مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

معرفی دو گونه حلزون مخروطی از سواحل قشم، حاوی کونوتوکسین‌های تسکین‌دهنده درد در موش سوری

حلیمه رجبی[۱*]، حسین ذوالقرنین[۲]، محمد تقی رونق[۲]، احمد سواری[۲]، محمد شریف رنجبر[۳]

[۱] دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی آبادان

[۲] گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

[۳] گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۶/۰۱/۱۹
اصلاح: ۹۶/۰۳/۲۳
پذیرش: ۹۶/۰۷/۰۶

کلمات کلیدی:
حلزون
ضد درد
کونوتوکسین
همولیتیک

چکیده

کونوتوکسینها، پپتیدهای کوچک سمی هستند که در مجرای سم حلزون‌های مخروطی سنتز می‌شوند. کونوتوکسین‌ها دارای اثرات ضد درد در مدل‌های حیوانی مورد آزمایش هستند. در این مطالعه اثرات ضد درد بدون ایجاد سمیت، کونوتوکسین‌های حلزون‌های مخروطی خلیج‌فارس، *Conus coronatus* و *Conus frigidus* بررسی و با همان غلظت مورفین مقایسه شدند. استخراج کونوتوکسین‌ها با استفاده از حلال استونیتریل، از مجرای سم حلزون‌های مخروطی انجام گردید. وزن مولکولی آن‌ها، با روش SDS-PAGE و پروفایل کونوتوکسین‌ها با استفاده از RP-HPLC تعیین شد. ارزیابی اثرات ضد درد با آزمون رفتاری فرمالین در مدل موش سوری انجام شد. اثرات سمیت عصاره‌های کونوتوکسینی با استفاده از تست همولیتیک انجام گردید. نتایج نشان داد که عصاره‌های کونوتوکسینی دارای محدوده وزنی ۵-۱۸۰ کیلو دالتون، فاقد اثرات همولیتیک و قادر به کاهش اثرات ماده دردزای فرمالین، در فاز اول هستند که با اثرات داروی مورفین در کاهش درد، برابری می‌کند. لذا با در نظر گرفتن عوارض داروهای ضد درد اپیوئیدی، چنان چه مطالعات تخلیص، سم‌شناسی و بالینی این عصاره‌ها انجام شود، می‌توان آن‌ها را کاندیدای مناسبی برای تولید داروهای مسکن طبیعی دانست و به کار برد.

مقدمــه

درد، از شایع‌ترین مشکلاتی است که انسان سال‌ها تلاش می‌کند تا برای رهایی از آن چاره‌ای بیابد. درد معمولاً به علت تخریب و یا آسیب وارده به یک بافت بوده که معمولاً ناشی از محرک‌های شیمیایی، حرارتی، مکانیکی و الکتریکی به وجود می‌آید و به دو صورت حاد و مزمن بروز می‌کند که در هر دو حالت می‌تواند به عنوان یک عامل محدودکننده یا ناتوان‌کننده مانع از انجام فعالیت‌های روزمره شود (Woolf, 2004). با توجه به اینکه داروهای ضد درد موجود دارای عوارض نامطلوبی هستند (Murray and Brater, 1993). جستجو برای یافتن داروی ضد درد جدید که دارای عارضه کمتر باشد امری منطقی بوده و چنین به نظر می‌رسد که کونوتوکسینهای استخراجی از حلزون‌های مخروطی به دلیل ویژگی‌های ضد درد خود مورد توجه محققان هستند. به‌طوری‌که حدود ۴۰۰۰ مقاله تا کنون در ارتباط با فیلوژنی، بیولوژی و سموم آن‌ها منتشر شده است (Walker *et al.*, 1999;

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: halimeh.rajabi@gmail.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]

(Wu *et al.*, 2010; Hu *et al.*, 2011; Violette *et al.*, 2012; Dutertre *et al.*, 2013). البته باید توجه داشت که این حجم از مطالعات در مقایسه با تعداد زیاد حلزون‌های مخروطی که حدود ۸۰۳ گونه تخمین زده شده است (WoRMS, 2014)، اندک است. اگرچه تاکنون چندین کونوتوکسین به مراحل کلینیکال داروهای بشری رسیده‌اند، نیاز به کشف و پیشرفت در مورد داروهای ضد درد غیر اپیوئیدی که زیر واحدهای انتخابی کانال‌های مختلف را بلوکه می‌کنند، وجود دارد (Zhang *et al.*, 2007). کنترل درد، از طریق سیستم‌ها و گیرنده‌های مختلف صورت می‌گیرد. از جمله این سیستم‌ها کولینرژیک است که یکی از چند سیستم تعدیل‌کننده درد بوده که هم در سطح قشر مغز و هم در سطح تنه مغز (Rodreguez *et al.*, 2015) موجب مهار دردهای عمدتاً تونیکی و مداوم می‌گردد. این تأثیرات از طریق گیرنده‌های متفاوت اعمال می‌شود که مهم‌ترین آن‌ها ضد دردهای اوپیوئیدی است که بی‌دردی را با اتصال به گیرنده‌های اختصاصی جفت شده با پروتئین G تولید می‌کند و از طریق تعامل بر روی باز و بسته شدن کانال‌های یونی اثر می‌نماید. این گیرنده‌ها به طور عمده در مناطقی از مغز و نخاع که درگیر انتقال و تنظیم درد هستند، قرار دارد. کونوتوکسینها نیز با تنوع مولکولی قابل‌توجه خود و توانایی بالا در هدف قرار دادن گیرنده‌های عصبی، کانال‌های یونی و ناقل‌ها، مورد توجه هستند (Kaas *et al.*, 2012; Lewis *et al.*, 2012). بعضی از کونوتوکسین‌ها، کانال‌های تنظیم‌کننده‌ی جریان پتاسیم یا سدیم در دیواره‌ی سلولی اعصاب یا سلول‌های ماهیچه‌ای را تنظیم می‌کنند (Favreau *et al.*, 2012) و بعضی دیگر به گیرنده‌های N-متیل D-آسپارتات اتصال یافته و اجازه می‌دهند که یون‌های کلسیم به درون سلول‌های ماهیچه‌ای اعصاب وارد شوند (Scott *et al.*, 2002)، بعضی نیز آنتاگونیست[1]های اختصاصی گیرنده‌های استیل کولین که در انقباض ماهیچه‌ای نقش دارد، می‌باشند (Santos *et al.*, 2004).

برای تعیین اینکه آیا کونوتوکسینهای گونه‌های حلزون مخروطی حاوی اثرات ضد درد می‌باشند، از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که متداول‌ترین آن استفاده از مدل‌های حیوانی و آزمون‌های رفتاری است (Bernaldez *et al.*, 2013). یکی از این آزمون‌ها، آزمون فرمالین می‌باشد. درد ناشی از فرمالین یک درد دو فازی است که دقایق ۵-۰ پس از تزریق، به عنوان فاز اول درد (درد نروژنیک) و دقایق ۶۰-۱۵ به عنوان فاز دوم (درد التهابی) در نظر گرفته می‌شود (Tjolsen *et al.*, 1992). در بررسی منابع اطلاعاتی و متون علمی، مطالعه‌ای از اثرات ضد درد کونوتوکسینهای دو گونه حلزون مخروطی *C. coronatus* و *C. frigidus* یافت نشد. لذا این گزارش اولین مطالعه در سطح جهانی بوده و با توجه به اولویت‌های پژوهشی وزارت علوم و تحقیقات و فناوری (عتف)، شامل بند دهم این اولویت‌ها می‌باشد. در این تحقیق اثرات ضد درد کونوتوکسین‌های دو گونه غالب حلزون مخروطی خلیج‌فارس به روش آزمون فرمالین با مبنای شیمیایی ایجاد درد (Heidari *et al.*, 1996) در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه‌برداری از ساحل پارک زیتون جزیره قشم (موقعیت جغرافیایی: N 26055.631 E 056015.209) انجام گرفت به شکلی که ۳۵ نمونه حلزون مخروطی گونه *C. frigidus* و ۴۸ نمونه از گونه *C. coronatus* جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها همراه با آب دریا به آزمایشگاه منتقل و در شرایط استریل و روی یخ تشریح شدند. مجراهای سم جداسازی و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

استخراج کونوتوکسین‌ها

برای استخراج کونوتوکسینها، مجراهای سم به همراه آب تزریق سرد و سری افزایشی استونیتریل (محصول مرک، آلمان) هموژن گردیدند. سپس به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. محلول رویی که حاوی کونوتوکسینهای مجرای سم بوده به میکروتیوپ جدید منتقل و لیوفیلیز گردید، سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد (Tayo *et al.*, 2012)

[1] Antagonist

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]

سنجش غلظت عصاره‌های کونوتوکسینی

برای سنجش غلظت، از روش رنگ سنجی برادفورد استفاده شد. سنجش پروتئین کل به این روش، یک روش تحلیلی اسپکتروسکوپی است که برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین در یک محلول استفاده می‌شود. تغییر رنگ معرف در زمان اتصال به پروتئین، معیاری برای سنجش پروتئین کل است (Bradford, 1976).

تعیین وزن مولکولی

ژل پلی آکریل آمید مطابق روش Laemmli (۱۹۷۰)تهیه گردید. نمونه‌ها با بافر لودیگ در دمای ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه جوشانده شدند تا پروتئین‌ها به طور کامل دناتوره شوند. سپس به درون چاهک تلقیح شدند و در اختلاف پتانسیل الکتریکی ۹۰ ولت به مدت سه ساعت قرار گرفتند. محلول‌های مورد استفاده برای ژل Resolving ۱۵درصد، شامل: آکریل آمید میکس ۳۰ درصد (محصول مرک، آلمان)، تریس ۱/۵ مولار(محصول سیناژن، ایران)، SDS [۲] ۱۰ درصد (محصول سیناژن، ایران)، APS [۳]۱۰درصد (محصول سیگما، آلمان)، TEMED [۴](محصول مرک، آلمان) بود. مارکر پروتئین از شرکت سیناژن تهیه شد. هر باند در این مارکر حاوی ۰/۲ تا ۰/۴ (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) پروتئین است.

تعیین کروماتوگرام عصاره کونوتوکسینی با استفاده از RP-HPLC [۵]

سم لیوفیلیز شده در ابتدا با آب تزریق، رقیق گردیده و سپس با غلظت مناسب جهت تزریق به RP-HPLC مدل Knauer ساخت آلمان، استفاده گردید. ستون مورد استفاده Analytical C18، مدل Coulter ساخت آمریکا با سایز ذرات ۵ میکرومتر، سایز منافذ ۳۰۰ انگستروم و اندازه ستون ۲۵۰ X ۴/۶ میلی‌متر بود برای جداسازی کونوتوکسین‌ها، از آب حاوی ۰/۰۵ درصد تری فلورواستیک اسید و استونیتریل حاوی ۰/۰۵درصد تری فلورواستیک اسید با تعیین برنامه شیب (۰ تا۹۰ درصد استونیتریل) در مدت ۹۰ دقیقه با سرعتی معادل یک میلی‌لیتر به دقیقه استفاده گردید. برای قرائت پیک‌های به دست آمده از شناساگر UV با طول موج‌های ۲۱۴ و ۲۸۰ نانومتر استفاده شد.

تعیین میزان سمیت کونوتوکسین ها با تست همولیتیک

در این تست از ۵ میلی‌لیتر خون تازه هپارینه انسانی استفاده شد. پس از سانتریفیوژ نمودن خون و جداسازی پلاسمای آن، تنها از گلبول‌های قرمز خونی برای این کار استفاده گردید. با استفاده از سرم فیزیولوژی، از رسوب گلبول‌های قرمز یک سوسپانسیون ۲ درصد تهیه شد. برای انجام تست همولیتیک، سوسپانسیون حاصل به ۸ خانه از یک میکروپلیت ۹۶ خانه تخت (۱۰۰ میکرولیتر برای هر خانه) منتقل و با هشت غلظت سریالی از عصاره کونوتوکسینی (غلظت‌های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲، ۳۱، ۱۶، ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تیمار گردیدند. به عنوان کنترل مثبت و منفی از همان مقدار سوسپانسیون با تیمار ترایتون X-100 و سرم فیزیولوژی به ترتیب استفاده شد. پلیت ۹۶ خانه حاوی نمونه‌های مورد آزمایش و کنترل‌های مثبت و منفی در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت دو ساعت قرار داده شد. پس از پایان این مدت سانتریفیوژ شده (۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰rpm) و ۶۰ میکرولیتر از محلول رویی هر یک از خانه‌ها به پلیت دیگری منتقل گردید. میزان جذب نمونه‌ها (OD [۶]) در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط الایزا ریدر اندازه‌گیری گردید. درصد فعالیت همولیتیک نمونه‌ها در مقایسه با کنترل مثبت از رابطه ذیل محاسبه شد:

درصد همولیتیک= [(OD نمونه-OD کنترل منفی)/(OD کنترل مثبت-OD کنترل منفی)] X ۱۰۰

[2] Sodium Dodecyl Sulfate
[3] Ammonium Persulfate
[4] Tetramethylethylenediamine
[5] Reverse Phase High-Performance Liquid Chromatography
[6] Optical Density

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]

آزمون ضد درد فرمالین

در این مطالعه از موش‌های نر سوری در محدوده وزنی ۲۰ تا ۲۵ گرم تهیه شده از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز استفاده شد. حیوانات در خانه حیوانات دانشکده داروسازی نگهداری شدند و غذای فشرده مخصوص حیوان در اختیار آن‌ها قرار گرفت. سیکل نوری ۱۲ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۲±۲۳ و میزان رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد در نظر گرفته شد. وزن هر موش یک ساعت قبل از آزمایش اندازه‌گیری و بدون آب و غذا در قفس مجزایی قرار گرفتند. در تزریق صفاقی به ازای هر ۱۰گرم وزن موش سوری ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره کونوتوکسینی، نرمال سالین، مورفین با سرنگ انسولین، تزریق گردید. تعداد موش‌های هر گروه آزمایش ۷ عدد بود (Malmberg and Yaksh, 1994; Bernaldez *et al.*, 2013).

این آزمون در یک جعبه به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ انجام گرفت. در ابتدا عصاره کونوتوکسینی استخراجی با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به حالت صفاقی به موش تزریق شد. پس از گذشت حدود یک ساعت، ۲۵ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد در کف پنجه پای راست به صورت زیر جلدی، تزریق و حیوان را در محفظه مذکور قرار داده و به مدت یک ساعت رفتار درد مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش تعداد حرکات پای راست [7] و لیسیدن آن[8] توسط حیوان به عنوان رفتار درد در نظر گرفته شد. در بررسی این نوع رفتار، بلند کردن و تکان دادن پا و لیسیدن آن، به عنوان رفتار درد شمارش می‌شود. به جهت مقایسه قدرت تسکین درد عصاره کونوتوکسینی با مورفین، غلظت ۰/۵ میلی‌گرم /کیلوگرم مورفین نیز روی موش‌های سوری آزمایش گردید. آنالیز داده‌های حاصل در نرم افزار Graf Pad Prism v6 انجام شد.

نتایـج

پروفایل کونوتوکسین‌های استخراجی

گونه *C. coronatus* از جمله گونه‌های کوچک حلزون مخروطی با اندازه متوسط ۲/۴ سانتی‌متر و گونه *C. frigidus* با اندازه متوسط ۵/۴ می‌باشند. به‌طورکلی مجرای سم آن‌ها، شامل دو بخش حباب سم و مجرای تولید سم که لوله‌ای طویل و پیچ‌خورده می‌باشد و مکان سنتز کونوتوکسینها است (شکل ۱). پس از استخراج کونوتوکسینهای مجرای سم و تزریق عصاره‌ی استخراجی به ژل پلی آکریل آمید۱۵ درصد، با توجه به مارکر پروتئینی مورد استفاده باندهایی با وزن‌های مولکولی تقریبی ۵ تا ۱۸۰ کیلو دالتون مشاهده شد (شکل ۲). کروماتوگرام عصاره استخراجی با توجه به برنامه تعریف شده برای RP-HPLC، که شیب استونیتریل با گذر زمان افزایش می‌یابد و از ۰ درصد به۹۰درصد، در دقیقه ۹۰ می‌رسد. لذا پیک‌های ابتدای کروماتوگرامها، که نشان دهده کونوتوکسین های قطبی و آب‌دوست می‌باشند و پیک‌های انتها مربوط به کونوتوکسینهای غیر قطبی و آب‌گریزند، که نسبت به سایر پیک‌ها بزرگ‌تر هستند (شکل ۳).

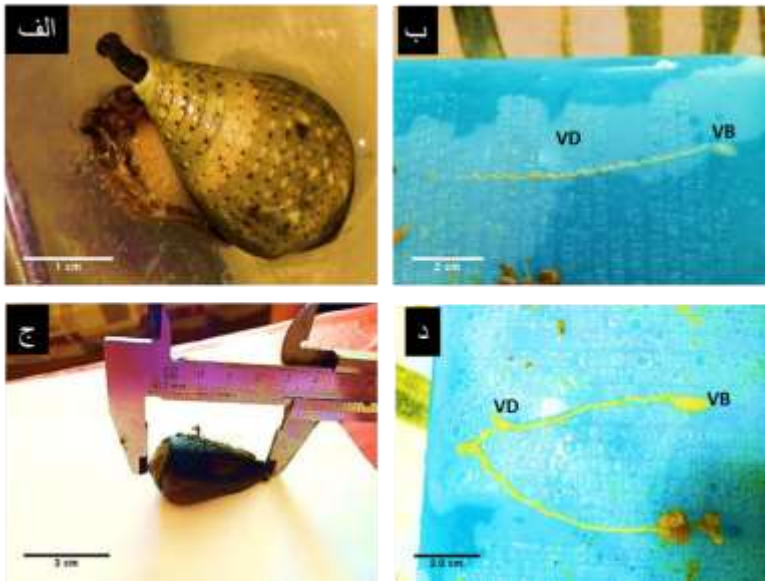
اثرات سمیت کونوتوکسین‌های استخراجی

در ابتدا با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس غلظت‌های سریالی BSA، مقدار پروتئین کل به روش برادفورد حدود ۱۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای گونه *C. coronatus* و حدود ۱۳/۱۷ برای گونه *C. frigidus* محاسبه شد (شکل ۴). بر طبق مقادیر به دست آمده در غلظت‌های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲، ۳۱، ۱۶، ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای کونوتوکسین های استخراجی از گونه *C. coronatus*، در مقایسه با ۱۰۰ درصد همولیز گلبول‌های قرمز خونی توسط ترایتون X-100، در غلظت‌های بسیار بالا تنها فعالیت همولیتیک دیده شد و با افزایش غلظت کونوتوکسینها، درصد همولیتیک نیز افزایش یافت.

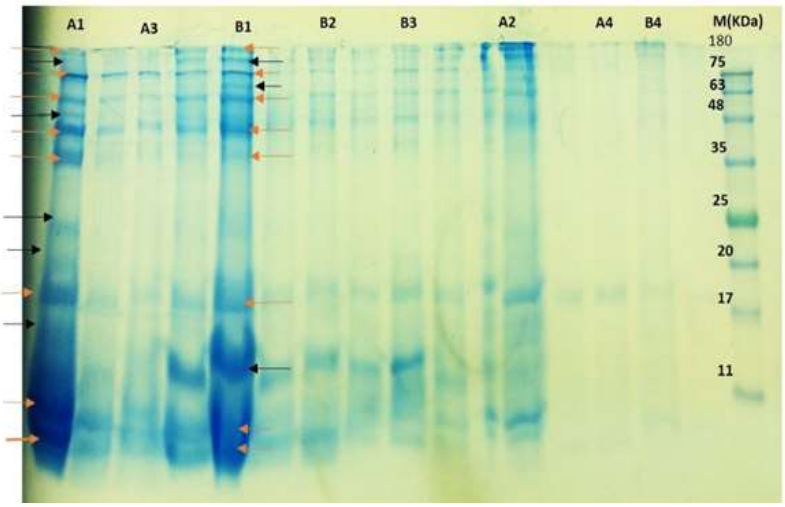
[7] Flinching number
[8] Licking number

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]

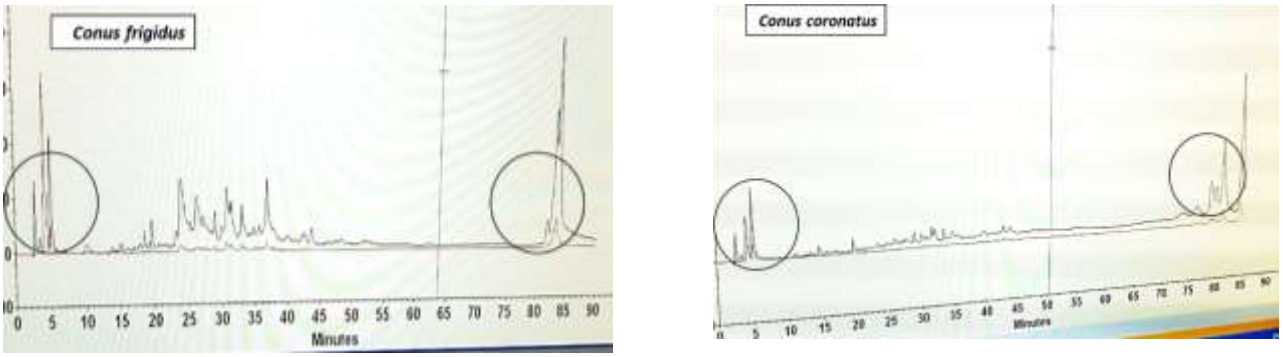
بیشترین میزان فعالیت همولیتیک در گونه *C. coronatus* معادل ۶۲ درصد بود. در قیاس با این گونه، میزان لیزکنندگی گلبول‌های قرمز توسط کونوتوکسینهای گونه *C. frigidus* از این مقدار بسیار کمتر بوده و در حدود ۳۸ درصد بود (شکل ۵).



شکل ۱. دو گونه حلزون مخروطی خلیج‌فارس الف: *C. coronatus* و ج: *C. frigidus* و مجراهای سم جداسازی شده از آن‌ها روی یخ (VD: مجرای تولید کونوتوکسین و VB: حباب سم)

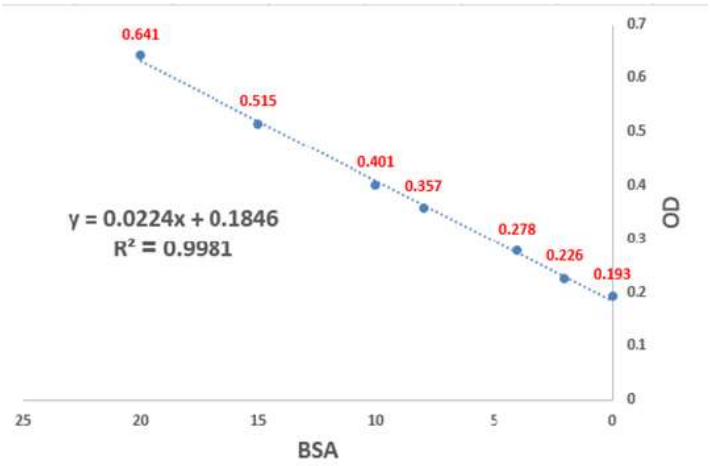


شکل ۲. پروفایل کونوتوکسینی عصاره‌های استخراجی از مجرای سم دو گونه حلزون مخروطی خلیج‌فارس روی ژل پلی آکریل امید ۱۵ درصد به روش الکتروفورز عمودی SDS-PAGE. چاهک‌های A و B، به ترتیب مربوط به غلظت‌های مختلف از عصاره‌های کونوتوکسینی گونه‌های *C. coronatus* و *C. frigidus* می‌باشد. چاهک M مربوط به مارکر پروتئینی است.



شکل ۳. کروماتوگرام‌های مربوط به اجزا جداسازی شده عصاره‌های کونوتوکسینی

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]



شکل ۴. معادله استاندارد حاصل از غلظت‌های سریالی BSA و میزان جذب آن‌ها، جهت تعیین غلظت



شکل ۵. فعالیت همولیتیک غلظت‌های سریالی از عصاره‌های کونوتوکسینی برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر

اثرات تسکین‌دهنده درد کونوتوکسین‌های استخراجی و مقایسه با مورفین

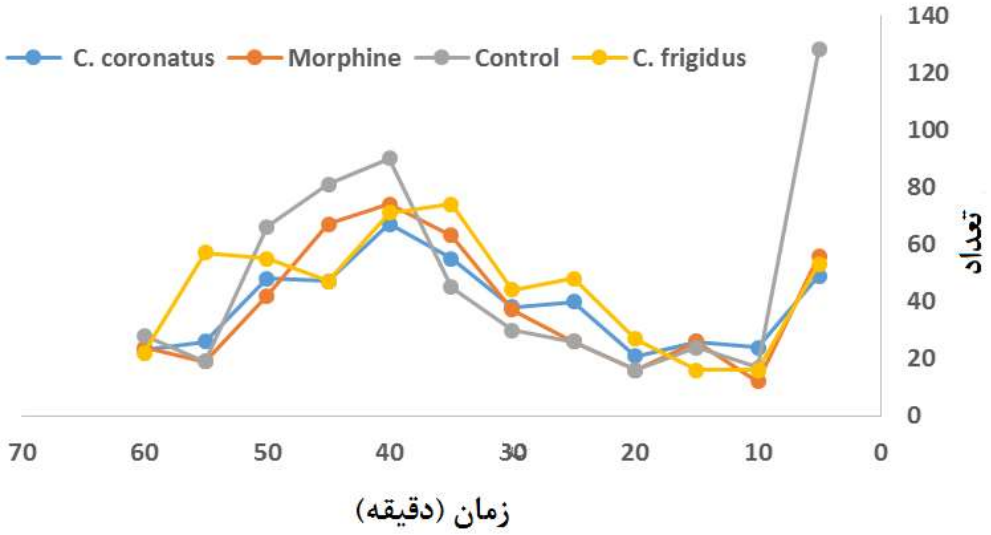
مقایسه منحنی درد فاز اول (حاد) و فاز دوم (مزمن) در سه گروه مورد آزمایش (گروه کنترل (نرمال سالین)، گروه‌های دریافت‌کننده عصاره‌های کونوتوکسینی و گروه مورفین) انجام شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، فاز حاد در اثر دریافت عصاره کونوتوکسینی و همچنین مورفین کاهش ولیکن فاز مزمن (۱۵تا۶۰ دقیقه) تغییر معناداری نداشته است. در زمان اولیه پس از تزریق فرمالین تعداد زنش‌های پای تزریق شده افزایش می‌یابد. این روند در ۵ دقیقه اول معرف فاز درد حاد می‌باشد که به مرور کاهش می‌یابد. سپس در فاز دوم (درد مزمن) دوباره افزایش یافته، که در گروه‌های موش سوری مورد مطالعه اوج آن در ۳۰ تا۴۰ دقیقه دیده می‌شود. در نهایت مجدداً تعداد زنش‌های پای موش‌های سوری تا پایان ۶۰ دقیقه کاهش می‌یابند. همان‌طور که در شکل (۶) دیده می‌شود همه گروه‌ها از این مدل پیروی می‌کنند.

در فاز اول همان‌طور که در شکل (۷) مشاهده می‌شود، گروه‌های دریافت‌کننده عصاره‌های کونوتوکسینی و مورفین با درصد اطمینان ۹۹,۹ درصد اختلاف معناداری با گروه کنترل نشان دادند. ولی هیچ‌گونه اختلافی بین دو گروه کونوتوکسینی و مورفین مشاهده نشد.

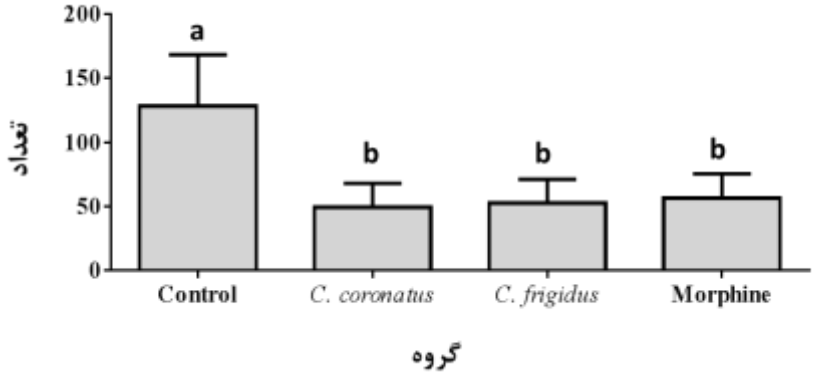
برای بررسی فاز دوم درد (فاز مزمن)، از روش محاسبه سطح زیر منحنی یا (AUC)، استفاده شد (شکل ۸) و سپس مقادیر در نرم افزار Graf Pad Prism v6 مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج نشان داد که هیچ‌گونه اختلافی در بین گروه‌های مورد بررسی وجود ندارد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

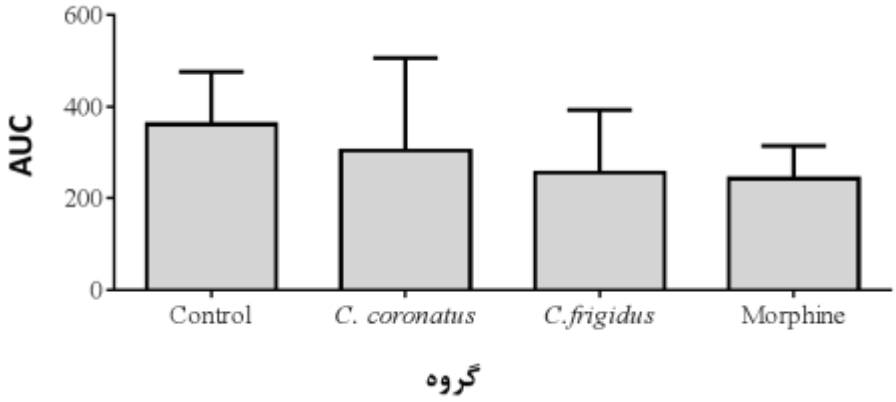
[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]



شکل ۶. الگوی ایجاد درد در نتیجه تزریق زیرجلدی فرمالین در سه گروه مورد آزمایش (گروه کنترل، گروه‌های دریافت‌کننده عصاره‌های کونوتوکسینی و گروه مورفین).



شکل ۷. مقایسه میانگین تعداد زنش‌های پا و لیسیدن پا در موش سوری تزریق شده به صورت زیر جلدی با ماده دردزای فرمالین در گروه کنترل، با دو گروه عصاره کونوتوکسینی و مورفین



شکل ۸. مقایسه سطح زیر منحنی یا AUC در گروه‌های مورد آزمایش در فاز دوم درد (در بین گروه‌ها هیچ‌گونه اختلاف معناداری دیده نمی‌شود)

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]

بحث

بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت، داروهای موجود در درمان درد نوروپاتیک هنوز موفقیت زیادی در از بین بردن این نوع درد کسب نکرده‌اند. از بین این داروها، ضدافسردگی‌های سه حلقه‌ای، مسدودکننده‌های کانال‌های سدیم، گاباپنتین، اوپیوئیدها و بلاکرهای کانال‌های NMDA[9] بیش‌ترین موارد استفاده را دارند ولی هیچ‌یک نتوانسته‌اند به طور مؤثر باعث بهبود درد نوروپاتیک شوند. گذشته از این امر، استفاده از هر یک از داروهای نام‌برده، به دلیل اثرات جانبی متعدد، محدودیت‌هایی را ایجاد می‌نماید (Siddall and Cousins, 1997). به همین جهت نیاز به جایگزین‌های مناسب می‌باشد. کونوتوکسینها ابزارهای مهمی جهت این مطالعات هستند، زیرا غالباً دارای ویژگی‌های ضد درد هستند (Terlau and Olivera, 2004; Hu *et al.*, 2011). در این تحقیق استخراج کونوتوکسینها از مجرای سم حلزون‌های مخروطی *C. coronatus* و *C. frigidus* صورت گرفت. نتایج حاصل از ژل پلی اکریل آمید نشان‌دهنده حضور ۱۳ باند پپتیدی با محدوده وزنی ۵ تا۱۸۰ کیلو دالتون بود (شکل ۲). در تحقیقی که Tabaraki و همکاران، بر روی عصاره استخراجی از *C. textile* انجام دادند، ۱۲ باند جداگانه با محدوده وزنی ۶ تا ۱۸۰ کیلو دالتون شناسایی کردند (Tabaraki *et al.*, 2014). سلول‌هایی که مسئول ترشح مجموعه‌ای از کونوپپتیدهای خاص هستند، به طور هم‌زمان آنزیم‌های مخصوص اعمال تغییرات پس از ترجمه‌ای همان کونوتوکسینها را هم بیان می‌کنند (Garrett *et al.*, 2005)، که حضور باندهایی با وزن مولکولی بالا را توجیه می‌کند. زیرا اکثر کونوتوکسینها دارای رنج وزنی پایین‌تری هستند. کونوتوکسینها از واحدهای پپتیدی کوچک ساخته شده‌اند که این زیر واحدها در ابتدا به صورت پیش سازه‌ای غیرفعال بیان می‌شوند و پس از اعمال تغییرات پس از ترجمه‌ای به وسیله آنزیم‌های مختلف، این پیشسازها به فرم بالغ در آمده و از سطح سلول به داخل لومن ترشح می‌شوند. پس از ترشح، زیر واحدهای پپتیدی به یکدیگر می پیوندند و پس از شکل‌گیری ساختارهای فضایی به کونوتوکسینهای مختلف تبدیل می‌شوند. در تزریق عصاره کونوتوکسینی به ژل پلی آکریل آمیدی، از آنجایی که پپتیدهای کمتر از ۱۰ کیلو دالتون به راحتی در طول این ژل حرکت می‌کنند باند کاملاً مشخصی برای این دسته از پپتیدها تشکیل نمی‌شود و اغلب پس از رنگ‌آمیزی به صورت هاله پروتئینی (smear) دیده می‌شوند (Kaas *et al.*, 2012; Dobson *et al.*, 2012). کونوتوکسین‌ها تنوع بسیار داشته و از نظر ماهیت ساختاری نیز متفاوت هستند. همچنان که در کروماتوگرام RP-HPLC این گونه نیز دیده می‌شود، کونوتوکسینهای عصاره سم در دو گروه قطبی و غیر قطبی قابل دسته‌بندی هستند و در ابتدا و انتهای کروماتوگرام مشاهده می‌شوند (شکل ۳). طبق برنامه RP-HPLC با گذر زمان مقداری استونیتریل به آب افزوده می شود و باعث افزایش خصوصیت غیرقطبی می‌گردد. پس در ابتدا کونوتوکسینهای قطبی از ستون خارج می‌شوند و در انتهای کروماتوگرام زمانی که مقدار استونیتریل به ۹۰ درصد می‌رسد، کونوتوکسینهای غیر قطبی خارج می‌شوند. این موضوع در مطالعات سایر محققین نیز دیده می‌شود (Tayo *et al.*, 2012; Neves *et al.*, 2013).

کونوتوکسین‌ها همچنین بسته به گونه حلزون مخروطی، دارای اثرات نوروتوکسیکی و همولیتیکی متفاوت هستند. هر دو این ویژگی‌ها می‌تواند در سمیت و مرگ شکار نقش داشته باشد (Kaas *et al.*, 2012; Dobson *et al.*, 2012). مثلاً سمیت و کشندگی عصاره کونوتوکسینی *C. textile* از ویژگی‌های نوروتوکسیکی آن منشأ نمی‌گیرد، بلکه از فعالیت همولیتیک آن است (Kobayashi *et al.*, 1983; Lattore, 1977).

نتایج همولیتیک در این مطالعه، نشان داد که کونوتوکسینهای عصاره این گونه‌ها، در غلظت‌های مختلف فاقد فعالیت چشمگیری بوده و تنها در غلظت‌های بسیار بالا دارای فعالیت همولیتیک می‌باشند. غلظتی از کونوتوکسین که باعث لیز شدن ۵۰ درصد از گلبول‌های قرمز در مقایسه با کنترل مثبت (ترایتون X100) شده است، (HD50) در گونه *C. coronatus* کمی بیش از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود، که در گونه *C. frigidus* تا غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تنها ۳۸ درصد فعالیت همولیتیک دیده شد (شکل ۵). Shanmuganandam (۱۹۹۵) بیان کرد که سم گونه‌های کرم خوار مانند *C. figulinus* فاقد پپتیدهای همولیتیک و پارالیتیک است که با توجه به نوع تغذیه کرم خواری در گونه‌های مورد مطالعه اثرات

[9] N-methyl-D-aspartic acid

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]

همولیتیک پایین این عصاره‌ها قابل توجیه است. در مطالعه مشابهی که با استفاده از کونوتوکسینهای نیمه خالص شده حلزون مخروطی *C. lentiginosus* به وسیله DEAE (ستون کروماتوگرافی تبادل یونی سلولزی) بر روی خون جوجه انجام شد، نتایج نشان‌دهنده حضور پپتیدهایی با رنج وزن مولکولی ۴۰ تا۱۲۰ کیلو دالتون بوده که دارای ۸ واحد همولیتیک (8HU) نسبت به محتوای پروتئینی عصاره مورد استفاده که ۴۳۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (Kumar *et al.*, 2014). لذا می‌توان گفت؛ فعالیت همولیتیک یک کونوتوکسین به نوع خون مورد استفاده (Gouiffes *et al.*, 1988; Cruz *et al.*, 2006)، نوع گونه (Safavi-Hemami *et al.*, Kobayashi *et al.*, 1983 ; Lattore, 1977; Moller *et al.*, 2013)، مرحله زندگی (بلوغ یا جنینی) (2011 نوع رژیم غذایی (Shanmuganandam, 1995; Elliger *et al.*, 2011) و آشیان اکولوژیک حلزون مخروطی (Marsh, 1997) وابسته است. از طرفی فعالیت همولیتیک نشان‌دهنده فعالیت سیتوتوکسیک است و بیشتر سیتوتوکسین‌ها دارای پتانسیل قابل‌توجهی به عنوان عوامل ضد سرطان هستند. اما ترکیبات همولیتیک شدید، با لیز کردن گلبول‌های قرمز خون موجب خونریزی شدید و آنمی همولیتیک القا شده با دارو می‌شوند (Iwalewa *et al.*, 2007) و این امر باعث می‌شود که فعالیت همولیتیک بالا کاربرد دارویی را محدود سازد (Ghavami *et al.*, 2008). در گونه‌های مورد مطالعه در غلظت مورد استفاده در مطالعه ضد درد، اثرات همولیتیک دیده نشد.

اثرات ضد دردی کونوتوکسین‌ها در این تحقیق با استفاده از آزمون فرمالین در مدل رفتاری موش سوری انجام شد. در آزمون فرمالین درد ایجاد شده دارای دو فاز مشخص است که فاز اول احتمالاً نتیجه تحریک مستقیم گیرنده‌های درد در پنجه حیوان است و فاز مرکزی است در حالی که فاز دوم درد تا حد زیادی ناشی از التهاب است (Tjolsen *et al.*, 1992). هر چند نقش حساس شدن مسیرهای درد را نیز نباید از نظر دور کرد. این آزمایش برای بررسی مکانیسم درد و مواد ضد درد نیز بسیار مفید است. داروهایی مانند ضد دردهای مخدر اغلب به صورت مرکزی عمل می‌کنند و هر دو فاز درد ایجاد شده توسط فرمالین را مهار می‌کنند، در حالی که داروهایی مانند هیدروکورتیزون و دگزامتازون به صورت تدریجی در محیط عمل می‌کنند و تنها درد فاز دوم فرمالین را مهار می‌کنند. لذا با توجه به نتایج حاضر، کونوتوکسینهای این گونه‌ها دارای اثرات کاهش درد در فاز حاد بوده و فاقد اثرات ضد التهابی هستند (شکل ۷ و ۸) که مطابق با نتایج سایر محققین بر روی گونه‌های مختلف از جمله α-کونوتوکسین MII که از *C. magus* (McIntosh *et al.*, 2004)، کونوتوکسین KIIIA (Zhang *et al.*, 2007)، کونوتوکسین CnIIIC از *C. consors* (Favreau *et al.*, 2012)، Conotakin-G از *C. geographus* (McIntosh *et al.*, 2000)، کونوتوکسین ViTx از *C. virgo* (Kauferstein *et al.*, 2011) و کونوتوکسین های PnIA و PnIB از *C. Pennacens* (Ellison *et al.*, 2003) می‌باشد.

همان‌گونه که در مقدمه بیان شد، اثرات ضد دردی از طریق سیستم‌ها و گیرنده‌های مختلف صورت می‌گیرد. از آن جمله می‌توان به سیستم کولینرژیکی (Harada *et al.*, 2000) و سیستم نیتریک اکسید (Lino *et al.*, 2005) و گیرنده‌های غیر اوپیوئیدی (Hajhashemi *et al.*, 2004) اشاره کرد. همچنین موادی وجود دارند که به وسیله مکانیسم‌هایی به‌جز مکانیسم اوپیوئیدی و از طریق اهداف کولینرژیکی دیگر مؤثر بوده (Wei *et al.*, 2005) و بالاخره می‌توان به گیرنده‌های اوپیوئیدی اشاره کرد که در شرایط فیزیولوژیک توسط آندوژن فعال می‌شوند و بر اساس تعامل آن‌ها با گیرنده‌های اوپیوئیدی اختصاصی در سیستم عصبی مرکزی در نخاع (مسیرهای صعودی) و بر روی نورون‌های مغز میانی و بصل النخاع (مسیر نزولی) در تعدیل درد مؤثرند (Lee *et al.*, 2010). مورفین نیز به صورت مرکزی عمل می‌کند و در غلظت مؤثر خود (۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اغلب هر دو فاز آزمون فرمالین را مهار می‌کند که در این پژوهش با توجه به استفاده از غلظت ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم تنها باعث مهار درد در فاز اول شد. Kumar و همکاران (2014)، فعالیت زیستی سم *C. lentiginosus* را مورد مطالعه قرار دادند. این سم که به طور جزئی به‌وسیله DEAE (ستون کروماتوگرافی تبادل یونی سلولزی) خالص شد، فعالیت ضد درد آن، به روش Tail flick اندازه‌گیری شد و نشان‌دهنده اثرات ضد دردی سه برابر بیش از Paracetamol بود (Kumar *et al.*, 2014). همچنین در تزریق درون نخاعی سم تخلیص نشده گونه *C. textile* و مقایسه آن با مورفین اثرات ضد دردی مشابهی در آزمون فرمالین مشاهده شد (Tabaraki *et al.*, 2014). هر چند اختلاف تسکین درد کونوتوکسین‌ها با مورفین کمتر باشد، بیانگر این

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]

است که اثر ضد دردی عصاره به مورفین نزدیک‌تر است. با توجه به اینکه این عصاره‌ها به صورت تام استفاده شده لذا انتظار می‌رود در صورت خالص‌سازی اثرات ضد درد قوی‌تری نسبت به مورفین داشته باشند.

داروهای ضد درد اوپیوئیدی از مهم‌ترین داروهای ضد درد شناخته شده هستند. مصرف این داروها در بیماران به دلیل القای وابستگی و تحمل با محدودیت زیادی همراه است. تحمل به حالتی اطلاق می‌شود که در اثر مصرف مزمن اوپیوئیدها، اثر این داروها به تدریج کاهش می‌یابد و برای ایجاد اثر اولیه نیاز به دوزهای بالاتری از دارو است (Waldhoer *et al.*, 2004). از آنجا که اثرات ضد دردی کونوتوکسین‌های این دو گونه حلزون مخروطی در این تحقیق کاملاً مشهود بوده و همچنین با توجه به عدم لیز کردن گلبول‌های قرمز خونی با دزی چندین برابر، پیشنهاد می‌شود که اطلاعات بالینی بیشتری در مورد کونوتوکسینهای ایجادکننده‌ی بی‌دردی، ساختار و عملکرد آن‌ها و همچنین عدم سمیت انجام گیرد که زمینه تحقیق بیشتری را می‌طلبد. با توجه به اینکه این گونه‌ها از جمله گونه‌های غالب در سواحل خلیج‌فارس می‌باشند، لذا در دسترس بوده و می‌توان مطالعات بیشتری در مورد خواص فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک آن‌ها انجام داد تا شاید بتوانند به شکل دارویی، فرموله شده و به بازار دارویی عرضه گردد.

منابـع

Bernaldez, J., López, O., Licea, A., Salceda, E., Arellano, R.O., Vega, R., Soto, E. 2013. Electrophysiological characterization of a novel small peptide from the venom of *Conus californicus* that targets voltage-gated neuronal Ca^{2+} channels. Toxicon. 57: 60-67.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-254.

Cruz, L.J., Gray, E.R., Olivera, B.M. 2006. Purification and properties of a myotoxin from *Conus geographus* venom. Acta Biochimica Biophysica Sinica. 190(2): 539-548.

Dobson, R., Collodor, M., Gilles, N., Turtoi, A., De Pauw, E., Quinton, L. 2012. Secretion and maturation of conotoxins in the venom ducts of *Conus textile*. Toxicon. 60: 1370-1379.

Dutertre, S., Jin, A.H., Kaas, Q., Jones, A., Alewood, P.F., Lewis, R.J. 2013. Deep venomics reveals the mechanism for expanded peptide diversity in cone snail venom. Molecular and Cellular Proteomics. 12: 312-329.

Elliger, C.A., Richmond, T.A., Lebaric, Z.N., Pierce, N.T., Sweedler, J.V., Gilly, W.F. 2011. Diversity of conotoxin types from *Conus californicus* reflects a diversity of prey types and a novel evolutionary history. Toxicon. 57: 311-322.

Ellison, J., McIntosh, M., Olivera, B.M. 2003. Alpha-conotoxins ImI and ImII. Similar alpha 7 nicotinic receptor antagonists act at different sites. Journal of Biologichal Chemistry. 278: 757-764.

Favreau, P., Benoit, E., Hocking, H.G., Carlier, L., Hoedt, D.D., Leipold, E., Markgraf, R., Schlumberger, S., Córdova, M.A., Gaertner, H., Paolini-Bertrand, M., Hartley, O., Tytgat, J., Heinemann, S.H., Bertrand,D., Boelens, R., Stöcklin, R., Molgó, J. 2012. A novel µ-conopeptide, CnIIIC, exerts potent and preferential inhibition of Na_V 1.2/1.4 channels and blocks neuronal nicotinic acetylcholine receptors. British Journal Pharmacology. 166: 1654-1668.

Garrett, J.E., Buczek, O., Watkins, M., Olivera, B.M., Bulaj, G. 2005. Biochemical and gene expression analyses of conotoxins in *Conus textile* venom ducts. Biochemical and Biophysical Research Communications. 328: 362-367.

Ghavami, S., Asoodeh, A., Klonisch, T., Halayko, A.J., Kadkhoda, K., Kroczak, T.Z., Gibson, S.B., Booy, E.P., Naderi-Manesh, H., Los, M. 2008. Brevinin 2R1 semi selectively kills cancer cells by a distinct mechanism, which involves the lysosomal mitochondrial death pathway. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 12(3): 1005-1022.

Gouiffes, D., Juge, M., Grimaud, N.,Welina, L., .Sauviatb, M.P., .Barbinc, Y., Laurentc, D., Roussakisa, C., Henichartd, J.P., Verbista, J.F. 1988. A new toxin from the urochordata Lissoclinum bistratum: isolation and preliminary characterization. Toxicon. 26(12): 1129-1136.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]

Harada, H., Hosonuma, K., Fuju, T., Kawashama, K. 2000. Enhancement of cervical Ach releases by intrea peritoneal acetic acid its suppuration by analgesic in freely moving rats. Nero Science Letter. 284(3): 163-166.

Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Jafarabadi, H. 2004. Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and anti inflammatory drug. Phytotherapy Research. 18(3): 195-199.

Heidari, M.R., Khalili, F., Ghazi-Khansari, M., Hashemi, B., Zarrindast, M.R. 1996. Effect of picrotoxin on antinociception in the formalin test. Pharmacolgy Toxicology. 78(5): 313-316.

Hu, H., Bandyopadhyay, P.K., Olivera, B.M., Yandell, M. 2011. Characterization of the *Conus bullatus* genome and its venom-duct transcriptome. BMC Genome. 60: 1471-2164.

Iwalewa, E.O., McGaw, L.J., Naidoo, V., Eloff, J.N. 2007. Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. African Journal of Biotechnology. 6(25): 2868-2885.

Kaas, Q., Yu, R., Jin, A.H., Dutertre, S., Craik, D.J. 2012. ConoServer: updated content, knowledge, and discovery tools in the conopeptide database. Nucleic Acids Research. 40: D325-D330.

Kauferstein, S., Porth, C., Kendel, Y., Wunder, C., Nicke, A., Kordis, D., Favreau, P., Koua, D., Stocklin, R., Mebs, D. 2011. Venomic study on cone snails (Conus spp.) from South Africa. Toxicon. 57: 28-34.

Kobayashi, J., Nakamura, H., Hirata, Y., Ohizumi, Y. 1983. Tessulatoxin, the vasoactive protein from the venom of the marine snail Conus tessulatus. Comparative. 74(3): 381-384.

Kumar, P., Venkateshvaran, K., Srivastava, P.P., Nayak, S.K., Shivaprakash, S. M., Chakraborty, S.K. 2014. Pharmacological studies on the venom of the marine snail Conus lentiginosus Reeve 1844. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies. 1(3): 79-85.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680-685.

Lattore, R.A. 1977. The toxin action of Conus textile. Acta Medical Philippine. 13: 7-12.

Lee, S., Kim, Y., Back, S.K., Choi, H.W., Lee, J.Y., Jung, H.H., Ryu, J.H., Suh, H.W., Na, H.S., Kim, H.J., Rhim, H., Kim, J.I. 2010. Analgesic effect of highly reversible ω- conotoxin FVIA on N-type Ca^{+2} channels. Molecular Pain. 6 (97): 1-12

Lewis, R.J., Dutertre, S., Vetter, I., Christie, M.J. 2012. Conus Venom Peptide Pharmacology. Pharmacological Reviews. 64: 259-298.

Lino, C.S., Gomes, P.B., Lucetti, D.L., Diogenes, J.P., Sousa, F.C., Silva, M.G. 2005. Evaluation of antinociceptive and antiinflammatory activities of the essential oil (EO) of *Ocimum micranthum* Willd. from Northeastern Brazilian Phototherapy Research. 19(8): 708-712.

Malmberg, A.B., Yaksh, T.L. 1994. Voltage-sensitive calcium channels in spinal nociceptive processing: blockade of N- and P-type channels inhibits formalininduced nociception. Journal of Neuroscience. 14: 4882-4890.

Marsh, H. 1997. The Radular apparatus of conus. Journal of Molluscan Study. 43: 1-11.

McIntosh, J.M., Corpuz, G.O., Layer, R.T., Garrett, J.E., Wagstaff, J.D., Bulaj, G., Vyazovkina, A., Yoshikami, D., Cruz, L.J., Olivera, B.M. 2000. Isolation and characterization of a novel *Conus* peptide with apparent antinociceptive activity. The Journal of Biological Chemistry. 275: 32391-32397.

McIntosh, J.M., Azam, L., Staheli, S., Dowell, C., Lindstrom, J.M., Kuryatov, A., Garrett, J.E., Marks, M.J., Whiteaker, P. 2004. Analogs of conotoxin MII are selective for 6-containing nicotinic acetylcholine receptors. Molecular Pharmacology. 65: 944-952.

Moller, C., Vanderweit, N., Mari, F. 2013. Comparative analysis of proteases in the injected and dissected venom of cone snail species. Toxicon. 65: 59-67.

Murray, M.D., Brater, D.C. 1993. Renal toxicity of the nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Annu Rev Pharmacolgy Toxicology. 33: 435-465.

Neves, J., Campos, A., Osorio, H., Antunes, A., Vitor, V. 2013. Conopeptide from Cape Verde *Conus crotchii*. Marine Drug. 11: 2203-2215.

Rodreguez, A.M. Dutertre, S., Lewis, R.J., Mari, F. 2015. Intraspecific variation in Conus purpurascens injected venom using LC/MALDI-TOF-MS and LC-ESI-Triple TOF-MS. Annaual Biomedical Chemistry. 407: 6105-6116.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]

Safavi-Hemami, H., Siero, W.A., Kuang, Z., Williamson, N.A., Karas, J.A., Page, L.R., MacMillan, D., Callaghan, B., Kompella, S.N., Adams, D.J., Norton, R.S., Purcell, A.W. 2011. Embryonic toxin expression in the cone snail *Conus victoriae* – Primed to kill or divergent function? The Journal of Biological Chemistry. 286(25): 22546-22557.

Santos, A.D., McIntosh, J.M., Hillyard, D.R, Cruz, L.J. 2004. The A-superfamily of conotoxin: structural and functional divergence. The Journal of Biological Chemistry. 279: 17596-17606.

Scott, D.A., Wright, C.E., Angus, J.A. 2002. Actions of intrathecal conotoxins CVID, GVIA, MVIIA, and morphine in acute and neuropathic pain in the rat. European Journal of Pharmacology. 451: 279-286.

Shanmuganandam, P. 1995. Studies on the venom of *Conus*, Linnaeus (Mollusca: Gastropoda) from the South East Coast of India. Unpublished Ph.D.Thesis, Annamalai University, India.

Siddall, P.J., Cousins, M.J. 1997. Spine update, spinal pain mechanisma. Spine. 22: 98-104.

Tabaraki, N., Shahbazzadeh, D., Moradi, A.M., Vosughi, G., Ghavam Mostafavi1, P. 2014. Analgesic effect of Persian Gulf *Conus textile* venom. Iran Journal of Basic Medical Science. 17: 793-797.

Tayo, L.L., Lu, B., Cruz, L.J., Yates, J.R. 2012. Proteomic analysis provides insights on venom processing in *Conus textile.* Journal of Proteome Research. 9(5): 2292-2301.

Terlau, H., Olivera, B.M. 2004. *Conus* venoms: a rich source of novel ion channel-targeted peptides. Physiological Reviews. 84(1): 41-68.

Tjolsen, A., Berge, O.G., Hunskaar, S., Rosland, J.H., Hole, K. 1992. The formalin test: an evaluation of the method. Pain. 51(1): 5-17.

Violette, A., Biass, D., Dutertre, S., Koua, D., Piquemal, D., Pierrat, F., Stöcklin, R., Favreau, P. 2012. Large-scale discovery of conopeptides and conoproteins in the injectable venom of a fish-hunting cone snail using a combined proteomic and transcriptomic approach. Journal of Proteomics. 75(17): 5215- 5225.

Waldhoer, M., Bartlett, S.E., Whistler, J.L. 2004. Opioid receptors. Annual Review Biochemistry. 73: 953-990.

Walker, C.S., Steel, D., Jacobsen, R.B., Lirazan, M.B., Cruzi, L.J., Hooper, D., Shetty, R., DelaCruz, R.C., Nielsen, J.S., Ming Zhou, L., Bandyopadhyay, P., Craig, A.G., Olivera, B.M. 1999. The T-superfamily of Conotoxins. The Journal of Biological Chemistry. 274: 30664-30671.

Wei, L.I., Jing-lai, H., Yun, T., Yan, C., Zhui- bai, Q. 2005. Structural comparisons of meptazinol with opioid analgesics1. Acta Pharmacologic Science. 26(3): 334-338.

WoRMS. 2014. World Register of Marine Species. Available from http:// www.marinespecies.org. At VLIZ. Accessed 10 May 2014.

Wu, X., Shao, X., Guo, Z.Y., Chi, C.W. 2010. Identification of neuropeptide Y-like conopeptides from the venom of *Conus betulinus*. Acta Biochimica Biophysica Sinica. 42: 502-505.

Woolf, C.J. 2004. Moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. Annual International Medical. 140: 441-451.

Zhang, M.M., Green, B.R., Catlin, P., Fiedler, B., Azam, L., Chadwick, A., Terlau, H., McArthur, J.R., French, R.J., Gulyas, J., Rivier, J.E., Smith, B.J., Norton, R.S., Olivera, B.M., Yoshikami, D., Bulaj, G. 2007. Structure/function characterization of conotoxin KIIIA, an analgesic, nearly irreversible blocker of mammalian neuronal sodium channels. Journal of Biologichal Chemistry. 282: 30699-30706.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.6.9]