

دکتر فریبا جعفری^۱، دکتر علیرضا قنادی، دکتر امیر سیامپوش

چکیده مقاله.

مقدمه. برای آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) خواص متعددی از جمله خواص ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد تشنج و ضد التهاب گزارش شده ولی تاکنون فقط خواص ضدقارچی این گیاه مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضدالتهابی این گیاه انجام شد. **روشها.** گروههای ۶ تایی رات (Rat) نر با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم به کار رفت. در گروه استاندارد از دگزامتازون با دوز ۱ mg/kg استفاده شد. به میزان ۱/۰ میلی لیتر از سوسپانسیون کاراژینان ۱ درصد به صورت زیرجلدی (S.C) در پوست پنجه پای رات تجویز و شدت التهاب ۳ ساعت پس از تزریق توسط دستگاه پلتیسوموگراف حیوهای اندازه گیری شد.

نتایج. تجویز عصاره تام ۹۰۰ mg/kg از راه خوراکی (po) و ۵۰۰ mg/kg از طریق داخل پریتونن (i.p)، عصاره فلاونوئید ۹۰۰ mg/kg (po و i.p) و اسانس ۳/۰ mg/kg (i.p) قبل از تزریق کاراژینان، اثر پیشگیری کننده قابل ملاحظه‌ای بر روی التهاب پنجه پای رات ناشی از کاراژینان نشان داد. علاوه بر این، عصاره تام و اسانس در آزمایش ایجاد زخم معده بر خلاف ایندومتاسین اثر زخم‌زایی نداشتند.

بحث. در مجموع این گیاه اثر ضدالتهابی قابل توجهی از خود نشان داد که قسمتی از آن مربوط به اسانس و فلاونوئید و بخشی مربوط به سایر مواد موجود در گیاه می‌باشد. فقدان اثر زخم‌زایی، امتیاز دیگر این گیاه است که با استخراج مواد مؤثر آن، در آینده می‌تواند به عنوان یک داروی ضدالتهاب قلمداد گردد و مورد آزمایشهای سم شناسی و بالینی لازم قرار گیرد.

● واژه‌های کلیدی. اثرات ضدالتهابی، آویشن شیرازی، تست کاراژینان، زخم‌زایی.

مقدمه.

برای استفاده علمی و صحیح از گیاهان دارویی ایران و تعیین خواص آنها، گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) از خانواده نعنائیان انتخاب گردید. این گیاه در مرکز، جنوب و جنوب شرقی ایران به طور فراوان روئیده و در ماههای فروردین و اردیبهشت گل می‌دهد. در طب سنتی، خواص گوناگونی مثل خواص ضد التهابی، ضد قارچی، ضد عفونی‌کننده، ضد نفخ و ضد تشنج برای این گیاه قابل شده‌اند (۱-۶)، ولی تاکنون فقط خواص ضد قارچی آن بررسی شده و مورد تأیید قرار گرفته است.

اسانس و فلاونوئید از مهمترین مواد مؤثر این گیاه می‌باشند که مقادیر نسبتاً خوبی از هر دو در گیاه موجود است. این گیاه همچنین دارای مقادیر کمتری رزمارینیک اسید، تانن، رزین و ساپونین بوده و فاقد آلكالوئید است (۷، ۸).

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر ضدالتهابی این گیاه طراحی گردید. اثر ضدالتهابی عصاره تام هیدروالکلی، اسانس و فلاونوئیدهای گیاه آویشن شیرازی با استفاده از تست کاراژینان مورد بررسی قرار گرفت. همچنین چون کلیه داروهایی که در حال حاضر به عنوان ضد التهاب مورد استفاده قرار می‌گیرند دارای اثرات زخم‌زایی بر روی معده می‌باشند، پس از مشاهده اثر ضدالتهابی گیاه، زخم‌زایی فراکسیونهای مختلف گیاه بر روی معده نیز بررسی شد.

روشها.

● حیوانات. موشهای صحرایی بالغ نر از نژاد Wistar (تهیه شده از انستیتو پاستور) مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات در درجه حرارت معمولی اطاق و در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

● روش تهیه فراکسیونهای مختلف گیاهی. برای عصاره‌گیری گیاه از روش خیساندن به این شرح استفاده شد.

یک صدگرم پودریکنواخت گیاه به نسبت ۱ به ۵ با اتانول ۷۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت در ارلن بزرگ آزمایشگاهی در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. پس از تکان دادن مخلوط به مدت دو ساعت و صاف نمودن عصاره حاصل، محلول حاصل توسط دستگاه تقطیر در خلاء و حمام آب بخار، به صورت کاملاً تغلیظ شده در آمد. عصاره مذکور در یخچال نگهداری و در موقع مصرف با غلظت ۲۰۰ mg/ml در محلول نرمال سالین رقیق گردید (۱، ۲، ۸، ۹).

برای تهیه عصاره فلاونوئیدی (پلی فنلی) گیاه به شرح زیر عمل شد. یک صدگرم پودریکنواخت گیاه به نسبت ۱ به ۵ و در دو مرحله و هر بار به مدت ۴۸ ساعت با اتانول ۹۰ درجه و اتانول ۵۰ درجه عصاره گیری گردید. پس از افزودن حاصل دو مرحله عصاره گیری به یکدیگر، حجم عصاره توسط دستگاه تقطیر در خلاء به یک سوم حجم اولیه تقلیل یافت و سپس در طی چندین مرحله و هر بار با مقدار لازم کلروفرم، عمل دکانتاسیون برای جداسازی ترکیبات کلروفریلی و مواد چربی انجام گرفت. پس از آن، عصاره الکلی حاصل مشابه باروش ذکر شده در بخش عصاره گیری تام کاملاً تغلیظ

* این طرح با شماره ۷۸۰۲۹ در دفتر هماهنگی امور پژوهش ثبت شده و هزینه آن از محل اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان پرداخت گردیده است.

۱- گروه فارما کولوژی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان، اصفهان.

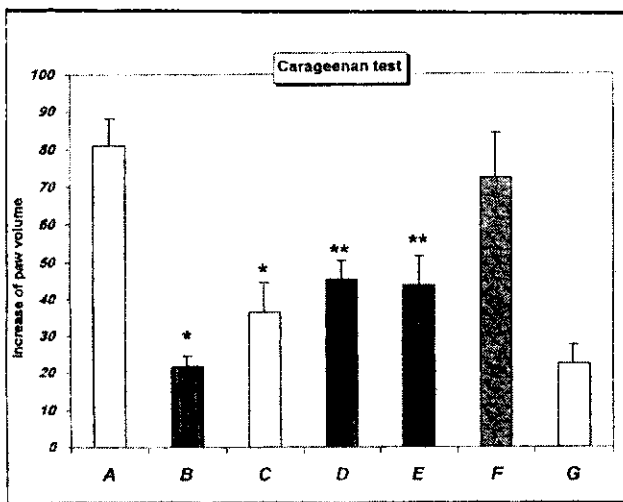
گروههای استاندارد و شاهد با استفاده از آنالیز واریانس مورد مقایسه قرار گرفت و در صورت معنی دار بودن اثر، آزمون دونکن (Duncan) برای تعیین محل اختلاف گروهها به کار برده شد. تجزیه و تحلیل اطلاعات با نرم افزار آماری SPSS به انجام رسید.

برای مقایسه اثر داروهای استفاده شده بر روی معده رات در این روش، از دو فاکتور بروز زخم (Ulcer incidence) و شاخص زخم (Ulcer index) استفاده شد.

Ulcer incidence عبارتست از نسبت تعداد راتهایی که در معده آنها ایجاد زخم شده (یعنی از درجه دو به بعد) به تعداد کل راتها در هر گروه آزمایشی. هر چه این نسبت بزرگتر باشد نشان دهنده اثر شدیدتر بر روی معده است (۱۴). برای به دست آوردن Ulcer index، شدت ضایعات ایجاد شده در معده رات بر اساس مقیاس ذکر شده درجه بندی گردید و نمره حاصل در هر رات محاسبه شد. سپس نتایج حاصل در هر گروه با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و تست دونکن مورد مقایسه قرار گرفت (۱۴).

نتایج

با تزریق کاراژینان در کف پای راست، التهاب فزاینده ای ایجاد می شود که حداکثر (Peak) آن در ساعت سوم بوده و پس از ۲۴ ساعت به مقدار زیادی فروکش می کند. میزان التهاب در کلیه گروههای مورد آزمایش با گروه کنترل (که نرمال سالیین دریافت کرده بودند) در ساعت سوم پس از تزریق کاراژینان مقایسه شد.



نمودار ۱. مقایسه اثر ضدالتهابی عصاره تام و فلاونوئیدی از راه خوراکی و داخل صفاقی، اسانس از راه داخل صفاقی و گروههای شاهد و دگزامتازون با استفاده از تست کاراژینان. A. نرمال سالیین ۰.۳ ml/kg. B. دگزامتازون ۰.۱ mg/kg (i.p). C. عصاره تام ۵۰۰ mg/kg (i.p). D. عصاره فلاونوئیدی خوراکی ۹۰۰ mg/kg. E. عصاره فلاونوئیدی ۹۰۰ mg/kg (i.p). F. عصاره فلاونوئیدی خوراکی ۹۰۰ mg/kg. G. اسانس ۰.۳ ml/kg (i.p). اندازه گیری در ساعت سوم بعد از تزریق کاراژینان به عمل آمده و با مقادیر قبل از تزریق مقایسه شد. نتایج به صورت میانگین مربوط به ۶ رات در هر گروه می باشد. $P < 0.05$ و $P < 0.01$ **

گردید. عصاره مذکور در یخچال نگهداری و در موقع مصرف با غلظت ۲۰۰ mg/ml در محلول نرمال سالیین رقیق گردید (۱۰، ۹).

برای تهیه اسانس فزار گیاه مطابق روش BP عمل گردید (۱۱، ۱۲).

● روش مطالعه اثر ضد التهابی گیاه با استفاده از تست کاراژینان. برای بررسی اثر ضد التهابی گیاه در این مطالعه، روش آرایه شده توسط Winter و همکارانش مورد استفاده قرار گرفت (۱۳). ابتدا راتهای نر با محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم در گروههای ۶ تایی تقسیم شدند و ۱/۰ میلی لیتر از سوسپانسیون یک درصد کاراژینان (در نرمال سالیین) در کف پای راست راتها تزریق گردید. حجم پای موش قبل از تزریق کاراژینان و ۲ ساعت بعد از تزریق توسط دستگاه پلتیسموگراف اندازه گیری شد.

به منظور بررسی اثر پیشگیری کننده عصاره تام و فراکسیونهای مختلف گیاه بر روی التهاب ناشی از کاراژینان، بخش گیاهی مورد نظر از راه تزریق داخل صفاقی (i.p) نیم ساعت و از راه خوراکی یک ساعت قبل از تزریق کاراژینان تجویز گردید. در سه گروه مورد درمان به ترتیب عصاره تام (۵۰۰ mg/kg)، اسانس (۰/۳ ml/kg) و عصاره فلاونوئیدی (۹۰۰ mg/kg) به صورت تزریق داخل صفاقی و از گروه دیگر عصاره تام (۹۰۰ mg/kg) و عصاره فلاونوئیدی (۹۰۰ mg/kg) از راه خوراکی (با استفاده از feeding tube) با فواصل زمانی مذکور داده شد. نتایج حاصل با گروه شاهد که نرمال سالیین به میزان ۲ ml/kg (به صورت خوراکی یا تزریق داخل صفاقی) دریافت کرده بودند و نیز با گروه استاندارد که دگزامتازون یا دوز ۱ mg/kg به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند، مورد مقایسه قرار گرفت.

● روش بررسی اثر عصاره تام و اسانس بر روی معده رات. ابتدا راتهای نر با محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۳۰ گرم انتخاب و در گروههای ۵ تایی تقسیم شدند. سپس راتها به مدت ۲۴ ساعت درون قفسهای مخصوص گرسنه نگه داشته شدند ولی آب به حد کافی در دسترس آنها بود. بعد از ۲۴ ساعت به آنها دارو داده شده و ۴ ساعت بعد از تجویز دارو حیوانات به وسیله اتر کشته شدند و معده آنها خارج گردید. معده از خلال خم بزرگ باز و توسط نرمال سالیین شستشو داده شد و با نره بین از نظر آسیب وارده مورد مطالعه قرار گرفت. آسیب به وجود آمده به صورت بدون ضایعه (صفر)، اریتم (یک)، زخم ته سنجاقی (دو)، زخم کمتر از ۲ میلی متر (سه)، زخم بزرگتر از ۲ میلی متر (چهار) و سوراخ شدن معده (پنج) مقیاس بندی شد (۱۴).

در این بخش از مطالعه، در چهار گروه از حیوانات به ترتیب در گروه شاهد ۲ ml/kg نرمال سالیین و CMC (کربوکسی متیل سلولوز)، در گروه استاندارد ۵ mg/kg ایندومتاسین، در گروه درمانی اول عصاره تام با دوز ۵۰۰ mg/kg و در گروه درمانی دوم اسانس با دوز ۰/۳ ml/kg از راه تزریق داخل صفاقی داده شده و سپس مطابق روش بالا عمل شد.

نتایج به دست آمده از هر یک از گروههای درمان شده و

اسانس گیاه نیز با دوز ۰/۳ ml/kg دارای اثر التهابی بسیار خوبی می‌باشد و بین اثر این دوز اسانس و دگزامتازون (۱ mg/kg) اختلافی وجود ندارد.

اثر ضد التهابی مشاهده شده می‌تواند مربوط به وجود ترکیباتی با خاصیت ضد التهابی در اسانس مانند سزکوئی‌ترین‌ها (۹) اثر ضد التهابی فلاونوئیدها و یا سایر مواد موجود در گیاه *Zataria multiflora* Boiss مانند رزمارینیک اسید، استرولها و استروئیدها باشد که تماماً دارای اثر ضد التهابی می‌باشند.

با توجه به میزان اسانس و فلاونوئید در گیاه و دوز به کار رفته عصاره تام، به نظر می‌رسد که تنها قسمتی از اثر ضد التهابی عصاره تام مربوط به موادی مانند رزمارینیک اسید و استروئیدها باشد و سایر مواد موجود در عصاره نیز در ایجاد این اثر دخالت دارند. در مقایسه بین عصاره تام (i.p) و عصاره تام خوراکی مشاهده می‌شود که عصاره خوراکی با دوز تقریباً دو برابر، اثر یکسانی با عصاره تام (i.p) دارد که این می‌تواند ناشی از عدم جذب مواد مؤثری مانند فلاونوئیدها (که از راه خوراکی اثر ندارد) باشد. همچنین احتمال دارد برخی از مواد اصلی عصاره تام، سریعاً در کبد متابولیزه شده و از بین بروند و نتوانند اثری از خود نشان دهند.

نکته جالب توجه آنست که در دوزهایی از عصاره تام و اسانس که دارای اثر ضد التهاب بودند، عصاره تام هیچ گونه اثر اریتم‌زا یا اولسرزا در معده رات نداشت و با گروه شاهد تفاوتی نداشت، اسانس این گیاه نیز فقط ایجاد اریتم نمود که احتمالاً ناشی از اثر تیمول موجود در آن می‌باشد (۵، ۱۳) و این در حالی است که در گروه دریافت کننده ایندومتاسین در همان شرایط در معده رات زخم ایجاد شد. بنابراین، مکانیسم اثر ضد التهابی عصاره تام و اسانس ممکن است با مکانیسم اثر NSAIDها متفاوت باشد یا وجود سایر مواد مانند فلاونوئیدها در ترکیبات گیاه مانع از ایجاد اثر سوء روی معده شود.

بررسیهای بعدی بر روی این گیاه شامل انجام آزمایشات توکسیکولوژیک، تعیین ED₅₀ هر یک از ترکیبات فوق، تعیین و شناسایی و استخراج مواد مؤثر گیاه و تهیه فرمولاسیونهای دارویی مناسب از این گیاه و مطالعات بالینی کنترل شده می‌تواند نوید بخش استفاده بهینه از این گیاه در درمان بیماریهای مختلف باشد.

قدردانی و تشکر.

نویسندگان مقاله از سرکار خانم نوالفقاری به خاطر همکاری بی‌دریغشان در تایپ مقاله قدردانی و تشکر به عمل می‌آورند.

یافته‌های این پژوهش نشان داد که عصاره تام (در هر دو روش تجویز خوراکی و i.p)، عصاره فلاونوئیدی (به صورت i.p) و اسانس این گیاه (به صورت i.p) دارای اثر ضد التهابی می‌باشند و تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) با گروه شاهد دارند. همچنین در دوزهای به کار رفته، اثر ضد التهابی فراکسیونهای مختلف این گیاه با گروه استاندارد که دگزامتازون (۱ mg/kg, i.p) دریافت کرده بودند، تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) نداشت (نمودار ۱).

در مرحله بررسی اثر زخم‌زایی عصاره تام (i.p) و اسانس (i.p) بر روی معده رات، نتایج نشان داد که ایندو بر خلاف ایندومتاسین در دوزهای به کار رفته اثر زخم‌زایی بر روی معده ندارند و اسانس با وجود آن که در سه رات تحت مطالعه موجب بروز اریتم و در یک مورد زخم ته سنجاقی شد تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه اثر گروههای شاهد، عصاره تام و اسانس گیاه *Zataria multiflora* Boiss و ایندومتاسین بر روی معده رات.

| گروه درمانی | مقدار دارو | Ulcer index | Ulcer incidence |
|---------------|------------|-------------|-----------------|
| ● نرمال سالین | ۲ ml/kg | ۰/۲ ± ۰/۴۵ | ۰ |
| ● ایندومتاسین | ۵ mg/kg | ۴/۲ ± ۲/۱۷ | ۴/۵ |
| ● عصاره تام | ۵۰۰ mg/kg | ۰/۲ ± ۰/۴۵ | ۰ |
| ● اسانس | ۰/۳ ml/kg | ۱ ± ۰/۷ | ۱/۵ |

بحث.

در بازار دارویی کشور چندین گونه گیاهی با عنوان آویشن وجود دارد که این گیاهان از لحاظ مواد مؤثر و خواص، تقریباً شبیه یکدیگر می‌باشند. گونه اصلی آویشن *Thymus vulgaris* است که بومی ایران بوده و دارای خواص زیادی از قبیل ضد التهاب، ضد میکروب و ضد قارچ می‌باشد. با توجه به آثار وسیع فارماکولوژی گیاهان این جنس و تیره و نیز مشابهت مواد مؤثر گیاه *Zataria multiflora* Boiss گونه فوق در مطالعه حاضر، اثر ضد التهابی این گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

در بررسی مقدماتی مشخص گردید که این گیاه دارای فلاونوئید به میزان ۲/۷۵ درصد و همچنین میزان اسانس گیاه ۰/۹ درصد بوده و در آزمایشی که برای تعیین مقدار هیدروکسی سینامیک اسیدها در گیاه انجام شد مقدار آن ۲/۸۴ درصد به دست آمد.

نتایج حاصل نشان می‌دهد عصاره تام از راه تزریق داخل صفاقی (۵۰۰ mg/kg) و عصاره تام خوراکی (۹۰۰ mg/kg) دارای اثر ضد التهابی بارزی بوده و از نظر آماری اختلافی با دگزامتازون ندارند.

مراجع.

- ۱- کیانی س. بررسی بالینی اثرات ضد قارچی فرآورده‌های ساخته شده از عصاره هیدورالکلی گیاه آویشن شیرازی. پایان نامه دکترای عمومی داروسازی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۱۳۷۴: ۱۸-۳۸.
- ۲- فاطمی ف. بررسی اثر ضدقارچی گیاه *Zataria multiflora* Boiss به روش *In vitro*. پایان نامه دکترای عمومی داروسازی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۱۳۷۴: ۷۵-۵۸.
- ۳- اشتال ا. تجزیه و شناسایی مواد دارویی به روش میکروسکوپی و کروماتوگرافی. ترجمه هادی صمصام شریعت. اصفهان: نشر مشعل ۱۳۶۸: ۲۲۱.
- ۴- صمصام شریعت ه. معطر ف. گیاهان و داروهای طبیعی. جلد سوم، اصفهان: نشر مشعل ۱۳۷۰: ۳۵۵.
- ۵- جاویدنیاک. شناسایی ترکیبات موجود در اسانس گیاهان *Zataria multiflora* Boiss و *Ziziphora tenuifolia* و *Matricaria decapetala* و بررسی اثر ضد میکروبی آنها، پایان نامه دکترای تخصصی فارماکوتوزی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران ۱۳۷۴: ۱۸-۱۱۷.
- ۶- میر حیدر ح. گنجینه اسرار گیاهان. تهران: نشر وحید، ۱۳۶۴: ۸۴-۲۷۷.
- ۷- دامن خورشید غ. بررسی گیاه شناسی و فیتوشیمیایی مقدماتی گیاهانی که در بازار دارویی ایران تحت نام آویشن عرضه می گردد. پایان نامه دکترای عمومی داروسازی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۱۳۷۱: ۷-۸، ۴۹-۷۱.
- 8- Sener B, Bingol F. Screening of natural source for anti-inflammatory activity. *Int J Crud Drug Res* 1988; 26(4): 197-207.
- 9- Markham KR. *Techniques of flavonoid identification*. London: Academic Press 1982; 1-51.
- 10- Wagner H, Bladt S, Zgainski EM. *Plant drug analysis-A thin layer chromatography atlas*. Translated by: Scott ThA, Berlin: Springer-Verlag 1984: 5-49, 163-73.
- 11- *British Pharmacopoeia*. London: British Pharmacopoeia Commission 1993; A: 154-7.
- 12- *Extra pharmacopoeia*, Martindale. 31th Ed. London: The pharmaceutical press 1996: 1148.
- 13- Winter CA, Rusely EA, Nuss GW. *Proceedings for experimental biology and medicine*. 1962; 111: 544-47.
- 14- Gene RM, Cartana C, Adzet T. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: Identification of its active constituents. *Planta Med* 1996; 62: 232-35.