

اثرات ضدالتهابی، ضددردی، سمیت حاد و تعیین مقدار هایپریرسین 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- دانشجویار گروه شیمی دارویی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۳- دانشجویار 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 عصاره گیری و سپس عصاره فوق کاملاً خشک گردید. جهت بررسی اثر ضدالتهابی عصاره از روش ادم ایجاد شده در پای Rat با استفاده از کارائینان و جهت مطالعه اثر ضددردی از روش های 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 هایپریرسین نام مطابق روش فارماکوپه تعیین گردید. جهت آنالیز داده ها از آنالیز واریانس و بدنبال آن آزمون Student-Newman-Keuls با $p < 0.05$ استفاده شد.

یافته ها: در بررسی اثر ضد التهابی، عصاره گیاه علف چای با دوزهای ۱۵۰ و ۱۰۰ mg/kg اثرات مشابهی را با ایندومتاسین با دوز ۴ mg/kg نشان داد. در آزمون فرمالین نیز عصاره گیاه علف چای در تمامی دوزهای مورد مطالعه (۲۵-۲۵۰ mg/kg) سبب مهار هر دو فاز درد گردید ($p < 0.001$). در آزمون صفحه داغ نیز در دامنه دوز مورد مطالعه

(۲۵-۲۵۰ mg/kg) افزایش معنی داری در آستانه درد، در مقایسه با گروه شاهد، پس از ۳۰ دقیقه مشاهده گردید. در آزمون رایتینگ عصاره در دوزهای ۲۵ ($p < 0.05$) و ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بازاء کیلوگرم وزن بدن ($p < 0.001$) کاهش معنی داری 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 ۱۱۱۱/۴۷ mg/kg در موش سوری تعیین گردید. میزان درصد هایپریرسین نام نمونه معادل 0.101 ± 0.003 گزارش گردید.

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

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

جنس هایپریریکوم دارای حدود ۴۰۰ گونه مختلف می‌باشد، که در نواحی گرم از جمله مناطق مدیترانه‌ای می‌روید. برخی از گونه‌های این جنس در طب سنتی به عنوان ضد کرم، مدر، التیام بخش زخم و درمان هرپس به کار می‌روند (۱). یکی از گونه‌های

مهم این جنس هایپریریکوم پرفوراتوم (*Hypericum perforatum* L) یا علف چای از خانواده هایپریریکاسه (*Hypericaceae*) می‌باشد. این گیاه با دوام بوده و به شکل گسترده‌ای در اروپا، آسیا (از جمله ایران)، آفریقای شمالی و ایالات متحده آمریکا می‌روید (۲). ترکیبات مختلفی با فعالیت‌های بیولوژیک اثبات شده از این گونه گزارش شده‌اند مانند نفتودی‌آنترون (*Naphthodianthrone*)، هایپریرسین (*Hypericin*)، سودوهایپریرسین (*Pseudohypericin*)، فلاونوئیدهای مختلف مانند کوئرستین (*Quercetin*)، هایپرین (*Hyperin*)، فلورگلوسینول (*Phloroglucinol*) و اسانس، که اثرات مختلف ضد افسردگی، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان و فعالیت ضد التهابی از آنها گزارش شده است (۳). هایپریریکوم پرفوراتوم در سالهای اخیر جهت درمان جایگزین برای افسردگی‌های خفیف تا متوسط رواج

یافته است (۴). در مطالعات قبلی - گیاه علف چای هندی، اسپانیایی، پاکستانی و مصری به صورت خوراکی تحت آزمون‌های ضد التهابی و ضد درد قرار گرفته و نتایج مثبت از گونه‌های مختلف بدست آمده است (۸-۵)، لذا با توجه به بومی بودن این گیاه در ایران و استفاده از آن در طب سنتی، در ادامه تحقیق بر روی گیاهان ایران (۹) خواص درمانی هایپریریکوم پرفوراتوم مد نظر قرار گرفت و بدین منظور اثرات ضد التهاب، ضد درد، سمیت حاد و تعیین مقدار هایپریرسین در گیاه علف چای ایران برای نخستین بار مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

گیاه هایپریریکوم پرفوراتوم در بهار سال ۱۳۸۰ از ناحیه یاسوج در غرب کشور جمع‌آوری گردید و نام علمی آن توسط گروه فارماکognوزی دانشگاه علوم پزشکی تهران تأیید و با شماره ۱۳۱ در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ثبت و نگهداری گردید. سرشاخه هوایی گیاه در سایه خشک و پودر شد به‌گونه‌ای که ذرات از الک با مش معادل ۰/۵ میلی‌متر عبور می‌نمودند. جهت عصاره‌گیری ۱۰۰ گرم از پودر گیاه توسط حلال متانول

به مدت ۱۶ ساعت با استفاده از سوکسله عصاره‌گیری شد (۱۰) عصاره فوق کاملاً خشک گردید. بازده عصاره‌گیری 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 میلی لیتر بعنوان استاندارد استفاده شد. ۰/۵ گرم از پودر گیاه در ۱۵ میلی لیتر متانول حل و به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. ۵ میلی لیتر از محلول صاف شده به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد، سپس جذب نوری 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 صحرایی مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور حیوان نر از نژاد wistar در محدوده وزنی ۱۵۰-۲۰۰ گرم و در گروه‌های ۸ تایی مورد استفاده قرار گرفت. محلول ۱٪ کاراژینان (ساخت شرکت Sigma) در نرمال‌سالین، یک ساعت پیش از هر آزمایش تهیه گردید. ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون فوق یک ساعت پس از تزریق داخل صفاقی

عصاره، دارو و شاهد به کف پای موش‌ها تزریق گردید. پیش از تزریق، عصاره خشک در خلوطی از پروپیلن گلیکول و آب (به نسبت ۱:۴) حل گردید. عصاره نیز با دوزهای ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ایندومتاسین با دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. لازم به ذکر است که حجم پای حیوان بلافاصله و در فواصل زمانی ۱، ۲، و ۳ ساعت پس از تزریق کاراژینان توسط دستگاه پلتیسمومتر اندازه‌گیری شد. درجه تورم حاصل براساس a/b (نسبت حجم پاهای حیوان بعد و قبل از تزریق کاراژینان) بررسی گردید. نسبت کمتر از ۱/۵ به عنوان اثر مهاري دارو برالتهاب حاصل از کاراژینان در نظر گرفته شد (۱۲).

جهت بررسی اثر ضد دردی عصاره از آزمون فرمالین استفاده گردید. بدین منظور موش صحرایی نر (۸ موش در هر گروه) با محدوده وزنی ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم تحت آزمایش قرار گرفتند. پیش از آزمایش عصاره در خلوط پروپیلن گلیکول و آب (نسبت ۱:۴) حل گردید و هر حیوان تنها برای یک مرتبه مورد آزمایش قرار گرفت. عصاره گیاه با دوزهای ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و داروی مرفین با دوزهای ۱۰ و ۵ میلی‌گرم

بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شدند. گروه شاهد تنها حامل را دریافت نمودند. اثر ضد دردی با روش آزمون فرمالین (۱۳) بررسی گردید. یک 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 پای حیوان تزریق و عملکرد حیوان به مدت ۶۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. مدت زمانی که حیوان صرف لیسیدن پای خود می نمود، اندازه‌گیری گردید. پنج دقیقه نخست پس از تجویز فرمالین به عنوان فاز اولیه و فاصله زمانی میان ۱۵ تا ۶۰ دقیقه به عنوان فاز تأخیری 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 برای مدت حداکثر ۳۰ ثانیه بر روی یک صفحه آلومینیومی داغ با دمای $55 \pm 0/5$ درجه سانتیگراد قرار داده شد. مدت عکس‌العمل حیوان در زمان‌های صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ دقیقه پس از تزریق داخل صفاقی دوزهای ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره و غلظت ۱۰mg/kg مرفین، تا

شروع لیسیدن دست و پا یا بالا پریدن حیوان اندازه‌گیری شد (۱۴). آزمون رایتینگ (Writhing) براساس روش ذکر شده توسط پیرتی و همکاران انجام شد (۱۵). محلول عصاره با دوزهای ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز گردید. ۳۰ دقیقه پس از آن، به موش‌ها (mice) محلول ۰/۶ درصد استیک اسید با دوز ۱۰ml/kg به صورت داخل صفاقی تزریق شد تا ویژگی‌های رایتینگ (کشش بدن حیوان) ایجاد شود. تعدادکشش بدن حیوان بین دقایق ۵ تا ۱۵ بعد از تزریق اسید استیک اندازه‌گیری شد. پاسخ حیوانات تحت تأثیر عصاره با گروه‌های دریافت کننده ایندومتاسین (۵mg/kg) و مرفین (۱mg/kg) به عنوان گروه شاهد مقایسه گردید. جهت مطالعه هماهنگی حرکات از دستگاه روتارود با سرعت ۱۶ دور در دقیقه استفاده شد. انتخاب اولیه موش یک روز پیش از آزمایش صورت پذیرفت و موش‌هایی که قادر نبودند در دوره ۴۵ ثانیه‌ای تعادل خود را در دستگاه حفظ نمایند از بررسی حذف شدند. تعداد دفعات افتادن حیوان در مدت ۴۵ ثانیه بر روی موش‌سوری نر با محدوده وزنی ۲۰ تا ۲۵ گرم و در گروه‌های ۸ تایی بررسی گردید. بدین منظور کارایی دارو

گردید (مقادیر بیش از ۰/۰۴٪ در محدوده مورد قبول فارماکوپه می باشد که در این پژوهش این مقدار بیش از مقادیر مورد پذیرش فارماکوپه بود). نتایج حاصل از بررسی اثر ضدالتهابی 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.

نمودار ۱. تأثیر تجویز داخل صفاقی ایندومتاسین (Indo)

۴mg/kg عصاره هایپرپیکوم پرفوراتوم (HP) ۱۵۰، ۱۰۰،

۵۰، ۲۵ و حامل را بر ادم پای Rat بدنبال تزریق کاراژینان

نشان

می دهد. همچنین در تمامی گوها کاهش معنی داری را در درجه

تورم در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد ($p < 0/001$).

مشاهده می گردد. نمودار «الف» معرف اثرات ضد درد در فاصله زمانی ۰ تا ۵ دقیقه (فاز اولیه

قبل، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از تجویز عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با حامل ارزیابی 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 صفاقی دوزهای ۹۰۰، ۱۰۰۰، ۱۱۵۰، ۱۱۶۰، ۱۱۷۵ و ۱۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن مورد مطالعه قرار گرفت (۱۶). موش سوری نر در محدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم در گروه های ۸ تایی مورد آزمایش قرار گرفتند. پروبیت درصد مرگ و میر حیوانات در هر گروه در مدت ۷۲ ساعت مطالعه در مقابل لگاریتم دوز تجویزی 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 بررسی قرار گرفت و $p < 0/05$ از نظر آماری، معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

میزان درصد هایپرپرسین تام نمونه معادل $0/003 \pm 0/101$ تعیین نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد درد عصاره در مقایسه با داروی مرفین و شاهد در نمودار ۲

در آزمون رایتینگ در جدول ۲ بیان شده است. همچنین جهت بررسی اثر عصاره بر روی هماهنگی حرکات از آزمون میله دوار (Rotarod) استفاده شد. نتایج حاصل از این آزمون در جدول ۳ مشاهده می‌گردد. LD_{50} که شاخصی از سمیت حاد عصاره می باشد، پس از ۷۲ ساعت در تجویز داخل صفاقی عصاره معادل ۱۱۱۱/۴۷ mg/kg در موش سوری تعیین گردید.

درد) و نمودار «ب» معرف اثرات ضد دردی در فاصله زمانی ۱۵ تا ۶۰ دقیقه (فاز ثانویه درد) پس از تزریق فرمالین می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد دردی عصاره گیاه هایپریکوم پرفوراتوم در مقایسه با مرفین و کنترل با استفاده از روش صفحه داغ (Hot plate) در جدول ۱ مشاهده می‌شود. این نتایج در خصوص اثر عصاره گیاه در مقایسه با مرفین و ایندومتاسین

(A)

(B)

نمودار ۲. تاثیر عصاره هایپریکوم پرفوراتوم (۲۵۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵) و مرفین (M) با دوزهای ۱۰، ۵ mg/kg بر فاز اولیه (A) و فاز ثانویه (B) درد در آزمون فرمالین، محور عمودی بیانگر مجموع زمانهای (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 تزریق فرمالین) در فاز ثانویه درد می باشد. تمامی گروهها مورد مطالعه اختلاف معنی داری را با گروه شاهد نشان دادند ($p < 0.001$).

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

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

عصاره :	۲۵	$\pm 0/10$	$\pm 0/02$	۶/۹۲ $\pm 0/14$	۶/۶۰ $\pm 0/10$	۶/۵۰ $\pm 0/19$
		۶/۷۲	۶/۸۷			
۵۰	$\pm 0/03$	$\pm 0/11^*$	$\pm 0/14^{**}$	۸/۳۲ $\pm 0/12^*$	۷/۷۵ $\pm 0/09$	
	۷/۱۱	۸/۵۰	۱۰/۰۰			
۷۵	$\pm 0/05$	$\pm 0/17^*$	$\pm 0/13^{**}$	۹/۳۹ $\pm 0/11^*$	۸/۹۰ $\pm 0/07$	
	۷/۱۲	۹/۴۳	۱۱/۴۴			
۱۰۰	$\pm 0/08$	$\pm 0/13^{***}$	$\pm 0/14^{***}$	۸/۷۳ $\pm 0/13^{***}$	۱۰۰ $\pm 0/12^{**}$	
	۷/۲۲	۱۳/۲۵	۱۵/۲۵	۱۲	۱۱	
۱۵۰	$\pm 0/09$	$\pm 0/05^{***}$	$\pm 0/07^{***}$	۲/۲۵ $\pm 0/06^{***}$	۲/۲۲ $\pm 0/06^{***}$	
	۷/۲۵	۱۵/۸۷	۱۸/۳۷	۱۵	۱۳	
۲۰۰	$\pm 0/06$	$\pm 0/05^{***}$	$\pm 0/07^{***}$	۰/۰۰ $\pm 0/07^{***}$	۳/۷۳ $\pm 0/07^{***}$	
	۷/۳۵	۱۶/۶۵	۱۹/۳۷	۱۶	۱۳	
۲۵۰	$\pm 0/07$	$\pm 0/06^{***}$	$\pm 0/06^{***}$	۰/۷۳ $\pm 0/05^{***}$	۴/۲۲ $\pm 0/05^{***}$	
	۷/۳۷	۱۶/۷۲	۱۹/۴۵	۱۶	۱۴	

p<0/01 **

p<0/05 *

p<0/001 ***

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

گروه های مورد مطالعه	دوز داخل صفاقی	تعداد دفعات رایتینگ	درصد مهار
	(mg/kg)	(Mean $\pm$ SEM)	
کنترل	-	۴۶/۸۰ $\pm$ ۱/۳۲	-
عصاره هایپریکوم	۲۵	۴۲/۰۰ $\pm$ ۱/۸۳*	۱۰/۲۶
پرفوراتوم	۵۰	$\pm$ ۱/۳۸**	۶۵/۲۸
		۱۶/۲۵	
	۷۵	۳/۵۰ $\pm$ ۰/۸۷**	۹۲/۵۲
	۱۰۰	۳/۲۵ $\pm$ ۰/۴۸**	۹۳/۰۵
	۱۵۰	۰/۰۰ $\pm$ ۰/۰۰**	۱۰۰/۰۰
ایندومتاسین	۵	$\pm$ ۱/۷۱**	۶۳/۳۸
		۱۷/۱۴	
مرفین	۱	۷/۷۵ $\pm$ ۱/۴۹**	۸۳/۴۴

p<0/001 **

p<0/05 *

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

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

در هر گروه ۸ حیوان بود، هیچک از گروه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان ندادند.

می‌دهد ($p < 0.001$). درجه تورم (a/b)

در طی مدت ۳ ساعت پس از تزریق کاراژینان در مورد تمامی دوزهای عصاره کمتر از ۱/۵ بود. در ساعت سوم، اختلاف معنی‌داری بین این اثر ضدالتهابی عصاره هایپریکوم پرفوراتوم در دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با ایندومتاسین (۴ mg/kg) مشاهده نشد. همچنین اختلاف معنی‌داری بین میزان کاهش تورم در دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم 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).

بحث و نتیجه گیری

آزمون کاراژینان، یک روش بسیار حساس برای ارزیابی داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی می‌باشد. از این جهت این آزمون به عنوان یک روش کارا جهت بررسی اثر ضدالتهابی داروهای جدید بکار می‌رود (۱۷). بررسی آماری نتایج حاصل از آزمون کاراژینان در نمودار ۱ نشان می‌دهد که عصاره در دوزهای ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری را در درجه تورم در مقایسه با گروه شاهد نشان

آزمون يك پاسخ دو فازی مشخص مشاهده می‌شود. پیشنهاد بر آن است که ماده P و براداي کینین در بروز پاسخ در فاز اولیه، و هیستامین، سروتونین، پروستاگلندین و براداي کینین در فاز ثانویه درگیر می‌باشند. لذا این آزمون می‌تواند برای روشن شدن مکانیسم احتمالی اثر ضد دردی يك ضد درد مشخص بکار رود (۱۸). داروهای مانند اپیونئیدها که به صورت مرکزی عمل می‌کنند هر دو فاز را مهار نموده در حالیکه داروهای که به صورت محیطی عمل می‌کنند، مانند ایندومتاسین و دگزامتازون، تنها فاز تأخیری را مهار می‌نمایند.

بنظر می‌رسد فاز تأخیری يك پاسخ التهابی همراه با درد، ناشی از التهاب است که می‌تواند توسط داروهای ضدالتهاب مهار می‌شود (۱۹). با عنایت به تأثیر گیاه هایپریکوم پرفوراتوم بر هر دو فاز اولیه و ثانویه در آزمون فرمالین، احتمالاً عملکرد ضد دردی این گیاه نیز مانند مرفین از طریق مکانیسم مرکزی صورت می‌پذیرد که توسط رابانال و همکاران، بوخاری و همکاران که روی گونه های مختلف علف جای کارکرده اند نیزاین احتمال داده شده است (۲۰ و ۶).

بررسی آماری نتایج حاصل از آزمون فرمالین در تمامی گروههای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد در هر دو فاز اولیه و تأخیری درد نشان می‌دهد ($p < 0/001$). عصاره در تمامی دوزهای مورد مطالعه ($25-250 \text{ mg/kg}$) سبب مهار درد در هر دو فاز آزمون فرمالین شد ($p < 0/001$). فعالیت ضد دردی عصاره در دوز 150 mg/kg از عصاره در فاز اولیه بیشتر از اثر ضد درد مرفین 5 mg/kg و کمتر از مرفین در دوز 10 mg/kg بود ($p < 0/05$). دوز 200 mg/kg از عصاره اثر ضد دردی مشابهی با مرفین در دوز 10 mg/kg در فاز اولیه از خود نشان داد ($p > 0/05$). اثر ضد دردی عصاره با دوز 250 mg/kg در فاز اولیه درد بیشتر از اثر ضد دردی مرفین با دوز 10 mg/kg بود ($p < 0/05$). فعالیت ضد درد مشابهی از عصاره هایپریکوم پرفوراتوم در دوزهای 250 mg/kg و 200 با مرفین (10 mg/kg) در فاز ثانویه درد مشاهده گردید ($p > 0/05$). پاسخ عصاره در دوزهای 200 و 250 میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری را در فاز اولیه و ثانویه نشان نداد. آزمون فرمالین يك مدل معتبر و قابل اعتماد ضد درد است که حساسیت مناسب را برای اثرات ضد درد بسیاری از گروههای دارویی دارا می‌باشد. در این

با توجه به اثر ضد التهابی عصاره در آزمون کاراژینان بنظر می‌رسد اثر عصاره در فاز ثانویه آزمون فرمالین می‌تواند تا حدودی ناشی از عملکرد محیطی باشد. در آزمون کاراژینان، عصاره هایپریکوم پرفوراتوم در دوزهای ۲۵-۱۵۰ mg/kg عملکرد مهاری مشخصی را در طی مدت سه ساعت نشان داد که در واقع فاز آزاد شدن پروستاگلندین است (۱۳).

بنابراین، بنظر می‌رسد که عصاره در هر دو نوع درد حاد و مزمن موثر باشد (۶ و ۵).

بررسی آماری نتایج آزمون صفحه داغ (جدول ۱) نشان می‌دهد که تجویز عصاره در دوزهای ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد به صورت معنی‌داری سبب افزایش آستانه درد ۳۰ دقیقه پس از تزریق عصاره گردید ($p < 0/001$). مرفین (۱۰ mg/kg) نیز که بعنوان شاهد مثبت استفاده شد اثر ضد دردی مشخصی را در مقایسه با گروه شاهد نشان داد ($p < 0/001$). آزمون صفحه داغ یک آزمون انتخابی برای ترکیبات شبه اپیوئیدی است، اما سایر داروهایی که به صورت مرکزی عمل می‌نمایند مانند خواب آورها و شل کننده‌های عضلانی نیز در این

آزمون اثرات مشابهی را نشان می‌دهند (۲۱). به طور خلاصه می‌توان بیان نمود که آزمون صفحه داغ پاسخ ضد دردی به محرک‌های سریع‌الاثربرا بررسی می‌کند، در حالی که آزمون فرمالین پاسخ به محرک‌های درد تأخیری را نیز اندازه‌گیری می‌نماید، بدین لحاظ به موارد بالینی نزدیکتر است (۱۹).

در آزمون رایتینگ، عصاره در دوزهای ۲۵ ($p < 0/05$)، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($p < 0/001$) کاهش معنی‌داری در تعداد دفعات کشش بدن حیوان در مقایسه با گروه کنترل از خود نشان داد. این نتایج ممکن است فرضیه تأثیر گیاه هایپریکوم پرفوراتوم بر مهار سنتز پروستاگلندین را حمایت نماید، زیرا ایجاد درد و حالت رایتینگ شکمی در اثر تجویز اسید استیک براساس مکانیسم آزاد شدن متابولیت‌های آراشیدونیک اسید در مسیر سیکلواکسیژناز و بیوسنتز پروستاگلندین ایجاد می‌شود (۱۴). آزمون رایتینگ ناشی از اسید استیک و آزمون صفحه داغ، به ترتیب برای بررسی اثرات ضد دردی مزمن و حاد به کار می‌روند. در این مطالعه عصاره هایپریکوم پرفوراتوم بر کاهش هر دو نوع درد ناشی از استیک اسید و صفحه داغ مؤثر بود. این مشاهدات

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

(۲۱). براساس آزمون‌های بکار رفته در این پژوهش برای مطالعه اثر ضد دردی عصاره هایپرکوم پرفوراتوم می‌توان پیشنهاد نمود که عصاره این گیاه با مهار سنتز پروستاگلندین یا مهار آزاد شدن سایر مدیاتورها اثر ضد درد خود را اعمال می‌نماید و چون در آزمونهای درد حاد نیز مؤثر است، احتمال مکانیسمهای مغزی هم وجود دارد که نیازمند مطالعات دیگری جهت تعیین مکانیسم اثر می باشد. در این پژوهش، دوزهایی از

عصاره که اثر ضد دردی داشتند، در آزمون روتارود، از نظر اثر بر هماهنگی حرکات حیوان بررسی شدند. عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تأثیر معنی‌داری بر هماهنگی حرکات حیوان نشان نداد پس می‌توان نتیجه گرفت اثر ضد دردی حاصله ناشی از شلی عضلانی حیوان نمی باشد. ضمناً دوزهای مؤثر ضد درد و ضد التهاب به میزان قابل توجهی کمتر از LD₅₀ محاسبه شده بودند.

در پایان، با توجه به آزمونهای فارماکولوژیک مرسوم، اثرات ضد درد و ضد التهاب عصاره هایپرکوم پرفوراتوم ایران قابل اثبات است. لذا این نتایج برخی از کاربردهای این گیاه را در طب سنتی، تأیید می‌نماید اما جهت روشن نمودن مکانیسم اثرات سنتی این گیاه هنوز مطالعات بیشتری 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, Poulignon M, Henriot AC. Pharmacological activity of three commercial hypericum perforatum preparations in mice. Phytother Res 2006; 20(8): 653-4.

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, Antonioli 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 frutescens*. *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.

21. Hiruma Lima CA, Gracioso JS, Bighetti EJ, Germons 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: ۷-۳۲۶۱۲۶۵-۰۱۵۱.

mtmhmit@yahoo.com