

دکتر ولی‌اله حاج هاشمی^۱؛ دکتر علیرضا قنادی؛ دکتر دادر موسوی

چکیده مقاله.

مقدمه. گل اروانه با نام علمی *Salvia hydrangea*، در طب سنتی، به عنوان مسکن، برطرف کننده سردرد، ضد سرماخوردگی، ضد تب، برطرف کننده درد معده و ادرار آور استفاده شده اما تاکنون تحقیقات فارماکولوژیک بر روی این گیاه صورت نگرفته است. هدف این مطالعه بررسی اثر ضد درد و ضد التهاب گیاه مزبور می‌باشد.

روشها. ابتدا از برگ و گل گیاه عصاره تام، فراکسیون فلاونوئیدی و اسانس تهیه شد و برای بررسی اثر ضد درد دو تست *Light tail flick* و ریزینگ ناشی از اسید استیک به کار رفت. در تست اول از راتهای نر از نژاد ویستار و با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم و در تست دوم از موشهای سوری با وزن 25 ± 2 گرم استفاده شد. اثر ضد التهاب با استفاده از تست کاراژینان در رات‌های با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم سنجش شد.

نتایج. عصاره تام و فراکسیون فلاونوئیدی در تست *Light tail flick* اثر ضد درد نداشتند در حالی که مرفین به عنوان یک داروی ضد درد استاندارد پس از ۱۵ دقیقه حدود ۳۵ درصد حداکثر پاسخ ضد درد و پس از ۳۰ دقیقه حدود ۹۰ درصد حداکثر پاسخ ضد درد را ایجاد نمود. در تست ریزینگ ناشی از اسید استیک، عصاره تام و فراکسیون فلاونوئید اثر ضد درد قابل ملاحظه‌ای داشتند به طوری که اثرات آنها با ایندومتاسین (به عنوان یک داروی شاهد مثبت) قابل مقایسه بود. در تست کاراژینان، عصاره تام و فراکسیون فلاونوئیدی اثر ضد التهاب قابل توجهی نداشتند در حالی که اسانس اثر کمی داشت.

بحث. باتوجه به این که در تست *Light tail flick* داروهای ضد درد قوی نظیر اپیونیدها جواب می‌دهند، می‌توان گفت که این گیاه فاقد مواد ضد درد با ویژگیهای اپیونیدی است. از طرف دیگر ایجاد پاسخ ضد درد عصاره تام و فراکسیون فلاونوئید در تست ریزینگ ناشی از اسید استیک و اثرات ضد التهاب آنها در تست کاراژینان بیانگر این مطلب است که این گیاه احتمالاً در کنترل درد، خصوصاً دردهای با منشأ التهابی می‌تواند مؤثر واقع شود.

● واژه‌های کلیدی. گل اروانه، اثر ضد درد، اثر ضد التهاب، فلاونوئید.

مقدمه.

گل اروانه با نام علمی *Salvia hydrangea* از گیاهان تیره نعناع (*Labiata*) و از جنس مریم گلی (*Salvia*) می‌باشد. این گیاه در بسیاری از نقاط ایران، از جمله اطراف شهرهای کرج، قزوین، زنجان، تبریز، ارومیه، مراغه، همدان، کرمانشاه، سنندج، آباد، اقلید،

اصطهبانات، بروجن، خوانسار، دهاقان و اصفهان به طور طبیعی می‌روید (۱).

گیاهان جنس مریم گلی در درمان نقرس، روماتیسم، سردردهای یک طرفه، سردردهای عصبی و خیز به کار می‌روند (۲) و در طب سنتی نیز از گل اروانه به عنوان مسکن، برطرف کننده سردرد، ضد سرماخوردگی، ضد تب، برطرف کننده درد معده و ادرار آور استفاده شده است (۳، ۴).

ترکیبات مؤثر گیاه گل اروانه شامل فلاونوئیدها و روغن فرّار (اسانس) می‌باشد. مطالعات انجام شده روی فلاونوئیدهای گیاه، منجر به استخراج و خالص سازی ۵ فلاونوئید از برگ شده است. در مطالعات انجام شده بر روی روغن فرّار حاصل از گیاه گل اروانه، جمعاً ۱۲ ترکیب در اسانس گل (۸ ترکیب منوترپن و ۴ سزکویی‌ترین) و ۱۳ ترکیب در اسانس برگ (۱۱ منوترپن و ۲ سزکویی‌ترین) شناسایی شده است (۵).

از آنجایی که در طب سنتی برای گل اروانه اثر تسکینی قایل بوده‌اند و با استناد به این مطلب که فلاونوئیدها متابولیسم اسیدآراشیدونیک را وقفه می‌دهند (۶، ۷)، بنابراین، با در نظر گرفتن این موارد و باتوجه به این که تاکنون روی این گیاه مطالعه فارماکولوژیک صورت نگرفته است، به بررسی اثر ضد درد و ضد التهاب عصاره تام، فراکسیون فلاونوئید و اسانس این گیاه می‌پردازیم.

روشها.

- جمع آوری گیاه. این گیاه از منطقه دهاقان (۲۰۹۰ متر ارتفاع از سطح دریا) جمع آوری و در سایه خشک شد.
- شناسایی گیاه. پس از تهیه چند نمونه هرباریومی از گیاه، این نمونه‌ها در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کرج، شناسایی و تعیین نام علمی گردید.

- تهیه عصاره تام. ابتدا به نسبت مساوی از برگ و گل گیاه، مقدار ۵۰ گرم توزین و سپس با کمک آسیاب، به صورت پودر در آورده شد. به

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

ساعت بعد به هرکدام از موشها اسید استیک (1 ml/100 g) تزریق شد و پس از 10 دقیقه تعداد ریزینگ (توئچ‌ها و پیچشهای شکمی) به مدت 10 دقیقه شمارش گردید (12، 13).

● بررسی اثر ضد التهاب. به منظور بررسی اثر ضد التهاب از تست کاراژینان استفاده شد (10). 100 میکرولیتر از سوسپانسیون 1 درصد کاراژینان به زیر پوست پنجه راست حیوانات تزریق شد و حجم پا در زمانهای صفر، 1، 2، 3، 4 و 24 ساعت پس از تزریق کاراژینان با استفاده از دستگاه پلتیسموگراف (مدل Ugo Basil، ساخت ایتالیا) تعیین شد. عصاره تام (500 mg/kg)، فراکسیون فلاونوئید (200 mg/kg) و اسانس (0/5 ml/kg) نیم ساعت قبل از تزریق کاراژینان به کار رفت. حیوانات گروه کنترل، نرمال سالین و گروه شاهد مثبت دگزامتازون (1 mg/kg) دریافت کردند. این مواد همگی از راه داخل صفاقی (i.p.) تزریق شدند. درصد افزایش حجم پا در تمام حیوانات در زمانهای 1، 2، 3، 4 و 24 ساعت پس از تزریق کاراژینان محاسبه شد و سطح زیر منحنی (Area Under the Curve, AUC) درصد افزایش حجم پا بر حسب زمان محاسبه گردید.

● محاسبات آماری. برای مقایسه اختلاف بین میانگین مقادیر اندازه‌گیری شده در گروه‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن Student T-test استفاده شد.

نتایج

● نتایج حاصل از عصاره‌گیری. از 50 گرم گیاه، 29/5 گرم عصاره تام تغلیظ شده به دست آمد. بنابراین، درصد عصاره تام 59 درصد (W/W) می‌باشد. در مورد عصاره‌گیری فلاونوئیدی، از هر 50 گرم گیاه، 14/69 گرم عصاره فلاونوئیدی تغلیظ شده حاصل شد که درصد آن 29/28 درصد (V/W) می‌باشد. ضمناً از 700 گرم گیاه به نسبت یک به یک از گل و برگ، یک میلی‌لیتر اسانس به دست آمد و بنابراین، مقدار اسانس حاصل 0/142 درصد (W/V) می‌باشد.

● اثر ضد درد گیاه به روش Light tail flick. عصاره تام و فراکسیون فلاونوئیدی، هیچیک اثر ضد درد نشان ندادند (نمودار 1). در حالیکه مرفین (10 mg/kg, i.p.) به عنوان یک داروی ضد درد استاندارد پس از 15 دقیقه حدود 25 درصد حداکثر پاسخ ضد درد و پس از 20 دقیقه حدود 90 درصد حداکثر پاسخ ضد درد را ایجاد نموده است. حداکثر اثر ضد دردی مرفین 30 دقیقه پس از تزریق بروز نموده و بعد از آن به علت متابولیسم و دفع دارو اثر ضد درد با گذشت زمان کاهش یافته است.

● بررسی اثر ضد درد گیاه به روش ریزینگ ناشی از اسید استیک. عصاره تام، فراکسیون فلاونوئید و ایندومتاسین (به عنوان شاهد مثبت) تعداد ریزینگ را در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌دار ($P < 0/05$) کاهش داده‌اند (نمودار 2).

پودر حاصل به نسبت 1 به 12، اتانول 70 درصد اضافه و به مدت 48 ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده و سپس با استفاده از قیف بوختر صاف شد. عصاره حاصل با کمک دستگاه تقطیر در خلأ تغلیظ گردید.

● تهیه عصاره فلاونوئیدی. مقدار 50 گرم از گیاه با نسبت یک به یک از گل و برگ وزن و سپس پودر گردید. بعد با محلول آب و اتانول به نسبت 1 به 10 مخلوط و به مدت 48 ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. سپس به مدت 2 ساعت با کمک شیکر تکان داده و با قیف بوختر عصاره از تفاله جدا شد. در مرحله بعد، مجدداً به تفاله حاصل، اتانول 70 درصد اضافه شد و مراحل قبل تکرار گردید. حاصل دو مرحله به هم افزوده و با دستگاه تقطیر در خلأ، حجم به یک سوم کاهش داده شد. سپس برای جداسازی مواد چربی، ترپنوئید، کلروفیل و گزانتوفیل محلول حاصل چند بار با کلروفرم دکانته گردید و فاز کلروفرمی دور ریخته شد. باقیمانده در دستگاه تقطیر در خلأ کاملاً خشک گردید.

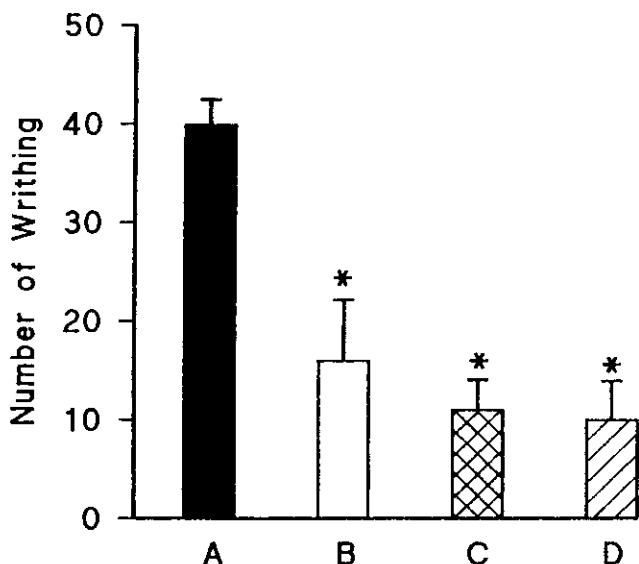
● تهیه اسانس. اسانس با استفاده از روش تقطیر با بخار آب و براساس روش فارماکوپه انگلستان تهیه شد (8).

● بررسی اثر ضد درد با روش Light tail flick. از رات‌های نر از نژاد ویستار و با وزن 180 تا 220 گرم استفاده شد. برای بررسی اثر ضد درد، از روش D'Amour استفاده گردید (9). در این روش نور لامپ دستگاه بر روی دم حیوان متمرکز می‌شود و در اثر درد ناشی از حرارت پس از مدت زمانی، حیوان دم خود را حلقه زده (Flick) و از محل نور دور می‌کند. در این روش، ابتدا تحمل حیوان نسبت به درد سنجیده می‌شود و زمان تحمل به عنوان Control latency در نظر گرفته می‌شود. سپس داروی مورد نظر تجویز و در فواصل زمانی مختلف تا 120 دقیقه پس از تجویز دارو، مجدداً مدت زمان تحمل درد ثبت می‌گردد (Test latency) و بعد با کمک فرمول زیر درصد حداکثر پاسخ ضد درد محاسبه می‌شود.

$$100 \times \frac{\text{Test latency} - \text{control latency}}{\text{cut-off time} - \text{control latency}} = \text{درصد حداکثر پاسخ ضد درد}$$

زمان cut-off، حداکثر زمان قابل تحمل است که آسیبی به دم رات وارد نکند و این زمان 15 ثانیه در نظر گرفته شد.

● بررسی اثر ضد درد با روش ریزینگ ناشی از اسید استیک. در این روش برای ایجاد درد از تزریق داخل صفاقی اسید استیک 1 درصد و به مقدار 1 ml به ازای هر 100 گرم وزن حیوان استفاده شد. آزمایش بر روی 4 گروه 5 تایی از موشهای سوری (Mice) با محدوده وزنی 25 ± 2 گرم صورت گرفت. گروه اول به عنوان گروه کنترل نرمال سالین 1 ml/100 g، گروه دوم عصاره تام گل اروانه به مقدار 1 ml/100 g، گروه سوم فراکسیون فلاونوئید به مقدار 200 mg/100 g و گروه چهارم به عنوان شاهد مثبت، ایندومتاسین به مقدار 200 mg/100 g و گروه پنجم اسانس به مقدار 0/25 mg/100 g از راه داخل صفاقی دریافت کردند. نیم



نمودار ۲. اثر ضد درد عصاره تام و فراکسیون فلاونوئید گل اروانه در روش

رایزینگ ناشی از اسید استیک در موش سوری. گروه A: به عنوان کنترل نرمال سالی (1 ml/100 g)؛ گروه B: فلاونوئید (200 mg/100 g)؛ گروه C: عصاره تام (200 mg/100 g) و گروه D: ایندومتاسین (25 mg/kg) از راه داخل صفاقی دریافت کرد. نیم ساعت بعد اسید استیک ۶٪ (1 ml/100 g) از راه داخل صفاقی به کار رفت و ۱۰ دقیقه بعد به مدت ۱۰ دقیقه تعداد ریزینگ شمارش شد. نتایج به صورت Mean ± SEM مربوط به ۵ موش سوری می باشد. * P < 0.05

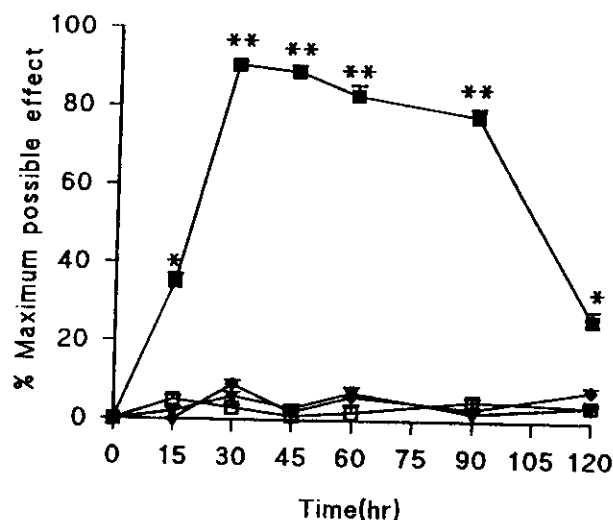
حجم پا افزایش می یابد به طوری که ۳ تا ۴ ساعت پس از تزریق کاراژینان، حداکثر افزایش حجم پا ایجاد می شود و پس از آن مقدار ادم کاهش می یابد (نمودار ۳).

نتایج حاصل از بررسی عصاره تام گیاه گل اروانه نشان می دهد که عصاره تام به صورت معنی دار (P < 0.05) التهاب ناشی از کاراژینان را مهار نموده است (نمودار ۴)، دگزامتازون به عنوان یک داروی ضد التهاب استاندارد نیز به خوبی التهاب را مهار کرده و عصاره تام به مقدار ۲۶ درصد و دگزامتازون به مقدار ۴۴ درصد التهاب را کاهش داده است (P < 0.05).

فراکسیون فلاونوئید به مقدار ۳۲ درصد التهاب ناشی از کاراژینان را مهار کرده است که این مقدار از نظر آماری قابل ملاحظه می باشد (P < 0.01) (نمودار ۵). اساس گیاه اثر ضد التهابی قابل توجه نداشت و فقط به اندازه ۸ درصد التهاب را کاهش داد.

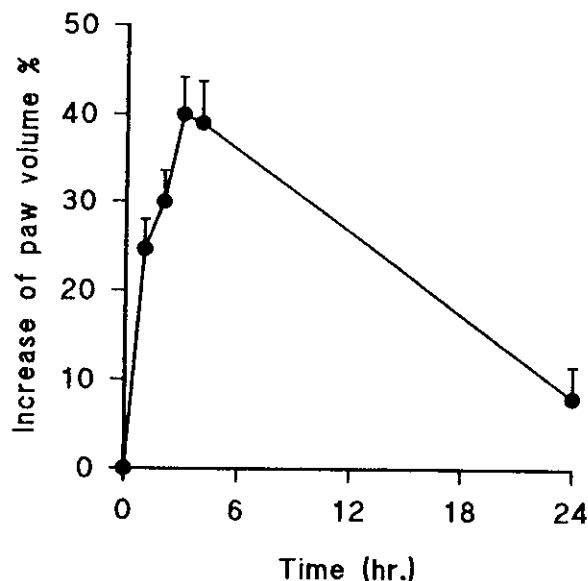
بحث

در این مطالعه اثر ضد درد و ضد التهاب گیاه گل اروانه مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این که دو دسته مهم داروهای ضد درد، داروهای اپیوئیدی (نظیر مرفین) و داروهای غیر اپیوئید (نظیر آسپیرین، ایندومتاسین) می باشند (۱۱)، برای ارزیابی اثر ضد درد از دو تست Light tail flick و رایزینگ ناشی از اسید استیک استفاده شد. در تست اول داروهای اپیوئید به خوبی پاسخ می دهند در حالیکه داروهای غیر اپیوئید به این تست پاسخ نمی دهند (۱۲، ۱۳) و برای



نمودار ۱. اثر ضد درد عصاره تام و فراکسیون فلاونوئید گل اروانه در روش

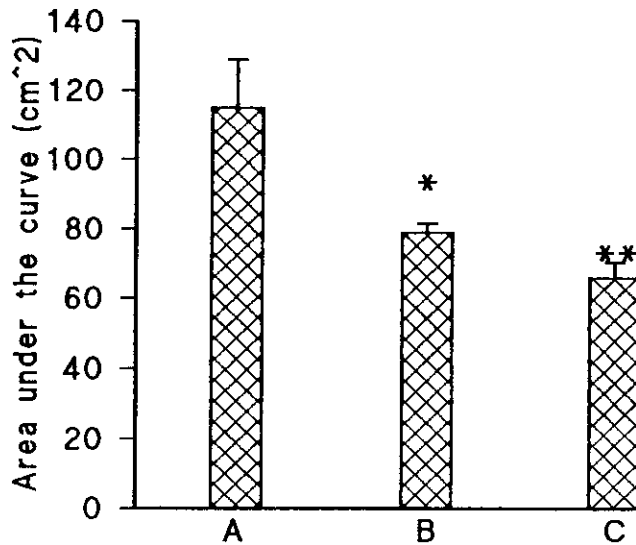
Light tail flick. عصاره تام (مربع توخالی) به مقدار 200 mg/kg، فراکسیون فلاونوئید (لوزی توپر) به مقدار 200 mg/kg و مرفین (مربع توپر) به مقدار 10 mg/kg از راه داخل صفاقی به کار رفت. گروه کنترل (مثلث توپر) سرم فیزیولوژی 1 ml/kg دریافت کرد. اثر ضد درد تا زمان ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق سنجش شد. مقادیر به صورت Mean ± SEM در صد حداکثر پاسخ اثر ضد درد (MPE) مربوط به ۶ رات در هر گروه می باشد. * P < 0.05، ** P < 0.01



نمودار ۳. اثر التهاب زای تزریق کاراژینان در زیر پوست پنجه پای رات. سوپانسیون کاراژینان (1% W/V) به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر در زیر پوست پنجه پای رات تزریق شد و در فواصل زمانی صفر، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۲۴ ساعت حجم پا با کمک پله تسموگراف اندازه گیری شد و درصد افزایش حجم پا نسبت به زمان صفر تعیین شد. نتایج به صورت Mean ± SEM مربوط به ۶ رات می باشد.

در مقایسه با گروه کنترل فراکسیون فلاونوئید به میزان ۶۰ درصد، عصاره تام به میزان ۷۳ درصد و ایندومتاسین به میزان ۷۵ درصد، درد ناشی از اسید استیک را مهار کرده است.

● بررسی اثر ضد التهابی گیاه. با تزریق کاراژینان، ادم ایجاد شده و



نمودار ۵. اثر ضد التهاب فراکسیون فلاونوئید گل اروانه در مقایسه با دگزامتازون. گروه A: نرمال سالین (۲ ml)؛ گروه B: فراکسیون فلاونوئید دگزامتازون (۲۰۰ mg/kg)؛ گروه C: دگزامتازون (۱ mg/kg) از راه داخل صفاقی دریافت کرد و نیم ساعت بعد ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون کارازینان در کف پای حیوانات تزریق شد. مقادیر Mean ± SEM سطح زیر منحنی، میزان افزایش حجم پا و مربوط به ۶ رات در هر گروه می باشد. *P < 0.05؛ **P < 0.005

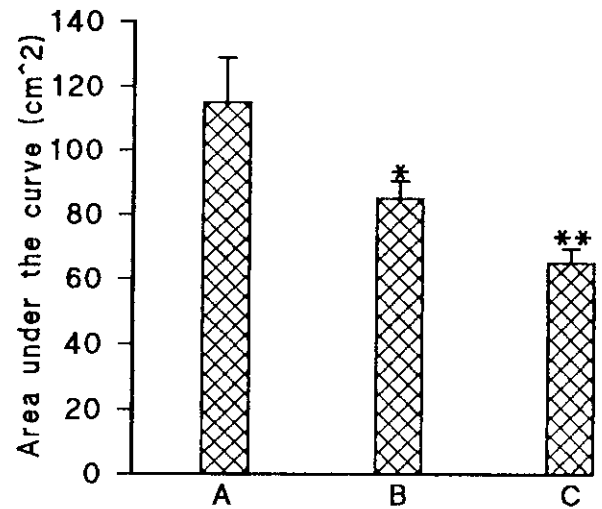
فلاونوئید با مقدار ۲۰۰ mg/kg به کار رفته اند و با توجه به این که عصاره تام به میزان ۲۶ درصد و فراکسیون فلاونوئیدی به میزان ۳۲ درصد التهاب را مهار کرده است، می توان نتیجه گرفت که اثر ضد التهابی فراکسیون فلاونوئیدی از عصاره تام برجسته تر است.

با توجه به این که فلاونوئیدهایی که ساختمان آنها شبیه به فلاونوئیدهای جدا شده از گل اروانه بوده است، متابولیسم اسید آراشیدونیک را وقفه می دهند (۶، ۷) و با در نظر گرفتن این مطلب که پروستاگلاندین ها در ایجاد التهاب و تشدید درد اثر داشته (۱۲) و از اسید آراشیدونیک منشاء می گیرند، می توان گفت که احتمالاً فلاونوئیدهای گل اروانه با مکانیسم فوق الذکر در ایجاد اثر ضد درد و ضد التهاب نقش دارند.

در پایان با در نظر گرفتن عوارض شدید داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی، چنانچه مطالعات سم شناسی و بالینی بر روی این گیاه نتایج مناسبی نشان دهد، می توان مصرف این گیاه را برای کنترل درد، خصوصاً دردهای با منشاء التهابی، توصیه نمود.

قدردانی و تشکر.

بدینوسیله از سرکار خانم مهندس محبوبه خاتم ساز که در شناسایی و تعیین نام علمی نمونه های گیاهی، ما را یاری نمودند، سپاسگزاری می نمایم.



نمودار ۴. اثر ضد التهاب عصاره تام گل اروانه در مقایسه با دگزامتازون. گروه A: نرمال سالین (۲ ml)؛ گروه B: عصاره تام (۵۰۰ mg/kg) و گروه C: دگزامتازون (۱ mg/kg) از راه داخل صفاقی دریافت کرد و نیم ساعت بعد ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون کارازینان در کف پای حیوانات تزریق شد مقادیر Mean ± SEM سطح زیر منحنی، میزان افزایش حجم پا و مربوط به ۶ رات در هر گروه می باشد. *P < 0.05؛ **P < 0.005

ارزیابی اثر ضد درد آنها یکی از آزمایشها، آزمایش ریزینگ ناشی از اسید استیک می باشد (۱۳، ۱۴). بنابراین با توجه به اینکه در این مطالعه هر دو تست استفاده شد چنانچه مواد ضد دردی با خواص اپیونید و یا غیر اپیونید در گیاه وجود داشته باشد مشخص می شود. در آزمایش Light tail flick، عصاره تام و فراکسیون فلاونوئید فاقد اثر ضد درد بودند و می توان گفت که مواد اپیونیدی در این گیاه وجود ندارد.

بررسی اثر ضد دردی عصاره تام و فراکسیون فلاونوئیدی در آزمایش ریزینگ ناشی از اسید استیک با نتایج مثبت و خوبی همراه بود به طوری که این اثرات با اثر ایندومتاسین قابل مقایسه است. از آنجاییکه عصاره تام و فراکسیون فلاونوئید با دوز ۲ g/kg و ایندومتاسین با مقدار ۲/۵ mg/kg به کار رفته است، می توان گفت که قدرت اثر (Potency) عصاره تام و فراکسیون فلاونوئید از ایندومتاسین کمتر است.

هر چند فراکسیون فلاونوئید و عصاره تام با دوز مساوی به کار رفته اند اما اثر عصاره تام برجسته تر است که بیانگر این نکته است که احتمالاً علاوه بر فلاونوئیدها، مواد ضد درد دیگری نیز در عصاره تام وجود دارد.

بررسی اثر ضد التهاب گیاه نشان می دهد که عصاره تام و فراکسیون فلاونوئیدی، هر دو، اثر ضد التهاب قابل توجهی دارند. با توجه به این که عصاره تام با مقدار ۵۰۰ mg/kg و فراکسیون

مراجع.

- 1- Delghandi M. List of plants of herbarium (Iranian ministry of agriculture) Labiatae. Tehran: Agricultural and natural resources research organization 1991; 95-130.
- ۲- زرگری ع. گیاهان دارویی. چاپ چهارم، تهران: نشر دانشگاه تهران ۱۳۶۶؛ ۱: ۷-۲۶۴، ۶-۵۵۵-۳ و ۶۷۲-۳.
- ۳- مؤمن حسینی م. تحفه حکیم مؤمن. تهران: نشر کتاب فروشی محمودی ۱۳۶۰؛ ۶۴ و ۱-۳۴۰.
- ۴- عقیلی علوی خراسانی شیرازی م ح. قرابادین کبیر. تهران: نشر کتاب فروشی محمودی ۱۳۴۹؛ ۱۹۳.
- ۵- قنادی ع. بررسی فیتوشیمیایی گیاه *Salvia hydrangea*. پایان نامه دوره تخصصی فارماکوتوزی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۱۳۷۳.
- 6- Craker LE, Simon JE. Herbs, spices and medicinal plants, Recent advances in botany horticulture and pharmacology. 1st Ed. Phoenix: oryx press 1992; 1: 81-95, 167-84.
- 7- Harvey A. Drugs from natural products, pharmaceutical and agrochemicals. 1st Ed. New York: Ellis Horwood 1993; 152-67.
- 8- British pharmacopoeia, London: British Pharmacopoeia Commission 1993; A: 154-7.
- 9- D'Amour FE, Smith DI. A method for determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther 1941; 72: 74-99.
- 10- Winter CA, Rosley EA, Nuss GW. Proceeding of the society for experimental biology and Medicine. 1962; 111: 544-7.
- 11- Hardman JG, Limbird LE. The pharmacological basis of therapeutics. 9th Ed. New York: McGraw Hill 1996; 617-659.
- 12- Turner A. Screening methods in pharmacology. 1st Ed. New York: Academic Press 1965.
- 13- Williamson EM, Okpako DT, Evans FJ. Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material. 1st Ed. New York: John Wiley and Sons 1996; 131-154.
- 14- Berkenkopf JW, Weichman BM. Production of prostacyclin in mice following i.p. injection of acetic acid, Phenylbenzoquinone and zymosan, its role in the writhing response, Prostaglandins. 1988; 36: 693-709.