●مجلة دانشگاه علوم پزشكي بابل، دوره هشتم، شمارة ۴، مرداد - شهريور ۱۳۸۵، صفحه ۱۴-۷
دريافت: ۸۴/۱۰/۲۰، ارسال جهت اصلاح: ۸۵/۱/۳۰، پذيرش: ۸۵/۴/۲۴

اثرات ضدالتهابی، ضددردی، سمیت حاد و تعیین مقدار هایپریسین در گیاه علف چای

میترا محمودی[۱*]، کتایون مرتضی سمنانی[۲]، مجید سعیدی[۳]، آرش جوانمردی[۴]
۱- استادیار گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۲- دانشیار گروه شیمی دارویی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۳- دانشیار گروه فارماسیوتیکس دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۴- داروساز

سابقه و هدف: گیاه علف چای (Hypericum perforatum) از جمله گیاهان دارویی است که از آن در طب سنتی ایران به عنوان ضدالتهاب و عامل التیام بخش یاد شده است. لذا با توجه به پیشینه و بومی بودن گیاه فوق در ایران، این مطالعه با هدف بررسی اثر ضدالتهاب، ضد درد و سمیت حاد آن انجام شده است.

مواد و روشها: مطالعه بصورت تجربی و (مداخله ای) انجام و با استفاده از حلال متانول و دستگاه سوکسله از گیاه عصاره‌گیری و سپس عصاره فوق کاملاً خشک گردید. جهت بررسی اثر ضدالتهابی عصاره از روش ادم ایجاد شده در پای Rat با استفاده از کاراژینان و جهت مطالعه اثر ضددردی از روش‌های آزمون فرمالین ، صفحه داغ (Hot plate) و آزمون رایتینگ (Writhing) استفاده گردید. برای بررسی هماهنگی حرکتی آزمون روتارود (Rotarod) بکار گرفته شد. سمیت حاد (LD_{50}) عصاره با روش پروبیت و میزان هایپریسن تام مطابق روش فارماکوپه تعیین گردید. جهت آنالیز داده‌ها از آنالیز واریانس و بدنبال آن آزمون Student-Newman-Keuls با $p<۰/۰۵$ استفاده شد.

یافته ها: در بررسی اثر ضد التهابی، عصاره گیاه علف چای با دوزهای ۱۵۰mg/kg و ۱۰۰ اثرات مشابهی را با ایندومتاسین با دوز ۴mg/kg نشان داد. در آزمون فرمالین نیز عصاره گیاه علف چای در تمامی دوزهای مورد مطالعه (۲۵۰-۲۵mg/kg) سبب مهار هر دو فاز درد گردید($p<۰/۰۰۱$). در آزمون صفحه داغ نیز در دامنه دوز مورد مطالعه (۲۵۰-۲۵mg/kg) افزایش معنی‌داری در آستانه درد، در مقایسه با گروه شاهد، پس از ۳۰ دقیقه مشاهده گردید. در آزمون رایتینگ عصاره در دوزهای ۲۵ ($p<۰/۰۵$) و ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بازاء کیلوگرم وزن بدن ($p<۰/۰۰۱$) کاهش معنی‌داری را در میزان رایتینگ در مقایسه با گروه شاهد نشان داد. عصاره فوق در هیچ یک از دوزهای مورد بررسی تأثیری بر هماهنگی حرکات حیوان نداشت. LD_{50} که شاخصی از سمیت حاد عصاره می باشد، پس از ۷۲ ساعت در تجویز داخل صفاقی عصاره معادل ۱۱۱۱/۴۷mg/kg در موش سوری تعیین گردید. میزان درصد هایپریسین تام نمونه معادل ۰/۰۰۳±۰/۱۰۱ گزارش گردید.

نتیجه گیری: نتایج حاصل می‌تواند گیاه فوق را با اثرات ضدالتهاب و ضد درد معرفی نماید.

واژه های کلیدی: *علف چای (Hypericum perforatum)، ضد التهابی، ضد دردی، سمیت حاد، هایپریسین.*

مجلة دانشگاه علوم پزشكي بابل، دوره هشتم، شمارة ۴، مرداد - شهريور ۱۳۸۵، صفحه ۱۴-۷

مقدمه

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

جنس هايپريكوم داراي حدود ۴۰۰ گونه مختلف مي‌باشد، كه در نواحي گرم از جمله مناطق مديترانه‌اي مي‌رويد. برخي از گونه‌هاي اين جنس در طب سنتي به عنوان ضد كرم، مدر، التيام بخش زخم و درمان هرپس به كار مي‌روند(۱). يكي از گونه‌هاي مهم اين جنس هايپريكوم پرفوراتوم (Hypericum perforatum L) يا علف چاي از خانواده هايپريكاسه (Hypericaceae) مي‌باشد. اين گياه با دوام بوده و به شكل گسترده‌اي در اروپا، آسيا (از جمله ايران)، آفريقاي شمالي و ايالات متحده آمريكا مي‌روید(۲). تركيبات مختلفي با فعاليت‌هاي بيولوژيك اثبات شده از اين گونه گزارش شده‌اند مانند نفتودي‌آنترون (Naphthodianthrone)، هايپريسين (Hypericin)، سودوهايپريسين (Pseudohypericin)، فلاونوئيدهاي مختلف مانند كوئرستين (Quercetin)، هايپرين (Hyperin)، فلورگلوسينول (Phloroglucinol) و اسانس، كه اثرات مختلف ضدافسردگي، ضد ميكروبي، آنتي‌اكسيدان و فعاليت ضدالتهابي از آنها گزارش شده است(۳). هايپريكوم پرفوراتوم در سالهاي اخير جهت درمان جايگزين براي افسردگي‌هاي خفيف تا متوسط رواج يافته است(۴). در مطالعات قبلي گياه علف چاي هندی، اسپانيائی، پاكستانی ومصری به صورت خوراكي تحت آزمون هاي ضد التهابی و ضد درد قرار گرفته و نتايج مثبت از گونه های مختلف بدست آمده است(۸-۵)، لذا با توجه به بومی بودن اين گياه در ايران و استفاده از آن در طب سنتی، در ادامه تحقيق بر روي گياهان ايران(۹) خواص درماني هايپريكوم پرفوراتوم مد نظر قرار گرفت و بدين منظور اثرات ضد التهاب، ضد درد ، سميت حاد و تعيين مقدار هايپريسين در گياه علف چاي ايران براي نخستين بار مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

گياه هايپريكوم پرفوراتوم در بهار سال ۱۳۸۰ از ناحيه ياسوج در غرب كشور جمع‌آوري گرديد و نام علمي آن توسط گروه فارماكوگنوزي دانشگاه علوم پزشكي تهران تأئيد و با شماره ۱۳۱ در هرباريوم دانشكده داروسازي دانشگاه علوم پزشكي مازندران ثبت و نگهداري گرديد. سرشاخه هوايي گياه در سايه خشك و پودر شد به‌گونه‌اي كه ذرات از الك با مش معادل ۰/۵ ميلي‌متر عبور مي نمودند. جهت عصاره‌گيري ۱۰۰ گرم از پودر گياه توسط حلال متانول

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

به مدت ۱۶ساعت با استفاده از سوکسله عصاره‌گیري شد(۱۰) عصاره فوق کاملاً خشك گردید. بازده عصاره گیري ۲۴ درصد بود.

جهت تعیین مقدار هایپریسین از روش فارماکوپه ایالات متحده (USPXXIV) استفاده گردید. بدین منظور از محلول هایپریسین خالص (تهیه شده از شرکت Fluka) در متانول، با غلظت ۲ میکروگرم در میلي لیتر بعنوان استاندارد استفاده شد. ۰/۵ گرم از پودر گیاه در ۱۵ میلي لیتر متانول حل و به حجم ۲۵ میلي لیتر رسانده شد. ۵ میلي لیتر از محلول صاف شده به حجم ۲۵ میلي لیتر رسانده شد، سپس جذب نوري محلول استاندارد و نمونه در طول موج ۵۹۰ نانومتر سنجیده و میزان هایپریسین تام مطابق روش فارماکوپه محاسبه گردید(۱۱).

اثر ضد التهاب عصاره با استفاده از آزمون ادم حاصل از کاراژینان درموش صحرائی مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور حیوان نر از نژاد wistar در محدودة وزني۲۰۰-۱۵۰ گرم و در گروههاي ۸ تایي مورد استفاده قرار گرفت. محلول ۱% کاراژینان (ساخت شرکت Sigma) در نرمال‌سالین، یك ساعت پیش از هر آزمایش تهیه گردید. ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون فوق یك ساعت پس از تزریق داخل صفاقي عصاره، دارو و شاهد به کف پاي موشها تزریق گردید. پیش از تزریق، عصاره خشك در مخلوطي از پروپیلن گلیکول و آب (به نسبت ۱:۴) حل گردید. عصاره نیز با دوزهاي ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلي‌گرم بر کیلوگرم و ایندومتاسین با دوز ۴ میلي‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقي تزریق شدند. لازم به ذکر است که حجم پاي حیوان بلافاصله و در فواصل زماني ۱، ۲، و ۳ ساعت پس از تزریق کاراژینان توسط دستگاه پلتیسمومتر اندازه‌گیري شد. درجه تورم حاصل براساس a/b (نسبت حجم پاهاي حیوان بعد و قبل از تزریق کاراژینان) بررسي گردید. نسبت کمتر از ۱/۵ به عنوان اثر مهاري دارو برالتهاب حاصل از کاراژینان در نظر گرفته شد(۱۲).

جهت بررسي اثر ضد دردي عصاره از آزمون فرمالین استفاده گردید. بدین منظور موش صحرائی نر (۸ موش در هر گروه) با محدودة وزني ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم تحت آزمایش قرار گرفتند. پیش از آزمایش عصاره در مخلوط پروپیلن گلیکول و آب (نسبت ۱:۴) حل گردید و هر حیوان تنها براي یك مرتبه مورد آزمایش قرار گرفت. عصاره گیاه با دوزهاي ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلي‌گرم بر کیلوگرم و داروي مرفین با دوزهاي ۱۰ و ۵ میلي‌گرم

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقي تجویز شدند. گروه شاهد تنها حامل را دریافت نمودند. اثر ضد دردي با روش آزمون فرمالین (۱۳) بررسي گردید. یك ساعت پیش از آزمون، حیوان در قفس استاندارد قرار داده شد. عصاره یا دارو ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تجویز گردید، آنگاه ۵۰ میکرولیتر از فرمالین ۲/۵ درصد به کف پاي حیوان تزریق و عملکرد حیوان به مدت ۶۰ دقیقه مورد بررسي قرار گرفت. مدت زماني که حیوان صرف لیسیدن پاي خود مي نمود، اندازه‌گیري گردید. پنج دقیقه نخست پس از تجویز فرمالین به عنوان فاز اولیه و فاصله زماني میان ۱۵ تا ۶۰ دقیقه به عنوان فاز تأخیري در نظر گرفته شد. جهت بررسی اثر ضددردی از آزمون صفحه داغ (Hot plate) استفاده شد. بدین منظور از موشسوری نر (Male Swiss mice) استفاده گردید. حیوان مورد مطالعه براي مدت حداکثر ۳۰ ثانیه بر روي یك صفحه آلومینیومي داغ با دماي ۵۵±۰/۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. مدت عکس‌العمل حیوان در زمان‌هاي صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ دقیقه پس از تزریق داخل صفاقي دوزهاي ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلي‌گرم بر کیلوگرم از عصاره و غلظت ۱۰mg/kg مرفین، تا شروع لیسیدن دست و پا یا بالا پریدن حیوان اندازه‌گیري شد(۱۴).

آزمون رایتینگ (Writhing) براساس روش ذکر شده توسط پیرتي و همکاران انجام شد(۱۵). محلول عصاره با دوزهاي ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلي‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقي تجویز گردید. ۳۰ دقیقه پس از آن، به موشها (mice) محلول ۰/۶ درصد استیك اسید با دوز ۱۰ml/kg به صورت داخل صفاقي تزریق شد تا ویژگیهاي رایتینگ (کشش بدن حیوان) ایجاد شود. تعدادکشش بدن حیوان بین دقایق ۵ تا ۱۵ بعد از تزریق اسید استیك اندازه‌گیري شد. پاسخ حیوانات تحت تأثیر عصاره با گروههاي دریافت کننده ایندومتاسین(۵mg/kg) و مرفین(۱mg/kg) به عنوان گروه شاهد مقایسه گردید. جهت مطالعه هماهنگي حرکات از دستگاه روتارود با سرعت ۱۶ دور در دقیقه استفاده شد. انتخاب اولیه موش یك روز پیش از آزمایش صورت پذیرفت و موشهایي که قادر نبودند در دورة ۴۵ ثانیه‌اي تعادل خود را در دستگاه حفظ نمایند از بررسي حذف شدند. تعداد دفعات افتادن حیوان در مدت ۴۵ ثانیه بر روي موشسوري نر با محدودة وزني ۲۰ تا ۲۵ گرم و در گروههاي ۸ تایي بررسي گردید. بدین منظورکارایي دارو

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

قبل، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از تجویز عصاره در دوزهاي ۱۰۰، ۱۵۰ و۲۰۰ میلي‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با حامل ارزیابي گردید(۱۵).

جهت تعیین سمیت حاد دارو (LD_{50}) که معادل ایجاد مرگ در میان ۵۰ درصد از حیوانات در مدت ۷۲ ساعت پس از تجویز دارو بود، با تزریق داخل صفاقي دوزهاي ۹۰۰، ۱۰۰۰، ۱۱۵۰، ۱۱۶۰، ۱۱۷۵ و ۱۲۰۰ میلي‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مورد مطالعه قرار گرفت(۱۶). موش سوری نر در محدوده وزني ۲۵-۲۰ گرم در گروه‌هاي ۸ تایي مورد آزمایش قرار گرفتند. پروبیت درصد مرگ و میر حیوانات در هر گروه در مدت ۷۲ ساعت مطالعه در مقابل لگاریتم دوز تجویزي رسم و میزان دوز در مرگ و میر ۵۰ درصد (LD_{50}) تعیین گردید. نتایج بدست آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس و متعاقب آن آزمون Student-Newman-Keuls مورد بررسي قرار گرفت و $p<0/05$ از نظر آماري ، معني دار تلقي گردید.

یافته ها

میزان درصد هایپریسین تام نمونه معادل ۰/۱۰۱±۰/۰۰۳ تعیین گردید (مقادیر بیش از ۰/۰۴% در محدوده مورد قبول فارماکوپه مي باشد که در این پژوهش این مقدار بیش از مقادیر مورد پذیرش فارماکوپه بود). نتایج حاصل از بررسي اثر ضدالتهابي عصاره و ایندومتاسین با آزمون ادم حاصل از کاراژینان نمودار ۱ نشان داده شده است. حداکثر درجه تورم در ساعت سوم پس از تزریق کاراژینان مشاهده گردید.

نمودار۱. تأثیر تجویز داخل صفاقی ایندومتاسین(Indo) ۴mg/kg عصاره هایپریکوم پرفوراتوم (HP) ۱۵۰mg/kg، ۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵ و حامل را بر ادم پای Rat بدنبال تزریق کاراژینان نشان
می دهد. همچنین در تمامی گوهها کاهش معنی داری را در درجه تورم در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد($p<0/001$).

مشاهده مي‌گردد. نمودار «الف» معرف اثرات ضد درد در فاصله زماني ۰ تا ۵ دقیقه (فاز اولیه



[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

درد) و نمودار«ب» معرف اثرات ضد دردي در فاصله زماني ۱۵تا ۶۰ دقيقه (فاز ثانويه درد) پس از تزريق فرمالين مي‌باشد. نتايج حاصل از بررسي اثرات ضد دردي عصاره گياه هايپريكوم پرفوراتوم در مقايسه با مرفين و كنترل با استفاده از روش صفحه داغ (Hot plate) در جدول ۱ مشاهده مي‌شود. اين نتايج در خصوص اثر عصاره گياه در مقايسه با مرفين و ايندومتاسين در آزمون رايتينگ در جدول ۲ بيان شده است. همچنين جهت بررسي اثر عصاره بر روي هماهنگي حركات از آزمون ميله دوار (Rotarod) استفاده شد. نتايج حاصل از اين آزمون درجدول۳ مشاهده مي‌گردد.

LD_{50}كه شاخصي از سميت حاد عصاره مي باشد، پس از ۷۲ ساعت در تجويز داخل صفاقي عصاره معادل ۱۱۱۱/۴۷mg/kg در موش سوري تعيين گرديد.

(B) **(A)**

نمودار ۲. تاثیر عصاره هایپریکوم پرفوراتوم (۲۵۰mg/kg، ۲۰۰، ۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵) و مرفین (M) با دوزهای ۱۰mg/kg، ۵ بر فاز اولیه (A) و فاز ثانویه (B) درد در آزمون فرمالین، محور عمودی بیانگر مجموع زمانهایی (برحسب ثانیه) است که حیوان صرف لیسیدن پای خود پس از تاثیر فرمالین می نماید. در نمودار A این امر مربوط به ۲۰۰ ثانیه نخست (۰ تا ۵ دقیقه پس از تزریق فرمالین) و در نمودار B این امر مربوط به یک دوره ۲۷۰۰ ثانیه ای (دقیقه ۱۵ تا ۶۰ پس از تزیرق فرمالین) در فاز ثانویه درد می باشد. تمامی گروهها مورد مطالعه اختلاف معنی داری را با گروه شاهد نشان دادند($p<۰/۰۰۱$).

جدول ۱. تأثیر عصاره هایپریکوم پرفوراتوم بر مدت زمان تحمل حیوان بر روی صفحه داغ

گروه مورد مطالعه	دوز (mg/kg)	مدت تأخیر در عکس‌العمل (ثانیه)				
		زمان صفر	زمان ۱۵ دقیقه	زمان ۳۰ دقیقه	زمان ۴۵ دقیقه	زمان ۶۰ دقیقه
کنترل	-	۶/۶۵ ± ۰/۰۶	۶/۴۲ ± ۰/۰۲	۶/۲۰ ± ۰/۰۴	۶/۱۲ ± ۰/۰۶	۶/۰۲ ± ۰/۰۵
مرفین	۱۰	۷/۸۰ ± ۰/۰۶	۱۱/۴۲ ± ۰/۰۵***	۱۳/۳۵ ±۰/۰۳***	۱۳ /۴۲±۰/۰۵***	۱۳ /۶۲±۰/۰۸***

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

عصاره:	۲۵	± ۰/۱۰ ۶/۷۲	± ۰/۰۲ ۶/۸۷	۶/۹۲ ±۰/۱۴	۶/۶۰±۰/۱۰	۶/۵۰±۰/۱۹
	۵۰	± ۰/۰۳ ۷/۱۱	± ۰/۱۱* ۸/۵۰	±۰/۱۴** ۱۰/۰۰	۸/۳۲±۰/۱۲*	۷/۷۵±۰/۰۹
	۷۵	± ۰/۰۵ ۷/۱۲	± ۰/۱۷* ۹/۴۳	±۰/۱۳** ۱۱/۴۴	۹/۳۹±۰/۱۱*	۸/۹۰±۰/۰۷
	۱۰۰	± ۰/۰۸ ۷/۲۲	± ۰/۱۳*** ۱۳/۲۵	±۰/۱۴*** ۱۵/۲۵	/۸۷±۰/۱۳*** ۱۲	/۰۰±۰/۱۲** ۱۱
	۱۵۰	± ۰/۰۹ ۷/۲۵	± ۰/۰۵*** ۱۵/۸۷	±۰/۰۷*** ۱۸/۳۷	/۲۵±۰/۰۶*** ۱۵	/۲۲±۰/۰۶*** ۱۳
	۲۰۰	± ۰/۰۶ ۷/۳۵	± ۰/۰۵*** ۱۶/۶۵	±۰/۰۷*** ۱۹/۳۷	/۰۰±۰/۰۷*** ۱۶	/۳۷±۰/۰۷*** ۱۳
	۲۵۰	± ۰/۰۷ ۷/۳۷	±۰/۰۰۶*** ۱۶/۷۲	±۰/۰۶*** ۱۹/۴۵	/۰۷±۰/۰۵*** ۱۶	/۴۲±۰/۰۵*** ۱۴

p<۰/۰۱ ** p<۰/۰۵ *

p<۰/۰۰۱ ***

جدول ۲. تأثیر عصاره هایپریکوم پرفوراتوم بر رایتینگ حاصل از تأثیر اسید استیک در موش

گروههاي مورد مطالعه	دوز داخل صفاقي (mg/kg)	تعداد دفعات رايتينگ (Mean ± SEM)	درصد مهار
كنترل	-	۴۶/۸۰ ± ۱/۳۲	-
عصاره هايپريكوم پرفوراتوم	۲۵	۴۲/۰۰ ± ۱/۸۳*	۱۰/۲۶
	۵۰	± ۱/۳۸** ۱۶/۲۵	۶۵/۲۸
	۷۵	۳/۵۰ ± ۰/۸۷**	۹۲/۵۲
	۱۰۰	۳/۲۵ ± ۰/۴۸**	۹۳/۰۵
	۱۵۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰**	۱۰۰/۰۰
ايندومتاسين	۵	± ۱/۷۱** ۱۷/۱۴	۶۳/۳۸
مرفين	۱	۷/۷۵ ± ۱/۴۹**	۸۳/۴۴

p<۰/۰۰۱ ** p<۰/۰۵ *

جدول ۳. تأثیر عصاره هایپریکوم پرفوراتوم تجویز شده به صورت داخل صفاقی بر هماهنگی حرکات حیوان

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

گروه مورد مطالعه	دوز (mg/kg)	تعداد دفعات افتادن در مدت ۴۵ ثانیه (Mean ± S.E.M.)			
		زمان پس از تزریق عصاره (دقیقه)			
		۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
کنترل	-	± ۰/۱۶ ۰/۲۵	± ۰/۱۹ ۰/۵	± ۰/۱۹ ۰/۵	± ۰/۲۰ ۰/۴۳
هایپریکوم پرفوراتوم	۱۰۰	± ۰/۱۶ ۰/۲۵	± ۰/۱۶ ۰/۲۵	± ۰/۱۶ ۰/۲۵	± ۰/۱۶ ۰/۲۵
	۱۵۰	± ۰/۱۶ ۰/۲۵	± ۰/۱۸ ۰/۳۷	± ۰/۱۶ ۰/۲۵	± ۰/۱۶ ۰/۲۵
	۲۰۰	± ۰/۱۸ ۰/۳۷	± ۰/۲۷ ۰/۵	± ۰/۱۹ ۰/۵۰	± ۰/۱۹ ۰/۵۰

در هر گروه ۸ حیوان بود، هیچیك از گروههاي مورد مطالعه اختلاف معنيداري را با گروه شاهد نشان ندادند.

بحث و نتیجه گیری

آزمون کاراژینان، یك روش بسیار حساس براي ارزیابي داروهاي ضدالتهاب غیراستروئیدي ميباشد. از این جهت این آزمون به عنوان یك روش کارا جهت بررسي اثر ضدالتهابي داروهاي جدید بکار ميرود(۱۷). بررسي آماري نتایج حاصل از آزمون کاراژینان در نمودار ۱ نشان ميدهد که عصاره در دوزهاي ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میليگرم بر کیلوگرم کاهش معنيداري را در درجه تورم در مقایسه با گروه شاهد نشان ميدهد ($p<0/001$). درجه تورم (a/b) در طي مدت ۳ ساعت پس از تزریق کاراژینان در مورد تمامي دوزهاي عصاره کمتر از ۱/۵ بود. در ساعت سوم، اختلاف معنيداري بین این اثر ضدالتهابي عصاره هایپریکوم پرفوراتوم در دوزهاي ۱۰۰ و ۱۵۰ میليگرم بر کیلوگرم در مقایسه با ایندومتاسین (۴mg/kg) مشاهده نشد. همچنین اختلاف معنيداري بین میزان کاهش تورم در دوزهاي ۱۰۰ و ۱۵۰ میليگرم بر کیلوگرم از عصاره نیز مشاهده نگردید. در مطالعه سانچز و همکاران نیز گونه ای دیگر از علف چای اثر ضد التهابی در آزمون التهابی گوش موش سوری نشان داده است(۵).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

بررسي آماري نتايج حاصل از آزمون فرمالين در تمامي گروههاي مورد مطالعه اختلاف معنيداري را با گروه شاهد در هر دو فاز اوليه و تأخيري درد نشان ميدهد ($p<۰/۰۰۱$). عصاره در تمامي دوزهاي مورد مطالعه (۲۵-۲۵۰mg/kg) سبب مهار درد در هر دو فاز آزمون فرمالين شد ($p<۰/۰۰۱$). فعاليت ضد دردي عصاره در دوز ۱۵۰mg/kg از عصاره در فاز اوليه بيشتر از اثر ضد درد مرفين ۵mg/kg و كمتر از مرفين در دوز ۱۰mg/kg بود ($p<۰/۰۵$). دوز ۲۰۰ mg/kg از عصاره اثر ضد دردي مشابهي با مرفين در دوز ۱۰mg/kg در فاز اوليه از خود نشان داد ($p>۰/۰۵$). اثر ضد دردي عصاره با دوز ۲۵۰mg/kg در فاز اوليه درد بيشتر از اثر ضد دردي مرفين با دوز ۱۰mg/kg بود ($p<۰/۰۵$). فعاليت ضد درد مشابهي از عصاره هايپريكوم پرفوراتوم در دوزهاي ۲۵۰mg/kg و ۲۰۰ با مرفين (۱۰mg/kg) در فاز ثانويه درد مشاهده گرديد ($p>۰/۰۵$). پاسخ عصاره در دوزهاي ۲۰۰و ۲۵۰ ميليگرم بر كيلوگرم اختلاف معنيداري را درفاز اوليه و ثانويه نشان نداد. آزمون فرمالين يك مدل معتبر و قابل اعتماد ضد درد است كه حساسيت مناسب را براي اثرات ضد درد بسياري از گروههاي دارويي دارا ميباشد. در اين آزمون يك پاسخ دو فازي مشخص مشاهده ميشود. پيشنهاد بر آن است كه ماده P و برادي كينين در بروز پاسخ در فاز اوليه، و هيستامين، سروتونين، پروستاگلاندين و برادي كينين در فاز ثانويه درگير ميباشند. لذا اين آزمون ميتواند براي روشن شدن مكانيسم احتمالي اثر ضد دردي يك ضد درد مشخص بكار رود (۱۸). داروهايي مانند اپيوئيدها كه به صورت مركزي عمل ميكنند هر دو فاز را مهار نموده در حاليكه داروهايي كه به صورت محيطي عمل ميكنند، مانند ايندومتاسين و دگزامتازون، تنها فاز تأخيري را مهار مينمايند.

بنظر ميرسد فاز تأخيري يك پاسخ التهابي همراه با درد، ناشي از التهاب است كه ميتواند توسط داروهاي ضدالتهاب مهار ميشود (۱۹). با عنايت به تأثير گياه هايپريكوم پرفوراتوم بر هر دو فاز اوليه و ثانويه در آزمون فرمالين، احتمالا عملكرد ضد دردي اين گياه نيز مانند مرفين از طريق مكانيسم مركزي صورت ميپذيرد كه توسط رابانال و همكاران، بوخاری و همكاران كه روی گونه های مختلف علف چای كاركرده اند نيزاين احتمال داده شده است (۲۰و۶).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

با توجه به اثر ضد التهابي عصاره در آزمون كاراژينان بنظر مي‌رسد اثر عصاره در فاز ثانويه آزمون فرمالين مي‌تواند تا حدودي ناشي از عملكرد محيطي باشد. در آزمون كاراژينان، عصاره هايپريكوم پرفوراتوم در دوزهاي ۲۵-۱۵۰mg/kg عملكرد مهاري مشخصي را در طي مدت سه ساعت نشان داد كه در واقع فاز آزاد شدن پروستاگلاندين است(۱۳). بنابراين، بنظر می رسد كه عصاره در هر دونوع درد حادومزمن موثر باشد(۵و۶).

بررسي آماري نتايج آزمون صفحه داغ (جدول ۱) نشان مي‌دهد كه تجويز عصاره در دوزهاي ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰. ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ ميلي‌گرم بر كيلوگرم در مقايسه با گروه شاهد به صورت معني‌داري سبب افزايش آستانه درد ۳۰ دقيقه پس از تزريق عصاره گرديد ($p<۰/۰۰۱$). مرفين (۱۰mg/kg) نيز كه بعنوان شاهد مثبت استفاده شد اثر ضد دردي مشخصي را در مقايسه با گروه شاهد نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). آزمون صفحه داغ يك آزمون انتخابي براي تركيبات شبه اپيوئيدي است، اما ساير داروهايي كه به صورت مركزي عمل مي‌نمايند مانند خواب آورها و شل كننده‌هاي عضلاني نيز در اين آزمون اثرات مشابهي را نشان مي‌دهند(۲۱). به طور خلاصه مي‌توان بيان نمود كه آزمون صفحه داغ پاسخ ضد دردي به محرك‌هاي سريع‌الاثر را بررسي مي‌كند، در حالي كه آزمون فرمالين پاسخ به محرك‌هاي درد تأخيري را نيز اندازه‌گيري مي‌نمايد، بدين لحاظ به موارد باليني نزديكتر است(۱۹).

در آزمون رايتينگ، عصاره در دوزهاي۲۵ ($p<۰/۰۵$)، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ ميلي‌گرم بر كيلوگرم ($p<۰/۰۰۱$) كاهش معني‌داري در تعداد دفعات كشش بدن حيوان در مقايسه با گروه كنترل از خود نشان داد. اين نتايج ممكن است فرضيه تأثير گياه هايپريكوم پرفوراتوم بر مهار سنتز پروستاگلاندين را حمايت نمايد، زيرا ايجاد درد و حالت رايتينگ شكمي در اثر تجويز اسيد استيك براساس مكانيسم آزاد شدن متابوليتهاي آراشيدونيك اسيد در مسير سيكلواكسيژناز و بيوسنتز پروستاگلاندين ايجاد مي‌شود(۱۴). آزمون رايتينگ ناشي از اسيد استيك و آزمون صفحه داغ، به ترتيب براي بررسي اثرات ضد دردي مزمن و حاد به كار مي‌روند. در اين مطالعه عصاره هايپريكوم پرفوراتوم بر كاهش هر دو نوع درد ناشي از استيك اسيد و صفحه داغ مؤثر بود. اين مشاهدات

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

میتواند در حمایت از فرضیه ارائه شده مبنی بر آن که گیاه علف چای در هر دو نوع درد حاد و مزمن اثر دارد، مؤثر باشد. در مطالعات دیگر که در مصر و پاکستان روی اثر گونه های مختلف گیاه علف چای، از طریق خوراکی صورت گرفته نیز نتایج مشابه به دست آمده است (۱و۲). براساس آزمونهاي بکار رفته در این پژوهش براي مطالعه اثر ضد دردي عصاره هایپریکوم پرفوراتوم میتوان پیشنهاد نمود که عصاره این گیاه با مهار سنتز پروستاگلاندین یا مهار آزاد شدن سایر مدیاتورها اثر ضد درد خود را اعمال مینماید و چون در آزمونهای درد حاد نیز موثر است، احتمال مکانیسمهای مغزی هم وجود دارد که نیازمند مطالعات دیگری جهت تعیین مکانیسم اثر می باشد. در این پژوهش، دوزهایي از عصاره که اثر ضد دردی داشتند، در آزمون روتارود، از نظر اثر بر هماهنگي حرکات حیوان بررسي شدند. عصاره در دوزهاي ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میليگرم بر کیلوگرم تأثیر معنيداري بر هماهنگي حرکات حیوان نشان نداد پس میتوان نتیجه گرفت اثر ضد دردی حاصله ناشی از شلی عضلانی حیوان نمی باشد. ضمنا دوزهاي مؤثر ضد درد و ضد التهاب به میزان قابل توجهي کمتر از LD_{50} محاسبه شده بودند.

در پایان، با توجه به آزمونهاي فارماکولوژيك مرسوم، اثرات ضد درد و ضد التهاب عصاره هایپریکوم پرفوراتوم ایران قابل اثبات است. لذا این نتایج برخي از کاربردهاي این گیاه را در طب سنتي، تأئید مینماید اما جهت روشن نمودن مکانیسم اثرات سنتي این گیاه هنوز مطالعات بیشتري لازم است.

****

References

1. Trovato A, Raneri E, Kouladis M, Tzakou O, Taviano MF, Galati EM. Anti- inflammatory and analgesic activity of hypericum empetrifolium Willd (Guttiferae). Farmaco 2001; 56(5-7): 455-7.

2. Gambarana C, Ghiglieri O, Tolu P, Montis MG, Giachetti D, Bombardelli E, Tagliamonte A. Efficacy of an hypericum perforatum (St. John's Wort) extract in preventing and reverting a condition of escape deficit in rats. Neuropsychopharmacology 1999; 21 (2): 247-57.

3. Mukherjee PK, Verpoorte R, Suresh B. Evaluation of in-vivo wound healing activity of hypericum patulum (family: hypericaceae) leaf extract on different wound model in rats. J Ethnopharmacol 2000; 70 (3): 315-21.

4. Jean D, Pouligon M, Henriot AC. Pharmacological activity of three commercial hypericum perforatum preparations in mice. Phytother Res 2006; 20(8): 653-4.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

5. Sanchez Mateo CC, Bonkanka CX, Hernandez Perez M, Rabanal RM. Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of Hypericum reflexum L. fil. J Ethnopharmacol 2006; 107(1): 1-6.

6. Bukhari IA, Dar A, Khan RA. Antinociceptive activity of methanolic extracts of St. John's Wort (hypericum perforatum) preparation. J Pharm Sci 2004; 17(2): 13-19.

7. Abdel-Salam OM. Anti-inflammatory, antinociceptive, and gastric effects of hypericum perforatum in rats. Scientific World Journal 2005; 8(5): 586-95.

8. Kumar V, Singh PN, Bhattacharya SK. Anti-inflammatory and analgesic activity of Indian hypericum perforatum L. Ind J Expe Biol 2001; 39 (4): 339-43.

9. Morteza Semnani K, Saeedi M, Hamidian M, Vafamehr M, Dehpour AR. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of Glaucium grandiflorum extract. J Ethnopharmacol 2002; 80 (2-3): 181-6.

10. Denke A, Schneider W, Elstner EF. Biochemical activities of extracts from hypericum perforatum L. Arzneimittelforschung 1999; 49 (2): 109-14.

11. United States Pharmacopoeia (USP XXIV), 24th ed, 2000; p. 2510.

12. Chi SCh, Jun HW. Anti-inflammatory activity of ketoprofen gel on carrageenan-induced paw edema in rats. J Pharm Sci 1990; 79 (11): 974-7.

13. Farsam H, Amanlou M, Dehpour AR, Jahaniani F. Anti-inflammatory and analgesic activity of biebersteinia multifida DC. Root extract. J Ethnopharmacol 2000; 71 (3): 443-7.

14. Franzotti EM, Santos CV, Rodrigues HM, Mourao RH, Andrade MR, Antoniolli AR. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of Sida cordifolia L.(Malva-branca). J Ethnopharmacol 2000; 72 (1-2): 273-7.

15. Pieretti S, Dal Piaz V, Matucci R, Giovannoni MP, Galli A. Antinociceptive activity of a 3(2H)- pyridazinone derivative in mice. Life Sci 1999; 65 (13): 1381-94.

16. Carvalho JC, Sertie JA, Barbosa MV, et al. Anti-inflammatory activity of the crude extract from the fruits of pterodon emarginatus Vog. J Ethnopharmacol 1999; 64 (2): 127-33.

17. Just MJ, Recio MC, Giner RM, Cuellar MJ, Manez S, Bilia AR, Rois JL. Anti-inflammatory activity of unusual lupane saponins from bupleurum fruticescens. Planta Med 1998; 64 (5): 404-7.

18. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. Pain 1992; 51 (1): 5-17.

19. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. Pain 1987; 30 (1): 103-14.

20. Rabanal RM, Bonkanka CX, Hernandez Perez M, Sanchez Mateo CC. Analgesic and topical anti-inflammatory activity of Hypericum canariense L. and hypericum glandulosum ait. J Ethnopharmacol 2005; 96(3): 591-6.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]

21. Hiruma Lima CA, Gracioso JS, Bighetti EJ, Germonsen Robineou L, Souza Brito AR. The juice of fresh leaves of Boerhaavia diffusa L. (Nyctaginaceae) markedly reduces pain in mice. J Ethnopharmacol 2000; 71(1-2): 267- 74.

*آدرس نویسنده مسئول: ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، گروه فارماکولوژی، تلفن: ۷-۳۲۶۱۲۴۵-۰۱۵۱.

mtmhmit@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.4.1.1]