد نکرده است.

هلن ولر و همکاران، نشان دادند، دوز پایین مورفین ( $0.3\text{ mg}/\text{kg}$ ) باعث افزایش معنی‌داری در رفتار لیس زدن پا در تست فرمالین در رت‌ها می‌شود. بر عکس دوز استاندارد مورفین ( $10-30\text{ mg}/\text{kg}$ ) درد را کاهش می‌دهد [۱۹].

با توجه به اینکه تجویز نالوکسان اثر ضد دردی عصاره‌ی مرزنجوش را کاهش داده است، لذا بر اساس یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که حداقل قسمتی از اثرات ضد دردی عصاره از طریق تحریک گیرنده‌های اپیوئیدی میانجی‌گری می‌گردد. نتایج مطالعه حاضر با نتیجه‌گیری سایر محققان همخوانی دارد. به طوری که شورونگ و همکاران در یکی دیگر از گیاهان

خانواده نعناع (*Crude Fuzei*)، نشان دادند که بلوکه شدن گیرنده‌های مو اپیوئیدی به طور نسبی به وسیله نالوکسان اثر ضد دردی عصاره را کاهش می‌دهد، لذا اثرات ضد دردی این گیاه را ناشی از دخالت سیستم اپیوئیدی دانسته‌اند [۱۵].

حیدری و همکاران اثرات ضد دردی گیاه گاوزبان را ناشی از دخالت احتمالی سیستم اپیوئیدی دانسته‌اند، این پژوهشگران نشان دادند که پیش درمانی با نالوکسان، اثر ضد دردی عصاره این گیاه را در تست صفحه داغ و فاز حاد آزمون فرمالین به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. این پژوهشگران تزریق عصاره را به صورت داخل صفاقی انجام دادند [۲۱]. اثرات ضد دردی تعدادی از گیاهان خانواده نعناع در رابطه با سیستم اپیوئیدی بررسی شده است [۲۲، ۱۵].

ارضی و همکاران وجود اثر ضد دردی در گیاه مرزنجوش ( $600\text{ mg}/\text{kg.i.p.}$ ) را گزارش نموده‌اند. این پژوهشگران تزریق عصاره آبی این گیاه را به صورت داخل صفاقی و با استفاده از آزمون فرمالین انجام داده بودند [۱۶].

در مطالعه حاضر پیش درمانی با نالوکسان، اثر ضد دردی عصاره تجویز داخل بطنی عصاره آبی مرزنجوش به طور معنی‌داری کاهش داد، لذا احتمالاً گیرنده‌های اپیوئیدی در قسمتی از اثرات ضد دردی عصاره دخالت دارند.

**نتیجه گیری**

با توجه به اینکه تجویز نالوکسان اثر ضد دردی عصاره‌ی مرزنجوش را کاهش داده است، لذا بر اساس یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که حداقل قسمتی از اثرات ضد دردی عصاره از طریق گیرنده‌های اپیوئیدی میانجی‌گری می‌گردد. اثرات ضد دردی عصاره می‌تواند قابل مقایسه با اثرات مورفین باشد، برای

رسیدن به نتایج دقیق‌تر مطالعات بیشتری مورد نیاز

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مسئولین محترم مرکز تحقیقات علوم

است.

اعصاب کرمان تشکر و قدردانی می‌شود.

### Reference

- 1- Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of Neuropathic Pain. *Neuron*. 2006 Oct; 52(1), 77-92
- 2- Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi MS, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *IJPR*. 2005 Oct; 2: 63-79.
- 3- Salah SM, Jager AK. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *J Ethnopharmacol*. 2005 Feb; 97(1): 145-49.
- 4- Arcila-Lozano CC, Loarca-Piña G, Lecona-Urbe S, González de Mejía E. Oregano: properties, composition and biological activity. *Arch Latinoam Nutr*. 2004 Mar; 54 (1): 100-11.
- 5- Baser KH. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm Des*. 2008 May; 29: 14-19.
- 6- Ocaoa-Fuentes A, Arranz-Gutiérrez E, Seorans FJ, Reglero G. Supercritical fluid extraction of oregano (*Origanum vulgare*) essentials oils: Anti-inflammatory properties based on cytokine response on THP-1 macrophages. *Food Chem Toxicol*. 2010 Jun; 48(6):1568-75.
- 7- Bukovska A, Cikos S, Juhas S, Il'kova G, Rehak P, Koppel J. Effects of a combination of Thyme and Oregano essential oils on TNBS-induced colitis in mice. *Mediators Inflamm*. 2007 Aug; 10(2007), 23-29.
- 8- Rodríguez-Meizoso FR, Marin M, Herrero FJ, Senoran S, Reglero A, Cifuentes E. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano: Chemical and functional characterization. *J Pharm Biomed Anal*. 2006 Feb; 41(5): 1560-65.
- 9- Economou KD, Oreopoulou V, Thomopoulos CD. Antioxidant activity of some plant extracts of the family labiatae. *J Am Chem Soc* 1991; 68(2): 109-113.
- 10- Aydın S, Öztürk Y, Beis R, Baser KHC. Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity. *Phytother Res*. 1996 Dec; 10(4): 342-44.
- 11- Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem*. 2004 May; 85(4): 633-40.
- 12- Loizzo MR, Menichini F, Conforti F, Tundis R, Bonesi M, Saab AM, et al. Chemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils. *Food Chem*. 2009 Aug; 117(1): 174-80.
- 13- Masood ahmed N, Tariq S and P. Antibacterial effects of oregano (*origanum vulgare*) against gram negative bacilli. *Pak J Bot*. 2007 Feb; 39(2), 609-613.
- 14- Hideyuki M, Hideyuki C, Chikako A, Midori A, Teruhiko Y, Junya M. DPPH radical scavengers from dried leaves of Oregano (*Origanum Vulgare*). *Biosci Biotechnol Biochem*. 2003 Jul; 67(11): 2311-2316
- 15- Shorong SL, I-Min L, Mei CL, Juei TC. Comparison of the antinociceptive action of *Crude Fuzei*, the root of *Aconitum*, and its processed products. *J Ethnopharmacol*. 2005 Jul; 99 (3): 379-383.
- 16- Arzi A, Aghel N, Nazari Khorasgani Z, Motahari M. The study of analgesic effect of hydroalcoholic extract of *Origanum Vulgare* L. ssp. *viride* in rat by formalin test. 2009; 10.1016/j.toxlet.06.341.
- 17- Sepehri G, Sheibani V, Pahlavan Y, Afarinesh Khaki MR, Esmail Pour K, Pahlavan B. Effect of interacerebroventricular injection of aqueous extract of *Origanum Vulgare* L. ssp. *viride* on pain threshold in male rats. *J Ardabil Univ Med Sci*. 2011 spring; 11(1): 52-8.

- 18- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 4<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press; 1998: 467.
- 19- Wheeler HA, Cowan A. Naloxone causes apparent antinociception and pronociception simultaneously in the rat paw formalin test. Eur J Pharmacol. 1993 May; 236(2): 193-9.
- 20- Likar R, Kapral S, Steinkellner H, Stein C, Schafer M. Dose-dependency of intra articular morphine analgesia. Br J Anaesth. 1999 Aug; 83(2): 241-4.
- 21- Heidari MR, Moein Azad E, Mehrabani M. Evaluation of the analgesic effect of *Echium amoenum* Fisch & C.A. Mey. extract in mice: Possible mechanism involved. J Ethnopharmacol. 2005 Sep; 103 (2006): 345–349.
- 22- Hejazian SH. Analgesic effect of essential oil (EO) from *Carum copticum* in mice. World J Med Sci. 2006; 1(2): 95-99.



## Intervention of Morphine and Naloxone on Analgesic Effects of *Origanum vulgare* Extract in Male Rat

Pahlavan Y, MSc<sup>1</sup>; Sepehri GR, PhD<sup>2</sup>; Afarinesh Khaki MR, MSc<sup>3</sup>; Sheibani V, PhD<sup>4</sup>; Esmail Pour Bezenjani K, MSc<sup>5</sup>; Pahlavan B, MD<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Corresponding Author: MSc of Medical Physiology Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences & Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran. E-mail: Pahlevan2008@gmail.com

<sup>2</sup> Prof. of Pharmacology Dept      <sup>3</sup> PhD student of Medical Physiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences

<sup>4</sup> Associate Prof. of Physiology Dept., School of Medicine and Researcher of Neuroscience Research Center

<sup>5</sup> MSc of Physiology, Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

<sup>6</sup> Medicine Student, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

### ABSTRACT

**Background and Objectives:** Opioidergic system has important role in pain control. *Origanum vulgare* is a folk medicine with analgesic properties which is widely distributed in the north and northwest parts of Iran. The mechanism of therapeutic effects of *Origanum vulgare* is not understood. The aim of this study was to evaluate the intervention effect of opioid agonist (morphine) and antagonist (naloxone) on analgesic effects of *Origanum vulgare*.

**Methods:** In this study 28 Male Wistar rats (200-250 g) were used (n=7). The rats were anaesthetized by ketamine (80mg /kg) and xylazine (10mg /kg) and a cannula was inserted into the left ventricle according to atlas of Paxinos characteristics using stereotaxic apparatus. The animals were allowed to recover for 5-7 days .In pilot examination, the effective dose of ORG extract determined 3µg/rat i.c.v. Rats were divided into 4 groups:Control group given saline 0.5ml.i.p/ saline 5µl.i.c.v or ORG 3µg/rat.i.c.v. other groups are morphine (2mg/kg ,i.p) and ORG3µg/rat,i.c.v , Naloxone (1mg/kg,i.p) and ORG 3µg/rat,i.c.v. The latency response of rats to thermal stimulation was recorded (30, 45, 60, 75, 90 &120 min after treatment) by Tail flick test. Repeated Measurement test and ANOVA were used to determine significant differences.

**Results:** There was significant decrease in the pain threshold following the co-administration of ORG extract with naloxone in the Tail flick test. There also was significant decrease in the latency response or pain threshold 90 and 120 min after intervention in naloxone group compared with that in control group ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this study showed that analgesic effect of aqueous extract of *Origanum vulgare* may be mediated, at least in part, by opioidergic system.

**Key words:** Origanum vulgare Extract; Morphine; Naloxone; Analgesic Effects