

Antinociceptive effect of *Salvia Sharifii* Rech. F. & Esfand seed's oil in formalin test in mice

Zahra Mousavi¹, Jinous Asgarpanah², Farzaneh Heydarzadeh³, Ava Zenderood³, Yas Arbabi³, Rana Kharazchi³

¹ Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran- Iran

² Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran- Iran

³ Roshangaran Girls' High School in Tehran, Iran

Abstract

Background: *Salvia sharifii* Rech. F. & Esfand (Lamiaceae) is an Iranian endemic plant that widely used as a medicinal plant. Due to the antinociceptive and anti-inflammatory effects of other *Salvia* species, the present study was conducted to investigate the antinociceptive effect of *S. sharifii* seed's oil (SSSO) in experimental animals.

Materials and methods: Seed's oil of *S. sharifii* was extracted by Soxhlet method. In order to assess the antinociceptive activity, the animals were classified to five groups: control (vehicle), *S. sharifii* seed's oil (20 and 100 mg/kg) and standard groups (morphine 5 mg/kg and mefenamic acid 30 mg/kg). The analgesic activities were studied by formalin test in mice. The nociceptive responses were divided to two phases; phase I (0-15minutes) and phase II (15-60 minutes). Comparisons between the groups were carried out using the analysis of variance (one way ANOVA) and post hoc Tukey's test. $P < 0.05$ was considered as significant difference.

Results: *S. sharifii* seed's oil showed significant antinociceptive effects in first phase (dose 20 mg/kg) and second phase (dose 20 and 100 mg/kg) of formalin test compared to control group. These effects were comparable to morphine and mefenamic acid in chronic phase of formalin test.

Conclusion: The results indicated that *S. sharifii* seed's oil induced a significant antinociceptive in mice that is likely related to active constituents of this seed's oil.

Keywords: Antinociceptive, *Salvia Sharifii* Rech. f. & Esfand, Seed's Oil, Mice.

Cited as: Mousavi Z, Asgarpanah J, Heydarzadeh F, Zenderood A, Arbabi Y, Kharazchi R. Antinociceptive Effect of *Salvia Sharifii* Rech. f. & Esfand Seed's Oil in formalin test in mice. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2019; 29(1): 18-26.

Correspondence to: Zahra Mousavi

Tel: +98 9125081304

E-mail: mosavi50@yahoo.com

ORCID ID: 0000-0001-6524-491X

Received: 25 Aug 2018; **Accepted:** 17 Oct 2018

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۹، شماره ۱، بهار ۹۸، صفحات ۱۸ تا ۲۶

اثر ضد درد روغن دانه‌های مریم گلی جنوبی (*Salvia sharifii* Rech. F. & Esfand) در آزمون فرمالین در موش سوری نر

سیده زهرا موسوی^۱، ژینوس عسگرپناه^۲، فرزانه حیدرزاده^۳، آوا زنده رود^۳، یاس اربابی^۲، رعنا خرازچی^۳

^۱ دانشیار، گروه فارماکولوژی - سم شناسی، دانشکده داروسازی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۲ استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۳ دانش آموخته دبیرستان غیردولتی روشنگران، منطقه ۴ آموزش و پرورش، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: مریم گلی جنوبی (*Salvia sharifii* Rech. F. & Esfand) از خانواده *Lamiaceae* به عنوان یک گیاه دارویی، کاربردهای فراوانی دارد. با توجه به داشتن اثرات ضددردی و ضدالتهابی گونه‌های دیگر *Salvia* مطالعه پیش رو به منظور بررسی اثرات ضد دردی روغن دانه گیاه مریم گلی جنوبی انجام گرفت.

روش بررسی: روغن دانه‌های گیاه با استفاده از روش سوکسله استخراج شد. به منظور بررسی اثر ضددردی، حیوانات در پنج گروه کنترل (روغن بادام شیرین)، روغن مریم گلی (100 mg/kg ، 200)، مفنمیک اسید (30 mg/kg) و مورفین (5 mg/kg)، دارو را داخل صفاقی دریافت کرده و نیم ساعت بعد، فرمالین (۲۰ میکرولیتر ۲٪) به صورت تزریق کف پای تجویز و رفتارهای حیوان (در مرحله حاد و مزمن) در مدت یک ساعت ثبت شد. سپس، سطح زیر منحنی نمره درد در مقابل زمان در گروه‌ها محاسبه شد و توسط نرم افزار پریسم و آزمون *one way ANOVA* و آزمون کمکی *Tukey* تحلیل انجام شد. سطح معنی داری کمتر از 0.05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: روغن دانه‌های *S. sharifii* در فاز حاد آزمون فرمالین با دوز 20 mg/kg اثرات ضددردی معنی داری در مقایسه با کنترل نشان داد و نیز اثر ضددردی در فاز مزمن در هر دو دوز 100 mg/kg و 200 به طور معنی داری نسبت به کنترل معنی دار و قابل مقایسه با اثرات مورفین و مفنمیک اسید بود.

نتیجه گیری: از یافته‌های حاصل از این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که روغن دانه مریم گلی جنوبی به دلیل دارا بودن لینولنیک اسید و لینولنیک اسید، به عنوان مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده، دارای آثار ضد دردی است.

واژگان کلیدی: ضد درد، مریم گلی جنوبی، روغن دانه‌های گیاه، موش کوچک.

مقدمه

کشورها از اجزای جدا نشدنی سیستم دارودرمانی محسوب می‌شوند (۱). کشور ایران با مساحت $1/64$ میلیون کیلومتر مربع دارای بیش از ۸۰۰۰ نوع گونه گیاهی است و در استفاده از گیاهان دارویی سابقه دیرینه‌ای دارد (۲). در حال حاضر از داروهای گیاهی در درمان انواع بیماری‌ها از جمله برطرف کردن درد و التهاب استفاده می‌شود و تحقیقات وسیعی در این زمینه بر روی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی صورت گرفته است. التهاب، به خصوص التهاب مزمن، از عوارض شایع بسیاری از

با وجود پیشرفت و توسعه چشمگیر در کاربرد داروهای سنتزی، هنوز گیاهان دارویی و اشکال دارویی حاصل از آنها در مقیاس وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند، به طوری که در برخی

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، دانشکده داروسازی و علوم

دارویی، دکتر سیده زهرا موسوی (email: mosavi50@yahoo.com)

ORCID ID: 0000-0001-6524-491X

تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۶/۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۷/۷/۱۷

بیماری‌هاست که باعث تضعیف سیستم ایمنی می‌شود. استفاده از داروهای سنتتیک از جمله کورتیکواستروئیدها در عین مزایای ویژه خود فرد را دچار عوارض جانبی فراوانی می‌کند. از این روست که یافتن داروهای گیاهی که به کاهش درد و التهاب کمک می‌کنند حائز اهمیت است.

جنس مریم گلی (*Salvia*) متعلق به خانواده نعناعیان است که بیش از ۹۰۰ گونه در جهان دارد و مرکز اصلی تنوع جنس سالویا نواحی مدیترانه ای آسیای مرکزی و آمریکا و جنوب آفریقا است. این جنس دارای ۵۸ گونه علفی و پایا در ایران است که ۱۷ گونه آن انحصاری ایران است (۳، ۴). اعضای این جنس دارای متابولیت ثانویه بسیاری نظیر اسانس‌ها و ترکیبات فنولی است که دارای خواص دارویی است و در مقابل پاتوژن‌ها نقش تدافعی را بازی می‌کند. همچنین جنس سالویا به دلیل داشتن زیبایی، رایحه و خصوصیات دارویی از اهمیت زیادی برخوردار است. مریم گلی دارای چندین ترکیب فعال نظیر توپون، سینئول، بورنتول، پینن، فلاونوئید، ساپونین، گلیکوزید، رزین، ویتامین C، ویتامین E، تانن، مواد صمغی و دی‌ترپن است (۵). از دیر باز بشر به این نکته پی برده است که گونه‌های مختلف جنس مریم گلی دارای خواص درمانی مهمی هستند (۸-۶) که می‌توانند بر عملکردهای فیزیولوژیک بدن به ویژه عملکرد قلب (۹، ۱۰)، کبد و کلیه (۱۱، ۱۲) اثرگذار باشند. در طب سنتی مریم گلی به عنوان داروی موثر برای معالجه عوارض نیش حشرات، ضد سم و مقوی برای تقویت روح، بدن و افزایش طول عمر به کار می‌رفته است و به عنوان داروی تونیک، ضد روماتیسمی و ضد درد مزمن، ضد میکروبی، ضد نفخ (۱۳، ۱۴) مورد استفاده قرار می‌گیرد. به علاوه مریم گلی گیاهی است که به عنوان ضد تشنج، تب‌بر، مسکن دردهای گوارشی و سردردهای با منشأ عصبی یا ناشی از سوءهاضمه، تقویت حافظه، کاهش دهنده فشار خون و قند خون و نیز در بیماری میگرن مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵).

مریم گلی جنوبی (*Salvia sharifii* Rech. F. & Esfand) از تیره Lamiaceae است که پراکندگی نسبتاً محدودی در جنوب ایران، به خصوص استان هرمزگان، دارد و گونه انحصاری ایران است (۱۶). دانه‌های گیاه در طب سنتی جنوب ایران جهت رفع دل‌درد، سردرد، زخم، اسهال، سینه‌درد، سرماخوردگی استفاده می‌شود (۱۷). در مطالعات قبلی دو فلاون لادانین و تری متوکسی فلاون و یک نوع دی‌ترپن به نام لابدان از عصاره اتیل استات و متانول بخش‌های هوایی *S. sharifii* جداسازی و با استفاده از روش‌های مختلف کروماتوگرافی خالص سازی شدند. این ترکیبات از خود فعالیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و

سایتوتوکسیک نشان دادند. دی‌ترپن فعالیت سایتوتوکسیک بیشتری را نسبت به فلاون‌ها از خود نشان داد، در حالی که ترکیبات بعدی اثر آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به دی‌ترپن‌های جدا شده از خود نشان دادند (۱۸). مطالعه‌ای دیگر جهت تعیین ترکیبات تشکیل دهنده و بررسی خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، بخش‌های هوایی گیاه *S. sharifii* از جنوب شرق ایران نشان داد عمده‌ترین ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره متانولی گیاه، بورنیل استات (۲۰/۸۵)، بتاکریوفیلین (۱۵/۷۹) و گامفن (۱۵/۶۳) بود. بورنیل استات موجود در گیاه *S. sharifii* نقش مهمی در خاصیت ضد میکروبی این گیاه دارد. عصاره متانولی این گیاه دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی است (۱۹).

گونه *S. sharifii* گیاه پایا، تقریباً سبز متمایل به زرد، کمی پوشیده از کرک‌های متراکم غیر غده‌ای با غده پوش و پوشیده از کرک‌هایی در انتها متورم است. گزارشات متعددی مبنی بر اثرات ضد درد ترکیبات آنتوسیانینی موجود در گیاهان وجود دارد. تجویز عصاره‌های گیاهی سرشار از این مواد در کاهش درد در هر دو فاز حاد و مزمن تاثیر مثبت داشته است (۲۰). آنتوسیانین‌ها مشتقات گلیکوزیدی پلی‌هیدروکسیل و متوکسیل نمک‌های ۲-فنیل بنزوپیریلیوم، رنگ دانه غیر سمی و محلول در آب هستند که به طور گسترده‌ای در طبیعت یافت می‌شوند (۲۱). این ترکیبات آنتی‌اکسیدان‌های بسیار قدرتمندی هستند که با مهار سیکلواکسیژناز و لیبواکسیژناز می‌توانند باعث سرکوب مسیرهای مرتبط با درد شوند (۲۲). مطالعات نشان داده‌اند که مریم گلی نیز دارای ترکیبات آنتوسیانینی و فلاونوئیدی است. بورنتون یکی از ترکیبات مهم در مریم گلی است که می‌تواند اثر مثبت در القاء گیرنده‌های GABA داشته باشد و همین‌طور باعث کاهش آزادسازی گابا شده و باعث کنترل درد گردد (۲۳). همچنین هیسپیدولین موجود در گیاه مریم گلی به عنوان لیگاند گیرنده‌های بنزودیازپینی، باعث تعدیل فعالیت سیستم عصبی مرکزی می‌شود (۲۴). همچنین عصاره هیدروالکلی این گیاه دارای ترکیباتی همچون اورسلیک اسید و رزمارینیک اسید است که اثرات ضد التهابی آنها گزارش شده است (۲۵). از طرف دیگر رزمارینیک اسید موجود در عصاره مریم گلی، باعث کاهش تولید لکوترپین B₄ شده که در نتیجه می‌تواند باعث کاهش میزان التهاب و درد شود (۲۶). فعال سازی لکوسیت‌ها در طی التهاب حاد موجب ریلیز واسطه‌های پیش التهابی مانند فاکتورهای نکروز توموری (TNF α)، اینترلوکین ۶ (IL-6) و ایکوزانوئیدها، نیتریک اکساید (NO) و پروستاگلندین‌ها (PGs)

گروه ۲: دریافت کننده مفنایمیک اسید ۳۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی

گروه ۳: دریافت کننده مورفین ۵ mg/kg به صورت داخل صفاقی

گروه ۴: دریافت کننده روغن با دوز ۲۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی

گروه ۵: دریافت کننده روغن با دوز ۱۰۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی

تست فرمالین رایج ترین تست ارزیابی درد است که در آن محلول رقیق شده فرمالین (۲۰ میکرولیتر ۲/۵٪) به صورت زیرجلدی به کف پای حیوان تزریق می‌شود و به دنبال آن امتیازات براساس بالا نگاه داشتن، لنگیدن، لیسیدن، گاز گرفتن و تکان دادن ثبت می‌شود. بررسی این رفتارها برای مدت زمان یک ساعت انجام شد که شامل مرحله حاد (بلافاصله پس از تزریق تا ۱۰ دقیقه) است که در اثر ورود سوزن و تزریق، فعال سازی مستقیم تحریک درد ایجاد شده و سپس مرحله مزمن (۱۵ الی ۶۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین) که حاصل صدمه بافتی ناشی از عامل التهاب‌زای فرمالین است.

نمره دهی براساس معیار زیر صورت گرفت:

نمره سه: حیوان پای تزریق شده را به شدت بلیسد یا تکان دهد یا گاز بگیرد.

نمره دو: زمانی که حیوان پای تزریق شده را بدون تماس با سطح بالا نگاه دارد.

نمره یک: حیوان پای تزریق شده را بر سطح می‌گذارد، ولی وزن کمی بر روی آن اعمال کرده و می‌لنگد.

نمره صفر: حیوان به راحتی بر روی سطح راه می‌رود و رفتار خاصی ناشی از درد نشان نمی‌دهد.

از لحظه شروع آزمایش هر ۱۵ ثانیه یک بار، وضعیت درد مشاهده و ثبت شد. پس از خاتمه آزمایش، بلوک‌های زمانی ۵ دقیقه‌ای در نظر گرفته شد و میانگین ۲۰ مشاهده انجام شده در ۵ دقیقه، به عنوان شدت درد یا Pain Rating در بلوک مذکور یادداشت شد. به طور کلی تزریق زیر جلدی فرمالین باعث ایجاد پاسخ درد دوفازی می‌شود. در ۵ دقیقه اول، درد سریع و شدید و در ۱۰ الی ۱۵ دقیقه بعدی کاهش درد و سپس در ۲۰ الی ۶۰ دقیقه پس از تزریق، درد متوسطی مشاهده می‌شود. در این بررسی برای مقایسه بهتر، سطح زیر منحنی شدت درد (Pain Rating) در مقابل زمان با استفاده از روش دوزنق‌های، از زمان صفر یعنی تزریق فرمالین تا دقیقه ۱۰ به عنوان فاز ۱ (فاز حاد) و از دقیقه ۱۵ الی ۶۰ به عنوان فاز ۲

می‌شود. در صورت عدم کنترل التهاب، مهاجرت لوکوسیت‌ها، آنزیم‌های پروتئولیتیک (تجزیه کننده پروتئین) و متابولیت‌های واکنش پذیر اکسیژن و نیترژن را آزاد می‌کنند که می‌توانند سمی باشند و باعث آسیب بافت شوند (۲۷).

در مطالعات قبلی مشخص شده است که محتوای روغن دانه‌های مریم گلی جنوبی بالا و حدود ۲۰٪ است. اجزای اصلی روغن نیز دو اسید چرب غیر اشباع لینولنیک اسید و لینولئیک اسید گزارش شده است (۲۸). از آنجا که مطالعات قبلی اثر ضددرد و ضدالتهاب لینولئیک اسید و لینولنیک اسید را نشان داده‌اند (۲۹، ۳۰) و با توجه به اینکه روغن دانه‌های دیگر گونه *Salvia (S. hispanica)* اثر ضددرد و ضدالتهاب قابل توجهی نداشته است، در این مطالعه برای اولین بار اثر ضددرد روغن حاصل از دانه‌های گونه انحصاری *S. sharifii* با آزمون فرمالین در موش سوری نر، در پی یافتن داروی جدید اثربخش با عوارض کمتر به عنوان ضددرد، بررسی شد.

مواد و روشها

جمع آوری گیاه و تهیه روغن دانه‌ها

دانه‌های گیاه (*Salvia sharifii* Rech. F. & Esfand) از استان هرمزگان تهیه شد و بعد از شناسایی علمی توسط هرباریوم دانشکده داروسازی واحد پزشکی تهران با کد 3016-AUF ذخیره شد. جهت تهیه روغن ثابت از حلال ان-هگزان و دستگاه سوکسوله استفاده شد، به این ترتیب که ۱۰۰ گرم پودر دانه مریم گلی جنوبی برای مدت ۶ ساعت عصاره گیری شد و سپس با استفاده از روتاری در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد حلال تبخیر شد. روغن خالص حاصله به ویال مخصوص منتقل و در یخچال و دور از نور نگه داری شد.

آزمون فارماکولوژیک

برای انجام آزمون درد از موش سوری به وزن ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. این حیوانات از دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی خریداری شدند و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. آنها پیش از هر آزمایشی به مدت حداقل ۴۸ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه قرار داده می‌شدند تا با محیط سازگار شوند. در طی این مدت حیوانات به طور آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. این موش‌ها در گروه‌های ۶-۸ تایی به ترتیب زیر در نظر گرفته شدند:

گروه ۱: کنترل (روغن بادام شیرین به عنوان حامل ۱۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی)

(فاز مزمن) محاسبه می‌شود. داده های حاصل از مطالعه توسط نرم افزار مناسب آنالیز و نتایج مقایسه شد.

$$PAIN\ RATING = \frac{1T_1 + 2T_2 + 3T_3}{TIME\ BLOCK(SEC)}$$

$$\%INHIBITION = \frac{AUC_{CONTROL} - AUC_{TEST}}{AUC_{CONTROL}} \times 100$$

آنالیز آماری

داده های حاصل از هر گروه بر حسب میانگین به اضافه انحراف معیار از میانگین (Mean±SEM) تعریف شدند و سپس مقایسه بین دو گروه به کمک آزمون واریانس یک طرفه (one way ANOVA) و مقایسه بین گروه‌ها به وسیله آزمون کمکی Tukey انجام پذیرفت. $P < 0.05$ نیز به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از آنالیز روغن دانه گیاه مریم گلی جنوبی

به روش GC/MS

روغن دانه‌های گیاه *Salvia sharifii* دارای ظاهری نسبتاً شفاف و زرد رنگ است که در مطالعات قبلی نیز توسط دکتر عسگرپناه و همکارانش ترکیبات تشکیل دهنده روغن دانه های این گیاه به روش GC/MS گزارش شد (۲۸). اجزای

جدول ۱. ترکیبات شناسایی شده در روغن دانه های گیاه مریم گلی جنوبی (*Salvia sharifii* Rech. F. & Esfand)

ردیف	نام ترکیب*	KI [†]	KI [‡]	میزان (%)
۱	پالمیتیک اسید	۱۹۱۷	۱۹۲۱	۹/۴
۲	لینولئیک اسید	۲۰۷۱	۲۰۷۶	۳۹/۷
۳	لینولنیک اسید	۲۱۱۱	۲۱۰۸	۳۶/۷
۴	استئاریک اسید	۲۱۲۵	۲۱۲۸	۲/۱
۵	آراشیدیک اسید	۲۳۳۴	۲۳۲۹	۰/۱
	جمع کل			۸۸

* فهرست ترکیبات به ترتیب زمان بازداری elution: KI[†]: ایندکس کوآتس اندازه گیری شده نسبت به الکان‌های نرمال (C9-C28) در ستون غیر پلار DB-5 تحت شرایط آزمایشگاهی. ایندکس های کوآتس گزارش شده براساس استرهای متیل اسیدچرب محاسبه شده است؛ KI[‡]: ایندکس کوآتس استاندارد از متون علمی

جدول ۲. مقایسه درصد مهار درد در دو فاز حاد و مزمن آزمون فرمالین در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	درصد مهار درد در فاز حاد	درصد مهار درد در فاز مزمن
مفنامیک اسید	۵۴/۱۰	۲۷/۱۴
مورفین	۸۸/۳۳	۷۰/۱۵
روغن دانه مریم گلی جنوبی (۲۰ mg/kg)	۳۲/۷۹	۳۰/۴۸
روغن دانه مریم گلی جنوبی (۱۰۰ mg/kg)	۲۲/۱۳	۶۴/۷۲

اصلی روغن دانه های این گیاه شامل پالمیتیک اسید، لینولنیک اسید، لینولئیک اسید، آراشیدیک اسید و استئاریک اسید است که از این بین Linoleic acid با ۳۹/۷٪ و Linolenic acid با ۳۶/۷٪ بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده‌اند.

بررسی اثرات ضددردی روغن دانه (*Salvia sharifii*) Rech. F. & Esfand در فاز حاد آزمون فرمالین

همان طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود دوزهای ۱۰۰ mg/kg و ۲۰ در ۱۰ دقیقه اول پس از القاء درد توانستند سبب کاهش سطح زیر منحنی نمره درد در مقایسه با گروه کنترل شوند و این کاهش درد در گروه دریافت کننده دوز ۲۰ mg/kg در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود. داروهای ضد درد استاندارد مورفین و مفنامیک اسید نیز بخوبی اثرات و تفاوت معنی دار خود را در مقایسه با گروه کنترل (روغن بادام) نشان دادند. هرچند درصد مهار درد در هر دو دوز نسبت به گروه‌های استاندارد کمتر بود (جدول ۲).

بررسی اثرات ضددردی روغن دانه (*Salvia sharifii*) Rech. F. & Esfand در فاز مزمن آزمون فرمالین

همان طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، دوزهای ۱۰۰ mg/kg و ۲۰ روغن دانه مریم گلی جنوبی توانستند تا ۶۰ دقیقه پس از القاء درد سبب کاهش سطح زیر منحنی نمره درد در مقایسه با گروه کنترل شوند و این کاهش درد در هر دو گروه دریافت کننده روغن در مقایسه با گروه کنترل

بحث

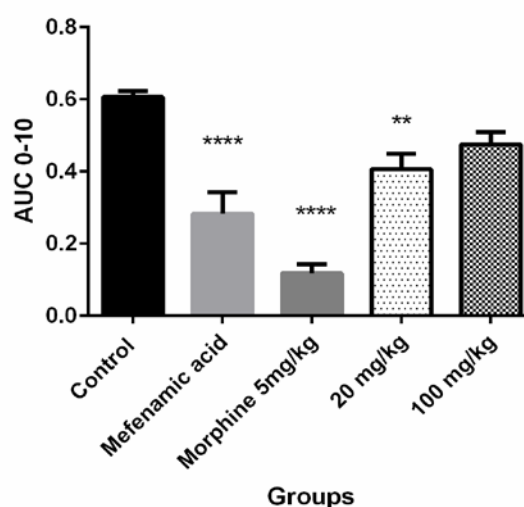
در این مطالعه، برای اولین بار اثرات ضددردی روغن دانه‌های گیاه مریم گلی جنوبی *S. sharifii* با روش آزمون القای درد ناشی از تزریق کف پای فرمالین در موش سوری نر مورد آزمایش قرار گرفت. روغن دانه‌های *S. sharifii* دارای ظاهری نسبتاً شفاف و زرد رنگ است که در مطالعات قبلی توسط دکتر عسگرپناه و همکاران ترکیبات تشکیل دهنده روغن دانه‌های این گیاه به روش GC/MS گزارش شد (۲۸). اجزای اصلی روغن دانه‌های این گیاه، پالمیتیک اسید، لینولنیک اسید، لینولئیک اسید، آراشیدیک اسید و استئاریک اسید هستند که از این بین Linoleic acid با ۳۹٪ و Linolenic acid با ۳۶٪ بیشترین مقدار را به خود اختصاص می‌دهند. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که روغن دانه‌های *S. sharifii* در دوز ۲۰ mg/kg و دوزهای ۲۰ mg/kg و ۱۰۰ اثر ضددردی معنی‌دار به ترتیب در فاز حاد و مزمن درد ناشی از تزریق کف پای فرمالین دارد. این اثر ضددردی قابل مقایسه با داروهای ضددرد استاندارد مورفین و مفنمیک اسید بود.

همانطور که پیشتر اشاره شد از ترکیباتی که بیشترین مقدار را در روغن دانه‌های مریم گلی جنوبی به خود اختصاص می‌دهد، لینولنیک اسید و لینولئیک اسید است. لینولئیک اسید، چرب ضروری است که برای سلامتی بدن ضروری است و به دلیل عدم ساخت آن در بدن، باید از خارج بدن تامین شود و به فرم کونژوگه بوده و به عنوان لینولئیک اسید کونژوگه (CLA) مطرح است. از دیگر گیاهانی که روغن آن سرشار از اسید لینولئیک است روغن شاه دانه است، به طوری که میزان اسید لینولئیک ۷۰-۵۰٪ و آلفا لینولنیک اسید ۲۵-۱۵٪ و نسبت لینولئیک اسید به لینولنیک اسید حدود ۲/۷ است (۳۱). وجود این دو اسید چرب موجود در روغن گیاه شاه دانه در کاهش فشار خون، کاهش کلسترول، نرمال کردن متابولیسم بدن، کاهش انسولین وابسته به دیابت و خواص ضد التهابی و ضد دردی و بهبودی بیماری آرتریت موثر است (۳۲).

مطالعاتی که در مدل‌های حیوانی انجام شده نشان داده که لینولئیک اسید کونژوگه، چاقی را کاهش داده و متابولیسم لیپوپروتئین‌ها را بهبود می‌بخشد. این ماده با توجه به ریسک فاکتورهای بیماری عروق کرونری تا حدودی ممکن است پتانسیل درمانی نیز داشته باشد (۳۳). مطالعات دیگر اثرات ضد التهابی لینولئیک اسید در بیماری‌هایی نظیر لوپوس (۳۴، ۳۵)، بیماری التهابی روده (۳۶، ۳۷)، و سکته قلبی ناشی از اندوتوکسین (۳۸) را گزارش کرده‌اند. همچنین این ماده

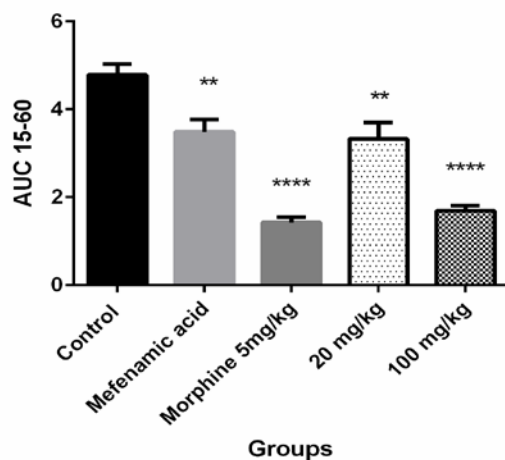
معنی‌دار بود. داروهای ضددرد استاندارد مورفین و مفنمیک اسید نیز بخوبی اثرات و تفاوت معنی‌دار خود را در مقایسه با گروه کنترل (روغن بادام) نشان دادند. درصد مهار درد فاز مزمن در گروه دریافت کننده دوز ۲۰ mg/kg قابل مقایسه با گروه مفنمیک و درصد مهار درد فاز مزمن در گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰ mg/kg قابل مقایسه با مورفین بود (جدول ۲).

Effect of *Salvia sharifii* seed's oil on Acute phase of the formalin test



نمودار ۱. اثرات ضد دردی *S. sharifii* در مقایسه با مفنمیک اسید و مورفین در فاز حاد تست فرمالین. داده‌ها بیانگر Mean±SEM است؛ $n=6-8$ ، $P<0.01$ و $P<0.001$ در مقایسه با گروه کنترل

Effect of *Salvia sharifii* seed's oil on Chronic phase of the formalin test



نمودار ۲. اثرات ضد دردی *S. sharifii* در مقایسه با مفنمیک اسید و مورفین در فاز مزمن تست فرمالین. داده‌ها بیانگر Mean±SEM است؛ $n=6-8$ ، $P<0.01$ و $P<0.001$ در مقایسه با گروه کنترل

TNF α و بیان COX-2 را که جزء فاکتورهای اصلی التهاب هستند را کاهش می‌دهد.

مطالعه تاثیر لینولئیک اسید در مدل آرتریت ناشی از آنتی بادی کلاژن نشان داده که موش‌هایی که از CLA تغذیه کردند امتیاز آرتریت آنها ۷۰٪ موش‌هایی بود که از روغن ذرت تغذیه کردند. همچنین آزمایشات قبلی در مورد لوپوس اریتماتوز سیستمیک اثرات مفید CLA موجود در رژیم غذایی را پیشنهاد می‌کند (۳۹). بر طبق گزارشات مصرف ۳ ماه از مکمل‌های لینولئیک اسید به طور مستقیم باعث کاهش قابل توجهی در دردهای مفاصل و خشکی صبحگاهی و سطح ESR، RF، CRP می‌شود.

جزء اصلی دیگر تشکیل دهنده روغن این گیاه، لینولئیک اسید، یک کربوکسیلیک اسید ۱۸ کربنه است که به دو فرم آلفالینولئیک اسید (ALA) و گامالینولئیک اسید (GLA) است. نوعی از آن که در اسید چرب ضروری گیاهان موجود است، آلفالینولئیک اسید است و بدن انسان قادر به تولید آن نیست و حتما باید از مواد غذایی آن را به دست آورد. آلفالینولئیک اسید پیش ساز دو اسید چرب دیگر تحت عنوان ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) است که نقش مهمی در ساختار مغز، سلامتی قلب و پاسخ‌های التهابی دارند. لینولئیک اسید باعث حفظ ساختار و عملکرد میوکارد شده و فیروز میوکارد را در مدل‌های حیوانی کاردیومیوپاتی تقلیل می‌دهد. همچنین آلفالینولئیک غنی شده در بذر کتان باعث کاهش آرترواسکلروزیس می‌شود. از دیگر اثرات این ماده نقش حفاظتی در آسیب مغزی است که مرگ سلول‌های مغزی با کمک لینولئیک اسید جلوگیری می‌شود (۴۰).

در بررسی‌های انجام شده در ارتباط با رژیم‌های غذایی حاوی آلفالینولئیک اسید، کاهش بیان COX-2 و افزایش آپوپتوز سلول‌های هیپاتوما است. ALA باعث محدود کردن سایز تومور شده و از تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند. این ماده رشد سلول‌های سرطانی سینه و گردن رحم را از طریق کاهش آزاد سازی نیتریک اکساید و افزایش پراکسیداسیون لیپید تنظیم می‌کند. گزارشات انجام شده نشان داده آلفالینولئیک اسید دارای اثر ضد التهاب در سطوح چشمی و سلول‌های اپی تلیال قرنیه است (۴۱).

پیش از این، اثرات بهبود پلاستیسیته مغز، فعالیت ضد افسردگی و افزایش جریان خون در مغز به کمک اسیدلینولئیک در موش گزارش شد. لینولئیک اسید باعث افزایش پلاستیسیته عصبی در سطح مولکولی و سلولی گردید و منجر به بیان پروتئین‌های کلیدی مرتبط با عملکرد سیناپسی و بهبود مسیر

انتقال عصبی گلوتامات شد. همچنین لینولئیک اسید به طور قابل توجهی باعث بهبودی رفتار افسردگی در موش شد (۴۲).

اثرات ضددردی و ضدالتهابی با سایر گونه‌های جنس *Salvia* پیش از این گزارش شده است. از جمله اثرات ضددردی در مدل درد التهابی و نروپاتیکی از عصاره انیل استاتی گونه *Salvia divinorum* گزارش شده است که می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات فعال دی ترپنی مانند *salvinorin A, B* با آگونیسست انتخابی و قوی گیرنده‌های کاپا اوپیوئیدی باشد (۴۳). اثرات ضددردی و ضدالتهابی به ترتیب در مدل‌های درد *hot plate* و فرمالین و مدل‌های التهابی تزریق کارائینان و کاشت *cotton pellet* از عصاره گونه *Salvia officinalis L.* گزارش شده است (۴۴). به علاوه اثرات ضددردی و ضدالتهابی در مدل‌های درد *hot plate* و *tail flick* و مدل‌های التهابی تزریق اسید استیک و نیز *xylene-induced ear oedema* از عصاره آبی دانه‌های گونه *Salvia leriifolia* گزارش شده است (۴۵). با توجه به تفاوت ترکیبات موثر موجود در گونه‌های مختلف *Salvia* اثرات گزارش شده از این گونه‌ها در مدل‌های مختلف درد و التهاب می‌تواند متفاوت باشد و قابل بحث و بررسی است.

در این مطالعه، نقش فاکتورهای التهابی و کانال یونی در کنترل درد ناشی از به کارگیری روغن مریم گلی جنوبی مورد بررسی قرار نگرفت، اما می‌توان آن را تحقیقی در آینده دانست. در نتیجه، ممکن است بخشی از اثرات ضددردی این گیاه به دلیل کاهش حساسیت مرکزی به برخی از مواد التهابی باشد و یا ممانعت در تولید فاکتورهای التهابی و اثرات ضدالتهابی روغن که سبب کاهش پاسخ درد شده است. بنابراین ممکن است که اجزای تشکیل دهنده روغن مریم گلی جنوبی رفتار درد را با تعدیل فعالیت کانال‌های یونی کاهش دهد یا مانع ایجاد فاکتورهای التهابی یا خنثی سازی آنها شود. همان طور که گزارش‌های متعدد در مورد فعالیت ضددردی آلفالینولئیک اسید و اسیدلینولئیک وجود دارد، کار آتی برای ارزیابی دقیق مکانیسم اثر ضددردی این مواد خالص در آزمایشگاه پیشنهاد می‌شود. البته، مسومیت آلفالینولئیک اسید نیز از مسائل مهمی است که باید مورد توجه قرار بگیرد. اطلاعات سم شناسی محدودی برای آلفالینولئیک اسید وجود دارد. هر چند هیچ عوارض جانبی جدی اعلام نشده است، با این حال مطالعه‌ای بین سرطان پروستات و رژیم غذایی در اروگوئه، شواهد ارتباط بین این دو را نشان می‌دهد (۴۶).

امروزه بیشتر مردم دنیا به جای استفاده از داروهای شیمیایی سعی می‌کنند برای جلوگیری از ابتلا به بیماری درد مفاصل و ارتقاء سلامت و رفاه خود از داروهای مکمل از جمله لینولئیک

اسید ولینولئیک اسید که جزوه اسید چرب اشباع نشده هستند
استفاده کنند. با توجه به این اطلاعات می توان روغن دانه گیاه
مریم گلی جنوبی را گزینه مناسبی جهت تهیه یک داروی ضد
درد و ضد التهاب معرفی کرد، هر چند جهت تکمیل مطالعات
سم شناسی بررسی سمیت تحت مزمن و نیز سمیت جلدی
جهت بکارگیری موضعی روغن پیشنهاد می شود.

REFERENCES

- Ghassemi Dehkordi N, Sajjadi SE, Ghanndadi A, Amanzadeh Y, Azadbakht M, Asghari GR, et al. Iranian herbal pharmavopoeia (IHP). *Hakim Health Sys Res* 2003;16:63-9.
- Sharafzadeh S, Alizadeh O. Some medicinal plants cultivated in Iran. *J Appl Pharm Sci* 2012;2:134-7.
- Imanshahidi M, Hosseinzade H. The pharmacological effect of *Salvia* species on the central nervous system. *Phytother Res* 2006;20:427-37.
- Kuzma L, Skrzypek Z, Wysokinska H. Diterpenoids and triterpenoid in hairy roots of *salvia sclarea*. *PCTOC* 2006;4:171-9.
- Lu Y, Foo LY. Polyphenolics of *Salvia*-a review. *Phytochemistry* 2002;59:117-40.
- Thangaraju M, Rameshbabu J, Vasavi H, Ilanchezhian S, Vinitha R, Sachdandam. The salubrious effect of tamaxifen on serum marker enzymes, glycoproteins, and Lysosomal enzymes level in breast cancer women. *Mol Cell Biochem* 1998;185:85-94.
- Mark C, Lesley B. *Herbs and Natural Supplements: An evidence based guide*. Churchill Livingstone Australia 2010;1013-8.
- Caliskan O, Ayan AK, Cirak C. Seedling quality of common sage (*Salvia officinalis* L.) as affected by seedling production methods. *Commun Biometry Crop Sci* 2006;1:106-10.
- Menq XC, Hou JC, Jiaq Y. *Salvia miltiorrhizae* in the treatment of the viral myocarditis. *Zhonoqquo Zhonq Xi Yi Jie Za Zhi* 1992;12:345-7, 324-5.
- Takeo S, Tanonaka K, Hirai K, Kawaqachi K, Oqawa M, Yaq A, et al. Beneficial effect of tan-shen, an extract from the root of *Salvia*, on post-hypoxic recovery of cardiac contractile force. *Biochem Pharmacol* 1990;40:1137-43.
- Baricevic D, Sosa S, Della Loggia R, Tubaro A, Simonovska B, Krasna A, et al. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves;the relevance of ursolic acid. *J Ethnopharmacol* 2001;75:125-32.
- Kianbakht S, Abasi B, Perham M, Hashem Dabaghian F. Antihyperlipidemic Effect of *Salvia officinalis* L. Leaf Extract in Patient with Hyperlipidemia: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. *Phytother Res* 2011;25:1849-53.
- Sajjadi Se, Ghannadi A. Essential oil of the Persian sage, *Salvia rhytidea* Benth. *Acta Pharm* 2005;55:321-6.
- Lu Y, Foo Y. Polyphenolics of *Salvia*--a review. *Phytochemistry* 2002;59:117-140.
- Ahmadi Sh, Babakhanlu P, Karimifar Ma. *Medicinal Plants of Lorestan*. Yafte 2010;11:85-100.
- Mozaffarian V. *A Dictionary of Iranian Plant Names*. Tehran: Farhang Moaser Pub, 1996. [In Persian]
- Soltanipoor MA. Medicinal plants of the Geno protected area. Research Center Agricultural and Natural Resources of Hormozgan Province. *Pajouhesh-VA-Sazandegi* 2005;68:27-37. [In Persian]
- Farjam Mh, Rustaiyan A, Ezzatzadeh E, Jassbi AR. Labdane-Type Diterpene and Two Flavones from *Salvia Sharifii* Rech. F and Esfan and their Biological Activities. *Iran J Pharm Res* 2013;12:395-400.
- Najafi S, Mousavi M, Shafeghat M. Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of Medical Plant *Salvia sharifii* Rech. F. & Esfand. *IJIDTM* 2016;71:33-9. [In Persian]
- Jill MT, Navindra PS, Chengshui Z, Muraleedharan GN, Richard AM, Srinivas NR. Tart cherry anthocyanins suppress inflammation-induced pain behavior in rat. *Behav Brain Res* 2004;153:181-8.
- Tzulker R, Glazer I, Bar-Ilan I, Holland D, Aviram M, Amir R. Antioxidant Activeity, polyphenol content and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *J Agric Food Chem* 2007;55:9559-67.
- Ehrich EW, Dallob A, Delepeleire I, Riendeau D, Yuan W, Porras A, et al. Characterization of rofecoxib as a cyclooxygenase 2 isoform inhibitor and demonstration of analgesia in the dental pain model. *Clin Pharmacol Ther* 1992;65:336-47.
- Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 2004;84:87-136.

24. Kavvadias D, Sand P, Youdim KA, Qaiser MZ, Rice-Evans C, Baur R, et al. The flavones hispidulin, a benzodiazepine receptor ligand with positive allosteric properties, traverses the blood brain barrier and exhibits anticonvulsive effect. *Br J Pharmacol* 2004;142:811-20.
25. Pereira P, Tysca D, Oliveira P, da Silva Bruum LF, Picada JN, Ardenghi P. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosemarinic acid. *Pharmacol Res* 2005;52:199-203.
26. al-Sereiti MR, Abu-Amer KM, Sen P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potential. *Indian J Exp Biol* 1992;37:124-30.
27. Melo GAN, Fonseca JP, Oliveira Farinha Th, Pinho RJ, Damião MJ, Grespan R, et al. Anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. *J Med Plants Res* 2010;6:4934-39.
28. Alipour-Gougeh S, Asgarpanah J. Essential and fixed oil chemical composition of the seeds from the endemic species *Salvia sharifi* Reach. f. & Esfand. *J Chil Chem Soc* 2015;60:2695-7.
29. Johnson GH, Fritsche K. Effect of dietary linoleic acid on markers of inflammation in healthy persons. A systematic review of randomized controlled trials. *J Acad Nutr Diet* 2012;112:1029-41.
30. Kapoor R, Huang YS. Gamma linolenic acid: an antiinflammatory omega-6 fatty acid. *Curr Pharm Biotechnol* 2006;7:531-4.
31. Koga T, Nonaka M, Gu JY, Sugano M. Linoleic and alpha Linolenic acids differently modify the effects of elaidic acid on polyunsaturated fatty acid metabolism and some immune indices in rats. *Br J Nutr* 1997;77:645-56.
32. Hansen HS. New biological and clinical roles for n-3 fatty acids. *Nutr Rev* 1994;52:162-7.
33. Noone EJ, Roche HM, Nugent AP, Gibney MJ. The effect of dietary supplementation using isomeric blends of conjugated linoleic acid on lipid metabolism in healthy human subjects. *Br J Nutr* 2007;88:243-51.
34. Yang M, Pariza MW, Cook ME. Dietary conjugated linoleic acid protects against end stage disease of systemic lupus Erythematosus in the NZB/W F mouse. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2000;16:433-49.
35. Bergamo P, Maurano F, Rossi M. Phase 2 enzyme induction by conjugated linoleic acid improves lupus-associated oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2007;43:71-9.
36. Bassaganya-Riera J, Hontecillas R, Beitz Dc. Colonic anti-inflammatory mechanisms of conjugated linoleic acid. *Clin Nutr* 2002;21:451-59.
37. Bassaganya-Riera J, Reynolds K, Martino-Catt S, Cui Y, Hennighausen L, Gonzalez F, et al. Activation of PPAR gamma and delta by conjugated linoleic acid mediates protection from experimental inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2004;127:777-91.
38. Miller CC, Park Y, Pariza MW, Cook ME. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;198:1107-12.
39. Nicolosi RJ, Rogers EJ, Kritchevsky D, Scimeca JA, Huth PJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 1997;22:266-77.
40. Xiao YF, Kang JX, Morgan JP, Leaf A. Blocking effects of polyunsaturated fatty acids on Na⁺ channels of neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:11000-4.
41. Kim KB, Nam YA, Kim HS, Hayes AW, Lee BM. α -Linolenic acid Nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation. *Food Chem Toxicol* 2014;70:163-78.
42. Lauritzen I, Blondeau N, Heurteaux C, Widmann C, Romey G, Lazdunski M. Polyunsaturated fatty acids are potent neuroprotectors. *EMBO J* 2000;19:1784-93.
43. Hosseinzadeh H, Haddadkhodaparast MH, Arash AR. Antinociceptive, antiinflammatory and acute toxicity effects of *Salvia leriifolia* Benth seed extract in mice and rats. *Phytother Res* 2003;17:422-5.
44. Qnais EY, Abu-Dieyeh M, Abdulla FA, Abdalla SS. The antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Salvia officinalis* leaf aqueous and butanol extracts. *Pharm Biol* 2010;48:1149-56.
45. Simón-Arceo K, González-Trujano ME, Coffeen U, Fernández-Mas R, Mercado F, Almanza A, et al. Neuropathic and inflammatory antinociceptive effects and electrocortical changes produced by *Salvia divinorum* in rats. *J Ethnopharmacol* 2017;206:115-24.
46. Carayol M, Grosclaude P, Delpierre C. Prospective studies of dietary alpha-linolenic acid intake and prostate cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Causes Control* 2010;21:347-55.