«مقاله‌ی اصیل»

مطالعه‌ی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه شاتره (*Fumaria Parviflora*) بر التهاب ناشی از کاراژینان در پنجه‌ی پای موش صحرایی نر

اردشیر ارضی[1*]، زهرا نظری[2]، سید وحید احمدی سالیانه[3]

۱- استاد، گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده‌ی داروسازی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
تلفن و پست الکترونیک: ۰۹۱۶۳۱۹۰۵۰۸
arzi_ardeshir@yahoo.com

۲-مربی گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز،ایران.
تلفن و پست الکترونیک: ۰۹۱۶۱۱۱۸۱۰۸
znazarikh@yahoo.com

۳-دانشجوی داروسازی، دانشکده‌ی داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، ایران.
تلفن و پست الکترونیک: ۰۹۱۶۶۶۰۷۲۲۴
vahid6150@yahoo.com com

* نویسنده‌ی مسؤول:
اردشیر ارضی؛ ایران، اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، دانشکده‌ی داروسازی گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی.
تلفن: ۰۹۱۶۳۱۹۰۵۰۸
Email:arzi_ardeshir@yahoo.com

چکیده

زمینه: با توجه به وجود ترکیباتی با اثرات ضد التهابی مانند اسید فوماریک، فلاونوئیدهای فومارین و ترکیبات فنلی در گیاه شاتره و سابقه‌ی کاربری آنها برای بیماری‌های پوستی، اگزما و رفع خارش، در این مطالعه اثر ضد التهابی شاتره مورد بررسی قرار گرفت.

روش: از موش‌های صحرایی نر *ویستار* در محدوده‌ی وزنی ۱۵۰-۱۸۰ گرم استفاده شد. برای تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی، پودر خشک گیاه در اتانول ۷۰٪ خیسانده و عصاره‌ی حاصل تغلیظ شد. موش‌ها در هفت گروه ده‌تایی تقسیم شدند. پنج گروه درمانی، دوزهای۲۰۰، ۴۰۰،۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰mg/kg از عصاره‌ی شاتره، کنترل مثبت دوز ۳۰۰mg/kg آسپیرین و کنترل منفی دوز ۵ mL/kg سرم فیزیولوژی را از طریق تزریق صفاقی دریافت نمودند. نیم ساعت بعد به کف پنجه‌ی پای موش‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر کاراژینان ۱ درصد از طریق زیر جلدی تزریق و سپس حجم پنجه‌ی پای موش‌ها، در طی پنج ساعت، هر ساعت یک‌بار، با دستگاه *Plethysmometer* اندازه‌گیری و درصد تغییرات محاسبه شد.

نتایج: دوزهای۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg از عصاره، تأثیر کمتری در کاهش ادم داشتند. اما گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دوزهای ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰mg/kg عصاره، در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی آسپیرین، کاهش ادم بیشتری را نشان دادند، ولی به لحاظ آماری این اختلاف معنادار ($p<0/05$) نبود.

نتیجه‌گیری: دوزهای ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰mg/kg از عصاره و آسپیرین (۳۰۰mg/kg) توانستند به‌طور معناداری در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی سرم فیزیولوژی، موجب کاهش ادم پنجه‌ی پا شوند. دوز ۸۰۰mg/kg از عصاره به علت اثرات جانبی احتمالی کمتر، مطلوب‌ترین دوز شناخته شد. با بررسی در زمینه‌ی سمیت این عصاره، از آن می‌توان برای کاهش مقدار دریافتی داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی سود جست.

واژگان کلیدی: شاتره، التهاب، کاراژینان، آسپیرین

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۲ **تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۲۷**

زمینه

امروزه التهاب حاد و مزمن یکی از مهم‌ترین مسایل در زمینه‌ی سلامت به شمار می‌روند. اگرچه داروهای فراوانی برای درمان بیماری‌های التهابی وجود دارد، ولی استفاده‌ی طولانی‌مدت از آنها اغلب باعث مشکلات گوارشی، سرکوب مغز استخوان و احتباس آب و نمک می‌شود. بنابراین نیاز به یافتن و توسعه‌ی داروهای جدیدی است که عوارض کمتری داشته باشند (۱).

انواعی از میکروب‌ها شامل باکتری‌ها، مایکوپلاسماها و ویروس‌ها در ایجاد خود ایمنی دخیل دانسته شده‌اند. میکروب‌ها به چند طریق آغازگر واکنش‌های خود ایمنی هستند. عفونت‌های میکروبی با نکروز نسجی و التهاب حاصل از آنها می‌توانند زمینه‌ی عرضه‌ی بیشتر ملکول‌های کمک تحریکی بر روی سلول‌های ارائه‌دهنده‌ی آنتی‌ژن (*Antigen presenting cell*) که در حال استراحت در بافت‌ها هستند، را فراهم آورند، لذا سبب ایجاد ناکارایی در آنرژی (کاهش و یا فقدان پاسخ سیستم ایمنی به آنتی-ژن) سلول‌های T می‌گردد. پاسخ التهابی موضعی سبب تسهیل در عرضه‌ی آنتی‌ژن‌های مخفی‌مانده و بالطبع موجب القای گسترش اپی‌توپی می‌شود.

در ایران هفت‌گونه گیاه علفی یک‌ساله از جنس *Fumaria .L* وجود دارد (۲).

گونه‌ی دارویی شاتره *Fumaria Officinalis* است که در ایران موجود نمی‌باشد و گونه‌ای از آن که در طب سنتی استفاده می‌شود و خواص درمانی مشابهی با گونه‌ی دارویی آن دارد *Fumaria Parviflora* می‌باشد. این گیاه با نام شاتره یا شاه‌تره‌ی گلریز و نام عمومی *Fumirity* دارای اثرات درمانی از جمله: خلط‌آور، مدر، معرق، مقوی معده، تصفیه کننده‌ی خون، اشتها آور و مؤثر در درمان بیماری‌های پوستی می‌باشد (۳).

از مهم‌ترین مواد مؤثر این گیاه می‌توان از آلکالوییدهای آن (فومارین، پروتروپین، آدلومیدیسئین، پارفیومین، فوماریلین، کریپتوپین، استیلوپین، ۸-اکسوکوپتیسین، سانگوئینارین، کریپتوکاوین، اسکولرین و تترا هیدرو کوپتیسین و مقدار اندکی از آلکالوییدهای دیگر)، املاح پتاسیم، اسید فوماریک، فومارامیدین، فوماریسین، فوماریفلورین، پارفومین و بیکوکولین را نام برد (٤، ٥)

لمان (*Lehman*) و همکارانش در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که دی‌متیل‌فومارات (*DMF*) به‌عنوان جزء فعال استرهای فوماریک اسید (*FAE*) عمل می‌کند و به طور نسبی فعالیت تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی خود را از طریق القای پروتئین‌های همواکسیژناز (*HO-1*) انجام می‌دهد (۶).

در مطالعه‌ای که توسط لتمیر (*ltemeyer*) و همکارانش در سال ۱۹۹۴ تحت عنوان اثرات ضد سوریازیس مشتقات فوماریک‌اسید صورت گرفت به این نتیجه رسیدند که فوماریک‌اسید و مشتقاتش ترکیباتی مؤثر و سالم در درمان سوریازیس می‌باشند (۷).

ویلمز (*Wilms*) و همکارانش در مطالعه‌ای که به صورت برون تن انجام دادند به این نتیجه رسیدند که پیش‌درمانی با دی‌متیل فومارات سنتز واسطه‌های پیش-التهابی مثل نیتریک اکساید، عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا (*TNF-alpha*)، اینترلوکین بتا (*IL-beta*) و اینترلوکین-۶ (*IL-6*) را کاهش می‌دهد و این نتیجه‌گیری حاصل شد که اثر محافظت عصبی (*neuroprotective*) دی‌متیل فومارات (*DMF*) ممکن است که مربوط به توانایی آن در مهار بیان مدیاتورهای چندگانه‌ی التهابی اعصاب در مغز بیماران مبتلا به *MS* باشد (۸).

اسکایلینگ (*Schilling*) و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که استرهای فوماریک دارای اثرات درمانی خاصی در طول دوره‌ی بیماری انسفالومیلیت هستند و شواهد بافت‌شناسی قویاً کاهش اینفیلتراسیون ماکروفاژها را در طناب نخاعی نشان داده است (۹).

قسمت‌های هوایی شاتره به‌عنوان مدر، ملین، تصفیه-کننده‌ی خون، محافظت‌کننده از کبد و درمان‌کننده‌ی اگزما و آکنه شناخته شده‌اند (۱۰).

در مطالعه‌ی حاضر، اثر عصاره‌ی هیدروالکلی اندام-های هوایی شاتره بر التهاب ناشی از کاراژینان مورد بررسی قرار گرفت تا در صورت اثبات چنین اثری، این خود مقدمه‌ای جهت مطالعات بعدی بر روی مدل‌های مختلف حیوانی باشد و در نهایت، طبق ضوابط و قوانین خاص روی مدل انسانی برای کاربرد آتی آن به‌عنوان یک داروی ضد التهاب استفاده شود.

روش

مطالعه‌ی حاضر از نوع بنیادی- کاربردی است. در این روش هفتاد سر موش صحرایی نر از گونه‌ی *ویستار* در محدوده‌ی وزنی ۱۵۰-۱۸۰ گرم از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز تهیه گردید.

حیوانات در ضمن مطالعه از آب و غذای سالم و کافی برخوردار بوده و در فضای تمیز و شرایط مورد قبول نگهداری شده و جهت مطالعه روی آنها از روش استاندارد استفاده شده است. بر این اساس، مطالعه با مشکلی از نقطه‌نظر اخلاق پزشکی مواجه نشد.

مدل ادم القا شده با کاراژینان به طور گسترده برای بررسی پروسه‌های التهابی و همچنین غربال عوامل ضد التهابی استفاده می‌گردد (۱۱). پس از تهیه‌ی گیاه شاتره از استان لرستان و تأیید آن توسط گروه فارماکوگنوزی دانشکده‌ی داروسازی اهواز، آن را خشک کرده و جهت عصاره‌گیری از روش خیساندن استفاده شد. به این ترتیب که همه‌ی اندام‌های گیاه، پس از خشک شدن توسط آسیاب برقی خرد و مقدار ۳۰۰ گرم از گیاه در یک بشر وارد و به آن اتانول ۷۰ درجه اضافه شد به‌طوری که اتانول تا ۲ سانتی‌متر بالاتر از سطح تکه‌های گیاه را پوشاند و محتویات بشر کاملاً در اتانول غوطه‌ور شدند. در پایان کار، درب ظرف با کاغذ آلومینیومی مسدود و به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شد. در طی مدت خیساندن، ظروف حاوی عصاره روزی سه‌بار به‌خوبی هم زده شد. بعد از ۷۲ ساعت، عصاره پس از تفاله‌گیری در ظرفی جمع‌آوری شد. سپس تفاله‌ها مجدداً با الکل ۷۰ درجه شست‌وشو داده شد و به عصاره‌ی قبلی اضافه شد. عصاره‌ی به‌دست‌آمده ابتدا توسط پنبه و سپس به کمک کاغذ صافی واتمن صاف و سپس به کمک دستگاه تقطیر در خلأ تغلیظ شد. سپس، عصاره‌ی تغلیظ‌شده درون شیشه‌ی ساعت ریخته و در آون ۳۰-۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد تا خشک شود (۱۲).

ماده‌ی خشک به‌دست‌آمده در مورد گیاه شاتره به رنگ قهوه‌ای روشن بود که ۳۰ گرم وزن داشت، عصاره‌ی خشک استخراج‌شده را در یک ظرف شیشه‌ای در بسته مناسب ریخته و در یخچال نگهداری شد.

در مطالعه‌ای که بر روی سمیت مزمن استفاده از *Fumaria Indica* (که شامل *Parviflora Fumaria* نیز می‌باشد) صورت گرفت، عدم سمیت این گیاه از لحاظ یافته‌های خونی و بیوشیمیایی به اثبات رسید (۱۳). از طرفی، در تجویز خوراکی عصاره‌ی شاتره، از دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg و به‌مدت ۳۰ روز متوالی استفاده شده است (۱۴). بنابراین با حصول اطمینان از عدم سمیت عصاره‌ی گیاه شاتره در دوزهای متعارف، در مطالعه‌ی حاضر ما از دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه شاتره، برای تزریق داخل صفاقی استفاده کردیم.

برای آماده‌سازی دوزهای ذکرشده به این ترتیب عمل کردیم: وزن پودر لازم به ازای یک کیلوگرم وزن حیوان را در ۵ میلی‌لیتر نرمال‌سالین حل کردیم (به‌عنوان مثال، برای گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ mg/kg، ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره را در ۵ میلی‌لیتر نرمال‌سالین حل کردیم)؛ سپس توسط سرنگ انسولین، به ازای هر ۲ گرم از وزن حیوان یک واحد از عصاره‌ی تهیه‌شده را تزریق کردیم. حجم پنجه‌ی

پای موش‌ها (قبل از تزریق کاراژینان) به‌وسیله‌ی دستگاه *plethysmometer* مدل ۷۱۴۰ اندازه‌گیری و به‌عنوان زمان صفر در نظر گرفته شد. گروه‌های تحت آزمایش، در ۷ گروه ۱۰ تایی، دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه شاتره (۵ گروه درمانی)، مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آسپیرین (گروه کنترل مثبت) و حجم معادل ۵ میلی‌لیتر به ازای ۱۰۰۰ گرم وزن حیوان نرمال‌سالین (گروه کنترل منفی) را از طریق داخل صفاتی دریافت نمودند.

بعد از نیم ساعت به کف پنجه پای هر موش در گروه‌های مختلف مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول یک درصد کاراژینان از طریق زیر جلدی تزریق شد. سپس حجم پنجه پا، هر ساعت یک بار و به مدت ۵ ساعت متوالی با استفاده از دستگاه *Plethysmometer* اندازه‌گیری شد. تغییر حجم پنجه ی پا با استفاده از معادله‌ی زیر محاسبه شد (۱۱).

$$\textbf{\% Relative Paw Edema} = \frac{V_2 - V_1}{V_1} \times 100$$

حجم پنجه‌ی پای موش صحرایی قبل از تزریق کاراژینان (زمان صفر) = V_1

حجم پنجه‌ی پای موش صحرایی در ساعت‌های اول تا پنجم بعد از تزریق کاراژینان = V_2

برای مقایسه‌ی اثر ضد التهابی ترکیبات از آزمون مدل خطی *General linear) model*)، طرح اندازه‌گیری مکرر (*Repeated measure design*) و متعاقب آن آزمون آنالیز-واریانس (*ANOVA*) و آزمون کمکی توکی استفاده شد.

نتایج

پس از انجام مطالعه به روش ذکرشده در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰mg/kg عصاره‌ی گیاه شاتره و مقایسه‌ی آن با گروه دریافت‌کننده‌ی آسپیرین (کنترل مثبت) در دوز ۳۰۰mg/kg و گروه دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین (کنترل منفی) در دوز ۵ml/kg ، نتایج مطالعه به شرح زیر می‌باشد:

مقایسه‌ی اثر ضد التهابی گروه دریافت‌کننده‌ی دوز ۲۰۰mg/kg در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین(۵ml/kg) در ساعت‌های اول، دوم، چهارم و پنجم، اختلاف معناداری (p<۰/۰۵) را نشان داد. نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که اثر ضد التهابی عصاره‌ی گیاه شاتره در تمام گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دوزهای ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰mg/kg در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین (۵ml/kg) در ساعت‌های اول، دوم، سوم، چهارم و پنجم دارای اختلاف معناداری (p<۰/۰۵) بودند و اثر ضد التهابی بیشتری مشاهده شد.

مقایسه‌ی اثر ضد التهابی گروه دریافت‌کننده‌ی آسپیرین (کنترل مثبت) در دوز ۳۰۰mg/kg با گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دوزهای مختلف عصاره‌ی گیاه شاتره نشان داد که گروه‌های دریافت‌کننده‌ی آسپرین نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg در تمام ساعات مطالعه دارای اختلاف معناداری (p<۰/۰۵) است و اثر ضد التهابی بیشتری را نشان داده است. مقایسه‌ی گروه دریافت‌کننده‌ی آسپیرین (دوز۳۰۰mg/kg) با گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی شاتره با دوز ۶۰۰mg/kg به جز در ساعت دوم تزریق که آسپیرین به‌طور معناداری (p<۰/۰۵) اثر بیشتری را در کاهش ادم نشان داد، در هیچ‌یک از ساعات مطالعه اختلاف معناداری را نشان نداد. مقایسه‌ی گروه دریافت-کننده‌ی آسپیرین (دوز۳۰۰mg/kg) با گروه‌های دریافت-کننده‌ی عصاره در دوزهای ۸۰۰ و ۱۰۰۰mg/kg اثر کمتری را در کاهش التهاب نشان داد، ولی این اختلاف در هیچ‌یک از ساعات مطالعه معنادار نبود (p>۰/۰۵).

مقایسه‌ی اثر ضد التهابی دوزهای متوالی به شرح زیر می‌باشد:

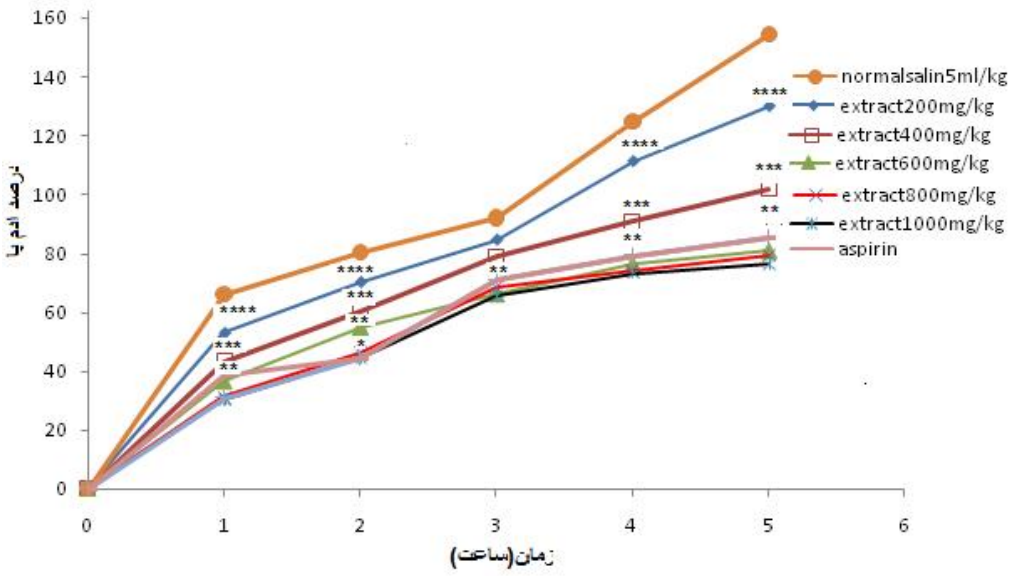
مقایسه‌ی گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی شاتره در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg در تمام ساعات مطالعه به جز ساعت سوم اختلاف معناداری (p<۰/۰۵) را نشان

داده است و اثر ضد التهابی دوز ۴۰۰mg/kg بیشتر از دوز ۲۰۰mg/kg مشاهده شد.

مقایسه‌ی گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گیاه شاتره در دوز ۶۰۰mg/kg با گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی شاتره در دوز ۴۰۰mg/kg در تمام ساعت‌های مطالعه به‌طور معناداری بیشتر دیده شد (p<۰/۰۵).

گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی گیاه شاتره در دوز ۸۰۰mg/kg فقط در ساعت دوم به‌صورت معناداری (p<۰/۰۵) دارای اثر ضد التهابی بیشتری نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی شاتره با دوز ۶۰۰mg/kg بوده است. همین اختلاف معنادار باعث شد که ما برای حصول اطمینان از حداکثر اثر ضد التهابی عصاره‌ی گیاه شاتره، دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را نیز مورد مطالعه قرار دهیم.

مقایسه‌ی گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی شاتره در دوز ۸۰۰mg/kg و ۱۰۰۰mg/kg در هیچ‌یک از ساعت-های مطالعه اختلاف معناداری (p<۰/۰۵) را نشان نداد.



نمودار ۱: مقایسه‌ی اثر ضد التهابی دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ mg/kg از عصاره، آسپیرین (۳۰۰ mg/kg) و نرمال سالین (۵ml/kg) در کنترل ادم

**** نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنادار (p<۰/۰۵) گروه دریافت‌کننده‌ی نرمال سالین (۵ml/kg) در کنترل ادم، با گروه دریافت‌کننده‌ی دوز ۲۰۰mg/kg از عصاره (در ساعت‌های اول، دوم، چهارم و پنجم)

*** نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنادار (p<۰/۰۵) گروه دریافت‌کننده‌ی دوز ۴۰۰ mg/kg از عصاره در کنترل ادم، با گروه دریافت‌کننده‌ی دوز ۲۰۰mg/kg (در ساعت‌های اول، دوم، چهارم و پنجم)

**نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنادار (p<۰/۰۵) گروه دریافت‌کننده‌ی دوز ۶۰۰ mg/kg از عصاره در کنترل ادم، با گروه دریافت‌کننده‌ی دوز ۴۰۰mg/kg (در ساعت‌های اول، دوم، سوم، چهارم و پنجم)

* نشان‌دهنده اختلاف معنادار (p<۰/۰۵) گروه دریافت‌کننده دوز ۸۰۰mg/kg از عصاره در کنترل ادم، با دوز ۶۰۰mg/kg (صرفاً در ساعت دوم، اختلاف معنادار مشاهده شد)

لازم به ذکر است که گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دوزهای ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ mg/kg از عصاره و آسپیرین (۳۰۰ mg/kg) در هیچ‌یک از ساعات مطالعه، اختلاف معناداری نشان ندادند. به استثنای گروه دریافت‌کننده‌ی دوز ۶۰۰mg/kg که در ساعت دوم مطالعه با سه گروه دیگر دارای اختلاف معنادار است (p<۰/۰۵).

بحث

هیچ‌گونه مرگ و عارضه‌ی جانبی خاصی از عصاره‌های مختلف شاتره در مدت مطالعه مشاهده نشد.

ادم القا شده توسط کاراژینان شامل دو فاز است که ناشی از مدیاتورهای التهابی مختلفی است. در فاز اول (دو ساعت بعد از تزریق کاراژینان) مدیاتورهایی شامل هیستامین و سروتونین دارای نقش هستند. در فاز دوم (۳ تا ۴ ساعت بعد از تزریق کاراژینان) مدیاتورهایی مانند کینین و پروستاگلندین دارای اهمیت هستند. ترکیباتی مانند تری‌ترپن‌ها، آلکالوییدها، فلاونوئیدها و استروئیدها دارای خاصیت ضد التهابی واضح و قدرت پایدارکنندگی غشای ماست سل‌ها می‌باشند (۱۵). در مطالعه‌ی انجام‌گرفته عصاره‌ی گیاه شاتره توانسته است که هر دو فاز التهاب ایجادشده توسط کاراژینان را مهار کند.

شناسایی ترکیبات موجود در شاتره، وجود آلکالوئیدها، فلاونوئیدها واسترهای فوماریک را در آن به اثبات رسانده است که می توان خاصیت ضد التهابی شاتره و کنترل ادم القا شده توسط کاراژینان را مربوط به این ترکیبات دانست (۴).

در مطالعه‌ای که توسط ساوو (*Suau*) و همکارانش انجام گرفت، آلکالوئیدهای ایزوکینولین شامل کریپتوپین، پروتوپین، سیناکتین، ستیلوپین، بیکوکولین، آدلومین، پارفومین، فوماریلین، فوماروفیسین، دی هیدرو فومارین، پارفومیدین و دی هیدرو سنگینارین از گونه‌های مختلف جنس *Fumaria* به روش *GC-MS* جداسازی و شناسایی شد (۱۶). بنابراین توانایی شاتره در کنترل ادم می‌تواند وابسته به وجود این آلکالوئیدها باشد.

در مطالعه‌ای دیگر که بر روی خاصیت ضد التهابی و ضد دردی شاتره صورت گرفت، تجویز خوراکی شاتره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg و به‌صورت تک‌دوز و چنددوزی، توانست التهاب حاد ایجادشده توسط کاراژینان و هیستامین و نیز التهاب مزمن ایجادشده توسط گرانول‌های کتان را کنترل کند. در این مطالعه، عصاره‌ی شاتره توانست به‌صورت وابسته به دوز التهاب حاد ناشی از کاربرد کاراژینان را مهار کند. در ادم القا شده توسط گرانول‌های کتان، دوزهای فوق به‌صورت خوراکی و هر روز یک‌بار به‌مدت ۷ روز به گروه‌های ۶ تایی داده شد. در این حالت نیز ادم به‌صورت وابسته به دوز کنترل شد. در شناسایی ترکیبات موجود در عصاره‌ی اتانولی (۵۰ درصد) شاتره، غلظت کافئیک اسید ۳۹۶ میکروگرم در هر گرم عصاره اندازه‌گیری شد. کافئیک اسید از ترکیبات فنلی موجود در شاتره می‌باشد که دارای خواص ضد التهابی است. از ترکیبات دیگر موجود در شاتره بتا سیتوسترول است که دارای خواص ضد التهابی است (۵).

نتایج مطالعه‌ی ما تأییدکننده‌ی نتایج فوق است؛ چرا که در مطالعه‌ی ما نیز ادم القا شده توسط کاراژینان به‌صورت وابسته به دوز کنترل شد.

در مطالعه‌ای دیگر، اثر شاتره بر روی اگزمای مزمن دست مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، کرم ۴ درصد شاتره به‌مدت ۴ هفته به‌صورت موضعی بر روی ۴۴ بیمار (۳۰ زن و ۱۴ مرد) با میانگین سنی۳۳ سال مورد مطالعه قرار گرفت. در پایان ۴ هفته وسعت و شدت اگزمای بیماران درمان‌شده با شاتره به‌صورت معناداری نسبت به بیماران درمان‌شده با کنترل منفی (پایه‌ی کرم بدون عصاره‌ی گیاه) کاهش یافت. بنابراین نتایج مطالعه‌ی فوق تأییدکننده‌ی مطالعه‌ی ما می‌باشد. گیاه شاتره دارای استرهای فوماریک اسید است. این استرها دارای خاصیت تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی هستند. مونو متیل فومارات فعال‌ترین متابولیت استرهای فوماریک اسید است. اثرات مفید این استرها به‌واسطه‌ی کاهش در تولید سایتوکین نوع ۱ تولیدشده به‌وسیله‌ی لنفوسیت‌های T می‌باشد. سپس کاهش تولید اینترفرن گاما مانع از تمایز سلول‌های دندریتیک می‌شود؛ بنابراین سلول‌های دندریتیک به‌صورت ناقص بالغ می‌شوند. این سلول‌های ناقص می‌توانند به‌وسیله‌ی لیپوپروساکارید بالغ شوند، اما این سلول‌های بالغ‌شده توسط لیپو پلی‌ساکارید، مقدار کمی‌تری از پروتئین‌هایی را که برای برقراری تماس با لنفوسیت‌های

T لازم است ترشح می‌کنند. در نهایت، کاهش تکثیر در لنفوسیت‌های T به‌وسیله‌ی استرهای فوماریک اسید باعث تعدیل سیستم ایمنی و جلوگیری از بروز التهاب می‌شود. استرهای فوماریک اسید دارای اثرات تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی شامل مهار تکثیر لنفوسیت‌های T، مهار سایتوکین‌های پیش‌التهابی گرانولوسیت‌ها و تعدیل در تولید سایتوکین های مربوط به مونوسیت‌ها می‌باشند. دی متیل فومارات به‌عنوان جزء اصلی استرهای فوماریک اسید، تأثیر زیادی در آپوپتوز لنفوسیت‌های T دارد (۱۷). بنابراین با توجه به وجود استرهای فوماریک اسید در گیاه شاتره (۱۶)، مکانیسم‌های فوق می‌توانند در کنترل ادم توسط شاتره دخیل باشند.

مطالعه‌ای توسط حیدری و همکارانش بر روی خاصیت ضد درد شاتره (*Fumaria Parviflora*) انجام گرفت. در این مطالعه، برای القای درد از روش تزریق فرمالین در کف پنجه‌ی پای موش و صفحه‌ی فلزی داغ استفاده شد. عصاره‌ی گیاه به دو روش سوکسله و پرکولاسیون تهیه و در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰mg/kg به‌صورت داخل صفاقی و تک دوز تزریق شد. نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که دوز ۳۰۰mg/kg حاصل از هر دو روش عصاره‌گیری، به‌صورت معناداری توانست درد را کنترل کند. در بررسی سلولی مکانیسم‌های التهاب نوروژنیک، از انتهای نورون‌های حسی موادی آزاد می‌شوند که شامل نوروپپتیدها و ماده‌ی p می‌باشند. این مواد آغازکننده‌های اصلی التهاب هستند. علت مهار درد در فاز مزمن توسط داروهای ضد التهابی این است که این داروها با بلوکه کردن سنتز پروستاگلندی‌ها از درد ناشی از التهاب جلوگیری می‌کنند (۱۸). بنابراین مطالعه‌ی فوق به‌نحوی تعیین‌کننده‌ی اثر ضد التهابی شاتره می‌باشد.

التهاب مزمن باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود که این رادیکال‌ها باعث آسیب و تخریب سلول‌ها و ارگان‌های هدف می‌شوند و در نهایت منجر به بروز بیماری‌های مزمن می‌شوند. از لحاظ مکانیسم عمل، این رادیکال‌ها باعث القای سیگنال‌های ملکولی و فاکتورهای رونویسی مرتبط با بیماری‌های مزمن می‌شوند. بنابراین ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی یک ترکیب می‌تواند با خاصیت ضد التهابی آن مرتبط باشد (۱۹).

در مطالعه‌ای که توسط ایکای (Ilkay) و همکاران بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی ۴ گونه از شاتره از جمله Fumaria Parviflora و به روش *FRAP*، *DPPH* و روش مهار آنزیم زانتین اکسیداز انجام گرفت، این گیاهان دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بودند (۲۰). خاصیت ضد التهاب شاتره می‌تواند مربوط به اثرات آنتی‌اکسیدانتی این گیاه باشد.

مطالعه‌ای توسط آریوموگام (Arumugam) و همکارانش بر روی توانایی نعناع در کنترل ادم القا شده توسط کاراژینان صورت گرفت. در این مطالعه، دیکلوفناک و ایندومتاسین به‌عنوان کنترل مثبت، DMSO و آب دو بار تقطیر به عنوان کنترل منفی و عصاره‌های هگزان، اتیل استات، اتانول ۹۵ درصد و عصاره‌ی آبی نعناع، به‌عنوان گروه درمانی مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که عصاره‌های هگزانی و اتیل استات مربوط به نعناع بیشتر از عصاره‌ی آبی و الکلی این گیاه ادم را کنترل کردند، اما اثر آنها در حد گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دیکلوفناک و ایندومتاسین نبود (۲۱).

به‌طور کلی، عصاره‌ی هیدروالکلی قسمت‌های هوایی گیاه شاتره دارای اثر ضد التهاب وابسته به دوز بود. از آنجا که مقایسه‌ی گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دوز ۶۰۰ و ۸۰۰mg/kg در ساعت دوم، اختلاف معناداری را نشان داد، دوز ۱۰۰۰mg/kg نیز برای به‌دست آوردن حداکثر اثر ضد التهابی ممکن مورد بررسی قرارگرفت.

با توجه به آنکه دوز ۲۰۰ و ۴۰۰mg/kg عصاره‌ی گیاه شاتره در ساعت‌های ۱ تا ۵ پس از تزریق کاراجینان نتوانست ادم را در حد مطلوب کاهش دهد، به‌نظر می‌رسد که دوز ۱۰۰mg/kg عصاره نمی‌تواند مؤثر باشد.

بهترین اثر ضد التهابی، در کاربرد دوزهای ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰mg/kg عصاره‌ی گیاه شاتره مشاهده شد، ولی با توجه به اینکه تفاوت معناداری بین دوز ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰mg/kg وجود نداشت (به استثنای ساعت دوم که مطابق نمودار قبل، گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دوزهای ۸۰۰ و ۱۰۰۰mg/kg دارای اختلاف معناداری با گروه دریافت‌کننده‌ی دوز ۶۰۰mg/kg بوده است) و به‌دلیل احتمال کمتر بروز اثرات جانبی، دوز ۸۰۰mg/kg عصاره نسبت به دوز ۱۰۰۰mg/kg، مطلوب‌ترین دوز شناخته شد.

با توجه به اینکه آسپیرین یک مهارکننده‌ی غیر انتخابی تولید پروستاگلاندین می‌باشد و از طرف دیگر این میانجی، از میانجی‌های اصلی در کنترل ادم القا شده توسط کاراژینان در فاز دوم می‌باشد، عدم وجود اختلاف معنادار بین دو گروه دریافت‌کننده‌ی آسپیرین و دوز ۸۰۰ mg/kg ، می‌تواند نشان‌دهنده‌ی تأثیر احتمالی عصاره بر سنتز پروستاگلاندین باشد.

شناسایی و آشکارسازی ترکیبات فعال موجود در این گیاه ممکن است منجر به پیدایش ترکیبات مفیدی شود که با توسعه و تغییر آنها، داروهای مفیدی برای کنترل التهاب ایجاد شود.

این مقاله از پایان‌نامه‌ی آقای سید وحید احمدی سالیانه، فارغ‌التحصیل دکترای حرفه‌ای داروسازی استخراج گردیده است که به‌عنوان طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه در مرکز تحقیقات فیزیولوژی با کد PRC-۹۴ تصویب و در دانشکده‌ی داروسازی اجرا شد. بدین‌وسیله از مرکز تحقیقات فیزیولوژی و دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز صمیمانه سپاسگزاری می‌شود. در ضمن از زحمات سرکار خانم دکتر ندا سیستانی کرم پور دانشجوی PhDفارماکولوژی جهت همکاری در تصحیح نسخه نهایی مقاله قدردانی می‌شود.

References

1-Sharma S, Lakshmi KS, Patidar A, Chaudhary A, Dhaker S. Studies on anti-inflammatory effect of aqueous extract of leaves of Holoptelea integrifolia, Planch. in rats. Indian Jornal of Pharmacology 2009;41(2):87–8.
2-Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 11th ed. Philadelphia: Elsevier; 2006:429-39.
3-Keshavarzi M, Habibi Tirtash F, Ebrahimzadeh F, Sheidaii M. Comparative anatomy of the Fumaria (Papaveraceae) species in Iran. Phytologia Balcanica 2011;17(1):79-87.
4- Zargari A. [Medicinal plants]. Tehran: Tehran University Press. p ۱۶۶-۷۲ . [In Persian]
5-Suau R, Cabezudo B, Rico R, Nájera F, López-Romero JM. Direct determination of alkaloid contents in Fumaria species by GC-MS. Phytochem Analysis 2002;13(6):363-7.
6-Popova ME, Simánek V, Dolejs L, Smysl B, Preininger V. Alkaloids from Fumaria parviflora and F. kralikii. Planta Med 1982;45(2):120-2.
7-Lehmann JC, Listopad JJ, Rentzsch CU, Igney FH, von Bonin A, Hennekes HH, et al. Dimethylfumarate induces immunosuppression via glutathione depletion and subsequent induction of heme oxygenase 1. J Invest Dermatol 2007;127(4):835-45.
8-Altmeyer PJ, Matthes U, Pawlak F, Hoffmann K, Frosch PJ, Ruppert P, et al. Antipsoriatic effect of fumaric acid derivatives. Results of a multicenter double-blind study in 100 patients. J Am Acad Dermatol 1994;30(6):977-81.
9-Wilms H, Sievers J, Rickert U, Rostami-Yazdi M, Mrowietz U, Lucius R. Dimethylfumarate inhibits microglial and astrocytic inflammation by suppressing the synthesis of nitric oxide, IL-1beta, TNF-alpha and IL-6 in an in-vitro model of brain inflammation. J Neuroinflammation 2010;7:30.
10-Schilling S, Goelz S, Linker R, Luehder F, Gold R. Fumaric acid esters are effective in chronic experimental autoimmune encephalomyelitis and suppress macrophage infiltration. Clin Exp Immunol 2006;145(1):101-7.
11-Lin H, Ah Kioon MD, Lalou C, Larghero J, Launay JM, Khatib AM, et al. Protective role of systemic Furin in immune response-induced arthritis. Arthritis Rheum 2012;64(9):2878-86
12-Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiiflammatory drugs. Proc Soc Exp Biol Med 1962;111:544-7.
13-Singh J. Maceration, percolation and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants. In: Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD, editors. Extraction Technologies for medicinal and aromatic plants. Trieste: International Centre for Science and High Tecnology; 2008. p. 68-82.

14- Singh GK, Chauhan SK, Rai G, Kumar V. Fumaria indica is safe during chronic toxicity and cytotoxicity: A preclinical study. J Pharmacol Pharmacother 2011;2(3):191-2.
15-Tajik J, Nazifi S, Poorzal F. The effects of long-term use of fumaria parviflora extract on some serum biochemical parameters of rats. J Pharmacol Toxicol 2011;6(8):710-4.
16-Martens HA, Nienhuis HL, Gross S, van der Steege G, Brouwer E, Berden JH, et al. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) polymorphisms are associated with systemic lupus erythematosus and disease severity in lupus nephritis. Lupus 2012;21(9):959-68.
17-Abad S, Badelon I, Le Toumelin P, Warzocha U, Gambier N, Larroche C, et al. [Management of orbital inflammation in internal medicine: a retrospective case series of 29 patients]. Rev Med Interne 2012;33(2):69-75. [In French]
18-Jowkar F, Jamshidzadeh A, Mirzadeh Yazdi A, Pasalar M. The effects of fumaria parviflora L extract on chronic hand eczema: a randomized double-blind placebo controlled clinical trial. Iran Red Crescent Med J 2011;13(11):824-8
19-Heidari M, Mandgary A, Enayati M. Antinociceptive and toxicity of Fumaria Parviflora lam. In mice and rats. Daru 2004;12(4):136-40.
20-Prasad S, Sung B, Aggarwal BB. Age-associated chronic diseases require age-old medicine: role of chronic inflammation. Prev Med 2012;54:S29-37.
21-Orhan IE, Sener B, Musharraf SG. Antioxidant and hepatoprotective activity appraisal of four selected Fumaria species and their total phenol and flavonoid quantities. Exp Toxicol Pathol 2012:205-9.
22-Arumugam P, Priya NG, Subathra M, Ramesh A. Anti-inflammatory activity of four solvent fractions of ethanol extract of Mentha spicata L. investigated on acute and chronic inflammation induced rats. Environ Toxicol Pharmacol 2008;26(1):92-5.

«Original Article»

Effect of Fumaria Parviflora hydro alcoholic extract on induced carageenan inflammation in male rat paw

Ardeshir Arzi [1], Zahra Nazari [2], Seied Vahid Ahmadi Salianeh[3]*

1-Professor, Department of Pharmacology and Toxicoligy,School of Pharmacy, Physiology Research Center,Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

2-Instructor, Department of Pharmacology and Toxicoligy,School of Pharmacy,Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

3-Student of Pharmacy,School of Pharmacy, Student Reserch Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

**Corresponding Author:*
Ardeshir Arzi; Department of Pharmacology and Toxicoligy,School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel: 09163190508
E-mail: arzi_ardeshir@vahoo.com

Abstract

Background This study investigated the anti-inflammatory effect of Fumaria Parviflora due to its Fumaric acid, flavonoid and phenolic compounds for skin diseases, relieves itching and eczema.

Methods: Male wistar rats (ranging 150-180g in weight) were used. For preparation of the hydro alcoholic extract, Plant powdered were macerated in ethanol 70%, then extract were concentrated for further use. Five treatment Animal groups received dose of 200, 400, 600, 800 or 1000 mg/kg of Fumaria Parviflora extract, Positive control group received a dose of 300 mg/kg aspirin and negative control group received serum physiology solution with dose of 5 ml/kg via intra-peritoneal injection of traits. After half an hour, 100 micro liters of carageenan 1%was subcutaneously injected into the rat's paw and then the volume of the rat's paws were evaluated using PLethysmometer apparatus.once every hours between the first and fifth hours

Results: 200 and 400 mg/kg doses of extract had less effect on decreasing the paw's edema in comparison with animal group received aspirin ($p<0.05$). However, dose of 600, 800 and 1000 mg/kg of the extract had more effects on decreasing the paw's edema, but difference between two groups is not statistically significant ($p>0.05$).

Conclusion: Fumaria parviflora hydro alcoholic extracts with doses of 600, 800 and 1000 mg/kg and aspirin (300 mg/kg) significantly decreased the paw's edema in the subject field rats compared to group received 5ml/kg of Serum physiology solution. Moreover, as the fewer side effects are to be expected for lower dose of ^00 mg/kg; the most appropriated dose was selected for this extract. Using complimentary examinations in toxicity of this extract it could be used to decrease the inordinate intake of NSAIDs.

Keywords: Fumaria Parviflora, inflammation, carageenan, aspirin.

►*Please cite this paper as:*
Arzi A, Nazari Z, Ahmadi Salianeh SV. Study of the effect of hydro alcoholic extract of Fumaria Parviflora on carageenan induced inflammation in male rat paw.Jentashapir 2013;4(2):121-130

Received: 11.06.2012 **Accepted: 17.09.2012**