



دانشکده طب سنتی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی

رساله

جهت دریافت درجه دکترای تخصصی Ph.D. داروسازی سنتی

عنوان

**بررسی اثرات ضددردی برخی از گیاهان معرفی شده در طب سنتی ایران  
بر استئوآرتریت زانو با استفاده از مدل تجربی موش صحرائی**

اساتید راهنما

دکتر شمیم صحرانورد

دکتر مهرداد فیضی

اساتید مشاور

دکتر محمدجواد قراگزلو

دکتر طاهره تولیت

نگارش

دکتر آتوسا ضیایی

## چکیده فارسی

عنوان: بررسی اثرات ضددردی برخی از گیاهان معرفی شده در طب سنتی ایران بر استئوآرتریت زانو با استفاده از مدل تجربی موش صحرائی.

خلاصه: گیاهان متعددی برای درمان انواع دردهای مفاصل در طب سنتی ایران معرفی شده‌اند. درد زانو یکی از مهمترین بیماریهایی بوده است که اطباء سنتی ایران توجه ویژه‌ای به آن داشته‌اند. از جمله مهمترین گیاهانی که در کتب طب سنتی ایران جهت کاهش درد زانو ذکر شده است، مخلوط گیاهان حنا و کرچک و نیز گیاه چنار می‌باشد. در این پایان نامه اثرات ضد درد و ضد التهابی این سه گیاه بر روی درد زانوی القایی در موش صحرائی بررسی شد. تزریق ماده شیمیایی منو سدیم یدواستات<sup>۱</sup> موجب ایجاد استئوآرتریت القایی در زانوی موش صحرائی می‌شود، در این تحقیق از این روش استفاده شد و درمان موضعی ۱۴ روز ادامه داشته و آزمون‌های بررسی درد و التهاب انجام شد. آزمون‌های هیستوپاتولوژیک نیز برای تأیید اثرات فارماکولوژی انجام شد. گیاهان حنا و کرچک در فرمول ژل استفاده شدند و مجدداً آزمون‌های رفتاری و هیستوپاتولوژی جهت بررسی اثر ژل فوق انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه گیاهان معرفی شده با مورد مصرف موضعی جهت وجع الرکبه (درد زانو) در کتب طب سنتی ایران مورد بررسی قرار گرفتند. در کل بررسی‌های انجام شده پنج مفرد گیاهی در این کتب جهت کاهش درد زانو معرفی شده بودند که بعضی از آنها سمی بوده و بعضی نیز بومی ایران نبودند. گیاهان چنار و نیز مخلوط حنا و کرچک که اثر ضد درد زانو برای آنها قید شده و مورد مصرف موضعی به صورت ضماد را انتخاب شدند، که تا کنون بررسی علمی در خصوص اثرات ضد درد موضعی آنها انجام نشده است.

تجویز دارو: هرکدام از عصاره‌های خشک تهیه شده با مقداری حلال ترکیب (۰/۲ میلی گرم در ۰/۳ میلی لیتر) و به صورت موضعی روی زانوی چپ و ملتهب حیوان مالیده شد.

گروه‌های حیوانات: به منظور انجام آزمایشات، ۲۴ عدد موش صحرائی انتخاب و پس از بیهوش کردن آنها، ماده شیمیایی MIA داخل آرتیکولار زانوی چپ تزریق شد و بعد از ایجاد التهاب حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه شامل: گروه کنترل منفی، کنترل مثبت، تست و شاهد تقسیم شدند. داروهای گیاهی طی ۱۴ روز با شرای

یکسان به زانوی ملتهب موش‌ها مالیده شده و بررسی‌های رفتاری اثرات ضددردی و ضدالتهابی تا ۲۱ روز بعد از تزریق MIA انجام شد.

آزمایشات هیستوپاتولوژی جهت تأیید پاسخ‌های فارماکولوژی انجام شد. مقطع میکروسکوپی مفصل زانو پس از دکلسیفیکاسیون با روش اسید فرمیک و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین پاریس مورد بررسی قرار گرفت. مقطع زانوی موش روز بعد از تزریق MIA و ۴ گروه دیگر یعنی زانوی موش سالم تزریق شده با نرمال سالین و موش‌های درمان شده با ژل دیکلوفناک و درمان شده با ژل گیاهی و درمان نشده بعد از ۱۴ روز از تزریق MIA جهت بررسی‌های هیستوپاتولوژی انتخاب شدند. گیاهان کرچک و حنا با غلظت مساوی با توجه به پاسخ مثبت بدست آمده از مرحله اول در پایه ژل ۳۳ درصد فرموله شدند و بر روی ژل گیاهی تهیه شده کلیه آزمون‌های کنترل فیزیوشیمیایی و کنترل میکروبی لازم انجام شد. آزمون‌های رفتاری مشخص شده در مرحله اول (استفاده از مخلوط عصاره‌ها) مجدداً جهت ارزیابی ژل گیاهی فرموله شده انجام شد. ژل تهیه شده اثرش همانند مخلوط عصاره‌ها بدون پایه ژل بود. پس از مشاهده اثرات ضددردی و ضدالتهابی، بررسی‌های هیستوپاتولوژی (آسیب‌شناسی بافت) بر روی نمونه زانوی حیوان انجام شد.

یافته‌ها: در کلیه آزمون‌ها استفاده موضعی گیاه حنا به تنهایی و همچنین مخلوط دو گیاه کرچک و حنا به طور معناداری دارای اثر ضددردی و ضدالتهاب بوجود آمده توسط تزریق ماده شیمیایی منو سدیم ید و استات بر زانوی موش صحرائی بود. در آزمایش ون فری، مخلوط عصاره‌ها و فرمولاسیون تهیه شده دارای پاسخ ضددردی به تحریک لمسی فیلامنت‌های ون فری بعد از ۱۰ و ۲۱ روز در فاز مزمن درد بود. اثر ضددردی مخلوط عصاره‌ها و ژل تهیه شده نسبت به تحریک حرارتی در آزمون صفحه داغ بعد از ۱۰ روز در فاز مزمن درد مشاهده شد. اثر مخلوط عصاره‌ها و فرمولاسیون تهیه شده باعث بهبود حرکت حیوان بعد از ۷ روز در آزمون جعبه باز مشاهده شد. تحمل وزن در آزمون فوت پرینت یا بررسی لکه جای پای حیوان با توجه به بررسی پیکسل‌ها توسط نرم افزار Image J بعد از هفته اول مشاهده شد. مخلوط عصاره‌ها در درمان التهاب ایجاد شده در مدل MIA بعد از ۳ روز در آزمون‌های اندازه‌گیری حجم و قطر زانوی موش مربوط به اثر عصاره‌ها و نیز فرمولاسیون تهیه شده، در فاز حاد التهابی اثر داشتند. در این تحقیق با توجه به بررسی‌های فارماکولوژی و هیستوپاتولوژی، ژل گیاهی تهیه شده اثر ضدالتهابی مشابه ژل دیکلوفناک و بدون عوارض جانبی نشان داد، مزیت استفاده از این ژل جهت درمان التهاب و با شروع اثر دیرتر جهت اثر ضددردی مورد تأیید قرار گرفت.

---

پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی اثر مخلوط حنا و کرچک در فرمولاسیون دارویی موضعی با درصد پایینتر مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به اثرات قابل توجه ژل گیاهی تهیه شده در این تحقیق، فرآورده فوق می‌تواند کاندیدای مناسبی جهت مطالعات بالینی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: اثرات ضددردی، گیاهان دارویی، طب سنتی ایران، استئوآرتریت زانو، موش صحرایی.

## Abstract

**Title:** Evaluation of analgesic effects of some plants introduced in Iranian Traditional Medicine used experimental model of knee osteoarthritis in rat.

In Iranian Traditional Medicine (ITM) many plants were used for reducing different kinds of joint pains. Knee pain is one of the important diseases that ancient Iranian scientists paid attention to it. The mixture of the leaves of *Lawsonia inermis* L. (Henna) with leaf water of *Ricinus communis* and the leaves of *Platanus orientalis* L. mentioned to have effect on knee pain relief. The present study designed to evaluate the analgesic and anti-inflammatory effect of these herbs in male rats. We induced knee osteoarthritis as a model of chronic pain by intra articular injection of MIA (mono sodium iodo-acetate) then the animals treated with topical herbal extracts tested for analgesic and anti-inflammatory effects. We did histopathological tests to confirm pharmacological results.

**Material and Methods:** In this study, we searched the plants used for the treatment of knee pain in Iranian traditional medicine. We found five plants that introduced in these books, some of them were toxic and others were not indigenous to Iran. We selected the mixture of *L.inermis* (Henna) and *R.communis*, *P.orientalis* that used topically for knee pain relief. There was not any scientific review before this study.

**Drug administration:** The dry extracts mixed at the same percentage, suspended with water and administered topically on the left hind paw of the animal. The control group received the same volume of vehicle by the same route. Diclofenac gel used as positive group.

**Animals and experimental groups:** Twenty-four adult male wistar rats selected, anesthetized and Osteoarthritis induced by single intra-articular injection of monosodium iodoacetate. They divided into 4 groups: Sham group (S), control group (C), negative group (N) and positive group (P). We performed behavioral analgesic and anti-inflammatory tests for 21 days.

Histopathological studies performed to ensure the responses obtained from the pharmacological experiments. Scoring of the severity of the articular or periarticular tissue lesions including acute or chronic inflammatory lesions in the tissue sections stained with Harris hematoxylin and Eosine method assessed. We had five kinds of sections: Sham injected by saline, A day after injected MIA (Inflammation peak day), Diclofenac gel, Mixture of extracts or herbal gel, No treatment. Two herbs as the positive response in extracts

---

in a gel formulation formulated and all of the physicochemical and microbial tests performed. We did pharmacological tests for the new formulation and after seeing positive results histopathological tests performed.

Results: Topical use of the mixture of henna and *R.communis* extracts or henna lonely had anti-inflammatory and analgesic effects on osteoarthritis induced by MIA. In Von Frey test, extracts and formulations, has analgesic response to tactile stimulation von Frey filaments after 10 and 21 days in the chronic phase. The analgesic effect of extracts and gel compared to thermal stimulation on the hot plate test observed after 10 days in the chronic phase. The effect of extracts and formulations, improve the movement of the animals observed after 7 days in the open filed test. Weight-bearing footprint test or study spots in the footsteps of the animals given pixel by software image J observed after the first week. Extracts and formulations for the treatment of inflammation in the model MIA after three days in tests to measure the volume and diameter of the rat knee in the acute phase inflammatory affect. The effects of anti-inflammatory herbal gel prepared according to a review of the pharmacology and histopathology similar to diclofenac gel without side effects the advantage of using this gel for the treatment of inflammation and the onset of analgesic effect approved later. It suggested that future studies on the effect of mixing henna and *R.communis* topical formulation with a lower percentage examined. Due to the significant effects of herbal gel prepared in this study, the above products can be a good candidate for clinical studies.

**Keywords:** Analgesic activities, Medicinal plants, Knee osteoarthritis, Iranian Traditional Medicine.