● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره هشتم، شمارهٔ ۴، مرداد – شهریور ۱۳۸۵، صفحه ۱۴-۷
دریافت: ۸۴/۱۰/۲۰، ارسال جهت اصلاح: ۸۵/۱/۳۰، پذیرش: 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 $p<0/05$ 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($p<0/001$). 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 ($p<0/05$) و ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بازاء کیلوگرم وزن بدن ($p<0/001$) 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.*

مقدمه

جنس هایپریکوم 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

بی در بی ۳۲

Archive of SID
www.SID.ir

مهم این جنس هایپریکوم پرفوراتوم (Hypericum perforatum L) یا علف چای از خانواده هایپریکاسه (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) ، هایپریسین (Hypericin)، سودوهایپریسین (Pseudohypericin)، فلاونوئیدهای مختلف مانند کوئرستین (Quercetin)، هایپرین (Hyperin)، فلورگلوسینول (Phloroglucinol) و اسانس، که اثرات مختلف ضدافسردگی، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان و فعالیت ضدالتهابی از آنها گزارش شده است(۳). هایپریکوم پرفوراتوم در سالهای اخیر جهت درمان جایگزین برای افسردگی‌های خفیف تا متوسط رواج یافته است(۴). در مطالعات قبلی گیاه علف چای هندی، اسپانیائی، پاکستانی ومصری به صورت خوراکی تحت آزمون های ضد التهابی و ضد درد قرار گرفته و نتایج مثبت از گونه های 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 هایپریکوم پرفوراتوم مد نظر قرار گرفت و بدین منظور اثرات ضد التهاب، ضد درد ، سمیت حاد و تعیین مقدار هایپریسین در گیاه علف چای ایران برای نخستین بار مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

گیاه هایپریکوم پرفوراتوم در بهار سال ۱۳۸۰ از ناحیه یاسوج در غرب کشور جمع‌آوری گردید و نام علمی آن توسط گروه فارماکوگنوزی دانشگاه علوم پزشکی تهران تأئید 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 می نمودند. جهت عصاره‌گیری ۱۰۰ گرم از پودر گیاه توسط حلال متانول به مدت ۱۶ساعت با استفاده از سوکسله عصاره‌گیری شد(۱۰) عصاره فوق کاملاً خشک گردید. بازده عصاره گیری 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 صحرائی مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور حیوان نر از نژاد wistar در محدودهٔ وزنی۲۰۰–۱۵۰ 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 مخلوطی 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 مهاری دارو برالتهاب حاصل از کاراژینان در نظر گرفته شد(۱۲).

جهت بررسی اثر ضد دردی عصاره از آزمون فرمالین استفاده گردید. بدین منظور موش صحرائی نر (۸ موش در هر گروه) با محدودهٔ وزنی 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 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

Archive of SID

www.SID.ir

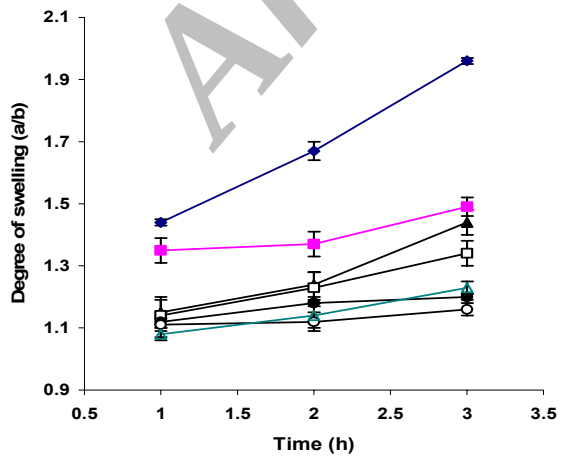
کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تجویز شدند. گروه شاهد تنها حامل را دریافت نمودند. اثر ضد دردی با روش آزمون فرمالین (۱۳) بررسی گردید. یک ساعت پیش از آزمون، حیوان در قفس استاندارد قرار داده شد. عصاره یا دارو ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تجویز گردید، آنگاه ۵۰ میکرولیتر از فرمالین ۲/۵ درصد به کف پای حیوان تزریق 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 ۰/۵± ۵۵ 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 دورهٔ 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 محدودهٔ وزنی ۲۰ تا ۲۵ گرم و در گروههای ۸ تایی بررسی گردید. بدین منظورکارایی دارو قبل، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه پس از تجویز عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و۲۰۰ میلی‌گرم 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 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مورد مطالعه قرار گرفت(۱۶). موش سوری نر در محدوده وزنی ۲۵–۲۰ گرم در گروه‌های 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 $p < ۰/۰۵$ از نظر آماری ، معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

میزان درصد هایپریسین تام نمونه معادل ۰/۰۰۳±۰/۱۰۱ تعیین 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.



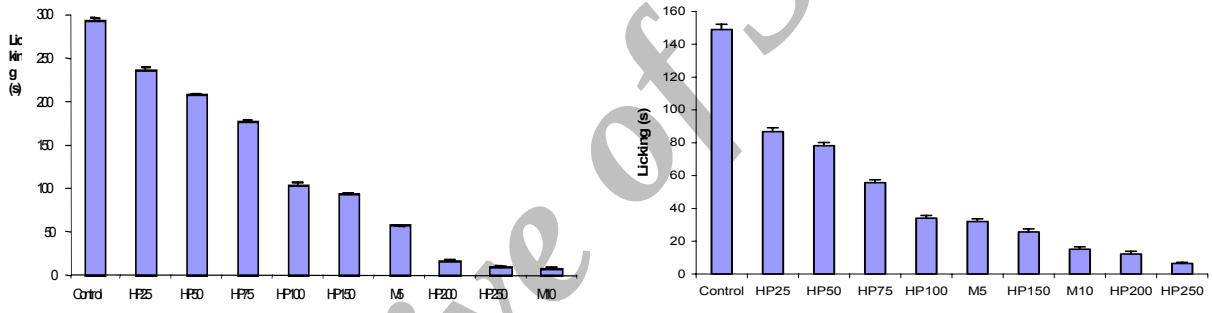
Archive of SID

www.SID.ir

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

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد درد عصاره در مقایسه با داروی مرفین و شاهد در نمودار ۲ مشاهده می‌گردد. نمودار «الف» معرف اثرات ضد درد در فاصله زمانی ۰ تا ۵ دقیقه (فاز اولیه درد) و نمودار«ب» معرف اثرات ضد دردی در فاصله زمانی ۱۵تا 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 نشان می دهد. همچنین در تمامی گوهها کاهش معنی داری را در درجه تورم در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد(**p**<۰/۰۰۱).

جدول ۱ مشاهده می‌شود. این نتایج در خصوص اثر عصاره گیاه در مقایسه با مرفین و ایندومتاسین 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 درجدول۳ 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.



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***
عصاره:	۲۵	۶/۷۲ ± ۰/۱۰	۶/۸۷ ± ۰/۰۲	۶/۹۲ ±۰/۱۴	۶/۶۰±۰/۱۰	۶/۵۰±۰/۱۹
	۵۰	۷/۱۱ ± ۰/۰۳	۸/۵۰ ± ۰/۱۱*	۱۰/۰۰ ±۰/۱۴**	۸/۳۲±۰/۱۲*	۷/۷۵±۰/۰۹
	۷۵	۷/۱۲ ± ۰/۰۵	۹/۴۳ ± ۰/۱۷*	۱۱/۴۴ ±۰/۱۳**	۹/۳۹±۰/۱۱*	۸/۹۰±۰/۰۷

Archive of SID

www.SID.ir

۱۰۰	۷/۲۲ ± ۰/۰۸	۱۳/۲۵ ± ۰/۱۳***	۱۵/۲۵ ±۰/۱۴***	۱۲/۸۷±۰/۱۳***	۱۱/۰۰±۰/۱۲**
۱۵۰	۷/۲۵ ± ۰/۰۹	۱۵/۸۷ ± ۰/۰۵***	۱۸/۳۷ ±۰/۰۷***	۱۵/۲۵±۰/۰۶***	۱۳/۲۲±۰/۰۶***
۲۰۰	۷/۳۵ ± ۰/۰۶	۱۶/۶۵ ± ۰/۰۵***	۱۹/۳۷ ±۰/۰۷***	۱۶/۰۰±۰/۰۷***	۱۳/۳۷±۰/۰۷***
۲۵۰	۷/۳۷ ± ۰/۰۷	۱۶/۷۲ ±۰/۰۰۶***	۱۹/۴۵ ±۰/۰۶***	۱۶/۰۷±۰/۰۵***	۱۴/۴۲±۰/۰۵***

p<۰/۰۰۱ *** p<۰/۰۱ ** p<۰/۰۵ *

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

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

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	–	۰/۲۵ ± ۰/۱۶	۰/۵ ± ۰/۱۹	۰/۵ ± ۰/۱۹	۰/۴۳ ± ۰/۲۰
هایپریکوم پرفوراتوم	۱۰۰	۰/۲۵ ± ۰/۱۶	۰/۲۵ ± ۰/۱۶	۰/۲۵ ± ۰/۱۶	۰/۲۵ ± ۰/۱۶
	۱۵۰	۰/۲۵ ± ۰/۱۶	۰/۳۷ ± ۰/۱۸	۰/۲۵ ± ۰/۱۶	۰/۲۵ ± ۰/۱۶
	۲۰۰	۰/۳۷ ± ۰/۱۸	۰/۵ ± ۰/۲۷	۰/۵۰ ± ۰/۱۹	۰/۵۰ ± ۰/۱۹

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

بحث و نتیجه گیری

آزمون کاراژینان، یک روش بسیار حساس برای ارزیابی داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی می‌باشد. از این جهت این آزمون

Archive of SID

www.SID.ir

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 می‌دهد($p<۰/۰۰۱$). 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 (۴mg/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).

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($p<۰/۰۰۱$). عصاره در تمامی دوزهای مورد مطالعه (۲۵۰mg/kg–۲۵) سبب مهار درد در هر دو فاز آزمون فرمالین شد($p<۰/۰۰۱$). فعالیت ضد دردی عصاره در دوز ۱۵۰mg/kg از عصاره در فاز اولیه بیشتر از اثر ضد درد مرفین ۵mg/kg و کمتر از مرفین در دوز ۱۰mg/kg بود($p<۰/۰۵$). دوز ۲۰۰mg/kg از عصاره اثر ضد دردی مشابهی با مرفین در دوز ۱۰mg/kg در فاز اولیه از خود نشان داد($p>۰/۰۵$). اثر ضد دردی عصاره با دوز ۲۵۰mg/kg در فاز اولیه درد بیشتر از اثر ضد دردی مرفین با دوز ۱۰mg/kg بود ($p<۰/۰۵$). فعالیت ضد درد مشابهی از عصاره هایپریکوم پرفوراتوم در دوزهای ۲۵۰mg/kg و ۲۰۰ با مرفین (۱۰mg/kg) در فاز ثانویه درد مشاهده گردید($p>۰/۰۵$). پاسخ عصاره در دوزهای ۲۰۰و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری را در فاز اولیه و ثانویه نشان نداد. آزمون فرمالین یک مدل معتبر و قابل اعتماد ضد درد است که حساسیت مناسب را برای اثرات ضد درد بسیاری از گروههای دارویی دارا می‌باشد. در این آزمون یک پاسخ دو فازی مشخص مشاهده می‌شود. پیشنهاد بر آن است که ماده P و برادی کینین در بروز پاسخ در فاز اولیه، و هیستامین، سروتونین، پروستاگلاندین و برادی کینین در فاز ثانویه درگیر می‌باشند. لذا این آزمون می‌تواند برای روشن شدن مکانیسم احتمالی اثر ضد دردی یک ضد درد مشخص بکار رود(۱۸). داروهایی مانند اپیوئیدها که به صورت مرکزی عمل می‌کنند هر دو فاز را مهار نموده در حالیکه داروهایی که به صورت محیطی عمل می‌کنند، مانند ایندومتاسین و دگزامتازون، تنها فاز تأخیری را مهار می‌نمایند.

بنظر می‌رسد فاز تأخیری یک 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، احتمالا 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 چای کارکرده اند نیزاین احتمال داده شده است(۲۰و۶).

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 ۱۵۰mg/kg–۲۵ عملکرد مهاری مشخصی را در طی مدت سه ساعت نشان داد که در واقع فاز آزاد شدن پروستاگلاندین است(۱۳). بنابراین، بنظر می رسد که عصاره در هر دونوع درد حادومزمن موثر باشد(۵و۶).

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($p<۰/۰۰۱$). مرفین (۱۰mg/kg) نیز که بعنوان شاهد مثبت استفاده شد اثر ضد دردی مشخصی را در مقایسه با گروه شاهد نشان داد($p<۰/۰۰۱$). آزمون صفحه داغ یک آزمون انتخابی برای ترکیبات شبه اپیوئیدی است، اما سایر داروهایی که به صورت

Archive of SID

www.SID.ir

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 سریع‌الاثر را 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 دوزهای۲۵ ($p<۰/۰۵$)،۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($p<۰/۰۰۱$) 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 پروستاگلاندین 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 پروستاگلاندین 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 (۱و۲). براساس آزمون‌های بکار رفته در این پژوهش برای مطالعه اثر ضد دردی 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، 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 می توان نتیجه گرفت اثر ضد دردی حاصله ناشی از شلی عضلانی حیوان نمی باشد. ضمنا دوزهای مؤثر ضد درد و ضد التهاب به میزان قابل توجهی کمتر از LD_{50} محاسبه شده بودند.

در پایان، با توجه به آزمونهای فارماکولوژیک مرسوم، اثرات ضد درد و ضد التهاب عصاره هایپریکوم پرفوراتوم ایران قابل اثبات است. لذا این نتایج برخی از کاربردهای این گیاه را در طب سنتی، تأئید 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, Pouligon M, Henriot AC. Pharmacological activity of three commercial hypericum perforatum preparations in mice. Phytother Res 2006; 20(8): 653-4.

Archive of SID

www.SID.ir

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.

Archive of SID

www.SID.ir

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

Archive of SID

www.SID.ir