

تأثیر تجویز عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* بر کاهش هیپرآلژزی و خیز در مرحله حاد مدل حیوانی آرتریت ناشی از ادجوانت

علی محمد خانی‌زاده^۱ (M.Sc.)، جلال زرین‌قلم^{۱*} (Ph.D.)، علی سنبلی^۲ (Ph.D.)، مهدی ایاری^۲ (Ph.D.)، هما مناهجی^۱ (Ph.D.)

۱- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه فیزیولوژی

۲- دانشگاه شهید بهشتی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی

چکیده

سابقه و هدف: علائم التهابی نظیر خیز و هیپرآلژزی به وسیله‌ی میانجی‌های التهابی، که در پاسخ به عوامل محرک آزاد می‌شوند، ایجاد می‌گردند. اخیراً استفاده از گیاهان دارویی جهت بهبود علائم التهابی مورد توجه محققین قرار گرفته است هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تجویز عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* بر کاهش هیپرآلژزی و خیز در مرحله حاد مدل حیوانی آرتریت ناشی از ادجوانت می‌باشد. مواد و روش‌ها: التهاب حاد در روز صفر با تزریق کف پای ۱۰۰ میکرولیتر CFA در موش صحرایی ایجاد شد. عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه به صورت روزانه تا ۷ روز پس از تزریق CFA با دوزهای ۲۵، ۵۰، و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم تجویز گردید. بررسی روند هیپرآلژزی و تغییرات حجم پا در روزهای صفر، ۳ و ۷ انجام شد. یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد تجویز عصاره‌ی قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* با دوز ۵۰ mg/kg باعث کاهش معنی‌دار خیز و هیپرآلژزی در روزهای ۳ و ۷ نسبت به روز صفر و نیز گروه کنترل منفی و مثبت (دریافت کننده دوز ۵ mg/kg ایندومتاسین) شد ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: از نتایج این مطالعه می‌توان استنباط کرد که تجویز عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* باعث کاهش وابسته به دوز هیپرآلژزی و خیز طی التهاب حاد ناشی از تزریق CFA می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: عصاره گیاهی، *Salvia Candidissima*، هیپرآلژزی، خیز

مقدمه

التهاب پاسخ فیزیولوژیک بدن به آسیب‌های بافتی ناشی از عوامل شیمیایی، میکروارگانیسم‌ها، تروما، اجسام خارجی و غیره می‌باشد، که با علائمی مثل درد، قرمزی، گرما و خیز در ناحیه آسیب مشخص می‌گردد. درد ناشی از التهاب می‌تواند با فشار ناشی از خیز و تحریک عوامل مختلف آزاد شده از

سلول‌ها ایجاد شود. التهاب و علائم آن نتیجه افزایش سریع ترشح میانجی‌های التهابی شامل کموکاین و سیتوکین‌هایی مانند TNF- α و IL-6 و IL-1 β می‌شود [۱].

آرتریت روماتوئید یک بیماری التهابی مزمن، سیستمیک است که اتیولوژی آن نامشخص می‌باشد. این بیماری توام با سفتی مفاصل، درد و خیز می‌باشد. سیتوکاین‌های التهابی نقش

هستند. آن‌ها اثرات بازدارندگی مشخصی بر روی فعالیت آنزیم‌های مختلف مثل فسفولیپاز A₂، پروتئین کیناز C و فسفودی استراز دارند که از عوامل مهم دخیل در ایجاد علائم التهابی در نظر گرفته می‌شوند [۱۴]. بنابراین و با توجه به ناکامی و عوارض متعدد داروهای شیمیایی در کاهش علائم این بیماری از یک سو و نیز مطالعات مختلف، که نشان‌دهنده خصوصیات ضد التهابی گونه‌های دیگر گیاه *Salvia* است اقدام به بررسی تاثیر تجویز عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* بر کاهش هیپرآلرژی و خیز در فاز حاد مدل التهاب حیوانی آرتریته ناشی از ادجوانت نمودیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی. مطالعه بر روی موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar که در هر گروه ۶ سر موش قرار داشت انجام شد. موش‌ها در شرایط استاندارد آب، غذا و نور (با سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در دمای تقریباً ثابت (۲۲±۲°C) نگهداری شده و به استثنای زمان آزمایش به غذا و آب دسترسی داشتند. موش‌ها در روز آزمایش برای عادت کردن به محیط آزمایشگاه، حداقل نیم ساعت قبل از شروع آزمایش در محیط آزمایشگاه قرار می‌گرفتند [۱۵].

ایجاد التهاب. التهاب ناشی از ادجوانت کامل فروند به طور معمول برای ایجاد مدل‌های حاد و مزمن التهاب در حیوانات آزمایشگاهی و مطالعه اثرات داروهای مختلف بر روند التهاب و علائم التهابی استفاده می‌شود. پس از تزریق آن، واکنش التهابی ایجاد شده، در فازهای التهابی (روزهای صفر، سه و هفت) و آرتریته (روزهای ۱۴ و ۲۱) قابل ارزیابی هستند. ایجاد التهاب در روز صفر با تزریق زیر جلدی ۱۰۰ میکرولیتر محلول امولسیونه CFA همراه با ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر در کف پای راست حیوان انجام گرفت.

روند تغییرات حجم پا (خیز) طی ایجاد التهاب به دنبال تزریق CFA و تغییرات آن طی تجویز داخل صفاقی عصاره‌ها و ایندومتاسین در روزهای صفر (قبل از تزریق)، ۳ و ۷ با

مهمی در ایجاد و پیشرفت آرتریته روماتوئید بازی می‌کند [۲].

ادجوانت کامل فروند به طور معمول بر ای ایجاد التهاب در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌شود که دارای دو فاز، شامل: فاز حاد (التهابی) که در برگیرنده‌ی هفته اول پس از تزریق CFA می‌باشد و مطالعات دلیل آنرا افزایش سایتوکاین‌های التهابی مانند α -TNF، IL-6 اشاره کرده‌اند و فاز دوم (فاز آرتریته) که از ابتدای هفته دوم تا انتهای هفته سوم می‌باشد که مطالعات نشان داده که احتمالاً به دلیل بالا ماندن سایتوکاین‌های التهابی و فعال شدن مسیر سلول‌های T می‌باشد [۳].

عدم دسترسی کافی به داروهای سنتتیک و وجود عوارض این داروها موجب گرایش بسیاری از مردم جهان به گیاهان دارویی شده است که تحقیقات بسیاری بر روی گونه‌های ویژه‌ای از گیاهان دارویی که دارای اثرات مناسبی بر روی بسیاری از بیماری‌های التهابی دارد صورت می‌گیرد [۵،۴].

گیاه *Salvia* از خانواده نعناعیان است و در ایران بیش‌تر در نواحی آذربایجان رویش می‌کند، این گیاه دارای حدود ۹۰۰ گونه در دنیا است که ۵۸ نوع آن در ایران وجود داشته که ۱۷ گونه آن نیز اندمیک ایران می‌باشد [۶]. گونه‌های مختلف جنس *Salvia* در طب سنتی برای دردهای معده، اسهال، گلودردهای متورم و سردرد استفاده می‌شود [۷]. مطالعات بیانگر نقش موثر انواع گونه‌های سالویا بر کاهش علائم التهابی از طریق تاثیر بر سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند α -TNF، IL-6 و IL-1 β می‌باشند [۸]. مطالعات نشان داده‌اند که عصاره‌ی متانولی گیاه *Salvia aegyptiaca* خاصیت ضد التهابی قویی داشته و باعث کاهش علائم التهاب ناشی از تزریق فرمالین شده است [۹].

Salvia officinalis دارای اثرات ضد سرطانی، ضد التهابی و اثرات آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد [۱۰، ۱۱، ۱۲]. ترکیب اصلی گونه سالویا شامل انواع اسانس، تانن، تری‌ترپنوئید، دی‌ترین، فلاونوئید، رزین و ساپونین می‌باشد [۱۳]. فلاونوئیدها دارای اثرات مشخص در کاهش علائم التهابی حاد

Candidissima و ایندومتاسین ۵ mg/kg، حجم پا قبل و بعد از تزریق در پای راست در طول دوره‌های متفاوت مطالعه (روز صفر، ۳ و ۷) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری حجم پا به‌وسیله جابه‌جایی محلول الکترولیتی (هادی) موجود در پلتیسومتر نشان داده شد (VA, Italy Coomerio model 7141; Ugo Basile;). به طور خلاصه، موش‌ها طی مطالعه از قفس‌هایشان بیرون آورده شده و به‌وسیله پارچه نرمی نگه داشته می‌شدند. هر پا تا مفصل تیبیوتارسال (Tibiotarsal) در داخل محفظه استوانه‌ای پلتیسومتر که حاوی محلول ۴-۷٪ NaCl می‌باشد فرو برده می‌شد. حجم جابه‌جایی مایع برابر حجم پا است، که به‌وسیله نمایشگر دیجیتالی دستگاه پس از کالیبر شدن نمایش داده می‌شد. جهت دقت بیشتر هر آزمایش دو بار تکرار شده و میانگین محاسبه گردید [۱۶].

بررسی هیپراآلژزی حرارتی. هیپراآلژزی حرارتی با کمک دستگاه Radiant heat با تاباندن اشعه مادون قرمز به‌طور نقطه‌ای از میان سطح پلاکسی‌گلاس به کف پای سالم و آسیب‌دیده حیوان مورد سنجش قرار گرفت. بدین صورت که با شروع تابش نور به کف پای حیوان تایمر دستگاه فعال شده و با پس کشیدن پا از تایمر متوقف شده و مدت زمان واپس کشیدن (Paw Withdrawal latency, PAW) در پاسخ به تحریک حرارتی ناشی از دستگاه ثبت شد. این زمان ثبت شده آستانه تحمل حیوان نسبت به محرک تاییده شده به کف پا بوده و زمان تاخیر در عقب کشیدن پا تا ۰/۱ ثانیه محاسبه می‌گردد. این آزمایش سه بار برای هر دو پا و با فواصل زمانی ۵ تا ۱۰ دقیقه تکرار شد در این آزمایش اگر حیوان پای خود را تا ۲۲ ثانیه بعد از تحریک توسط منبع حرارتی جابه‌جا ننماید، دستگاه را خاموش کرده و همان زمان به‌عنوان PWL در نظر گرفته شد.

تفاضل میانگین زمان‌های PWL پای راست و پای چپ در صورت منفی شدن بیانگر ایجاد هیپراآلژزی در پای راست است [۱۷].

$$H = \frac{(R_{t1} + R_{t2} + R_{t3})}{3} - \frac{(L_{t1} + L_{t2} + L_{t3})}{3}$$

استفاده از دستگاه Plethysmometer مورد بررسی قرار گرفت [۱۵].

جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری. گونه مورد مطالعه از محل رویش آن در استان آذربایجان غربی، ارومیه، جاده سیلوانا جمع‌آوری شد و توسط گروه بیولوژی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی با نام علمی *Salvia Candidissima* به عنوان یک گزارش جدید از این گونه در ایران تعیین نام گردید. اندام هوایی گیاه در زمان گل‌دهی پس از انتقال به آزمایشگاه در سایه خشک گردید و سپس برای عصاره‌گیری آسیاب شدند. کلیه مراحل عصاره‌گیری در پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی انجام شد. برای تهیه عصاره‌ی قطبی ۲۵۰ گرم از پودر گیاه *Salvia Candidissima* به مدت ۷۲ ساعت در معرض متانول ۷۰٪ قرار داده شد و برای تهیه عصاره‌ی غیر قطبی ۵۰۰ گرم از پودر گیاه به مدت ۷۲ ساعت در معرض کلروفرم قرار داده شد. عصاره توسط کاغذ صافی فیلتر و صاف گردید. عصاره صاف شده توسط روتاری در خلاء و دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد از حلال جدا شد. عصاره‌های تغلیظ شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایشات در یخچال نگه‌داری شدند.

عصاره‌های خشک در DMSO حل شده و در نهایت برای تزریق داخل صفاقی مورد استفاده قرار گرفتند. دوز مورد استفاده از این دو عصاره با توجه به مطالعات مربوط به سایر گونه‌های این گیاه ۲۵، ۵۰، و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در نظر گرفته شد [۱۵].

ایندومتاسین با دوز ۵ mg/kg نیز به عنوان داروی استاندارد ضدالتهابی غیراستروئیدی (کنترل مثبت) به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

تزریق عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* و ایندومتاسین ۵ mg/kg از روز یک تا روز ۷ در زمان مشخص (۹-۸ صبح) انجام گردید.

اندازه‌گیری حجم پا با استفاده از دستگاه Plethysmometer برای تایید ایجاد التهاب به‌دنبال تزریق CFA در کف پا و بررسی تاثیر عصاره‌های گیاه *Salvia*

مراحل مختلف مطالعه:

قبل از انجام آزمایش ابتدا موش‌ها را وزن کرده، سپس به مدت نیم ساعت آن‌ها را در محیط آزمایشگاه قرار می‌دهیم تا به محیط جدید عادت کنند. ابتدا تست‌های رفتاری انجام شده و سپس ایجاد التهاب در همان روز از طریق تزریق CFA تحت شرایط بی‌هوشی سبک (به خاطر روغنی بودن محلول در کف پای راست حیوان صورت گرفت).

آنالیز داده‌ها. نتایج به صورت \pm mean SEM گزارش شدند مقایسه داخل گروهی خیز، هیپرالژزی، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA (post hock) one way Tukey's صورت پذیرفت. برای مقایسه دقیق‌تر تغییرات خیز و هیپرالژزی بین گروه‌ها از آزمون unpaired t-test استفاده گردید. نرم‌افزار مورد استفاده Spss19 و رسم نمودارها از طریق Excel انجام شد. $p < 0.05$ به صورت معنی‌دار تلقی گردید.

در این مطالعه از دوزهای ۲۵ mg/kg، ۵۰ و ۱۰۰ عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* در گروه‌های شش تایی استفاده گردید تا تغییرات هیپرالژزی و خیز در مدل حیوانی آرتریت حاد مورد بررسی قرار گیرد. بدین منظور عصاره قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* را داخل DMSO حل کرده و تا روز ۷ هر روز به صورت داخل صفاقی (IP) تزریق گردید. حداکثر حجم تزریقی عصاره ۱ سی‌سی در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که تجویز عصاره ۳۰ دقیقه بعد از انجام آزمایشات رفتاری صورت گرفت.

ایندومتاسین با دوز ۵ mg/kg به عنوان یک داروی غیراستروئیدی استاندارد در طی دوره ۷ روزه مطالعه به صورت روزانه و تک دوز از روز اول پس از تزریق CFA به عنوان گروه کنترل مثبت تزریق گردید. تغییرات هیپرالژزی و خیز در روزهای (صفر، ۳ و ۷)، نیم ساعت قبل از تزریق دارو یا عصاره‌ها مورد بررسی قرار گرفت [۱۸].

گروه‌های مورد مطالعه قرار گرفته شامل موارد زیر می‌باشد:

- گروه عصاره‌ی قطبی

CFA+۲۵ mg/kg

CFA+۵۰ mg/kg

CFA+۱۰۰ mg/kg

- گروه عصاره‌ی غیر قطبی

CFA+۲۵ mg/kg

CFA+۵۰ mg/kg

CFA+۱۰۰ mg/kg

نتایج

اثرات درمان کوتاه‌مدت با عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* بر روی خیز ناشی از CFA. تزریق کف پای CFA به طور معناداری میزان حجم پای حیوان در روز ۳ و ۷ را نسبت به روز صفر و گروه کنترل (CFA) افزایش داد که میزان خیز ایجاد شده در روز ۷ به طور معناداری بیش‌تر از روز ۳ بود ($p < 0.001$).

مطالعه ما نشان داد تجویز عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* با دوزهای (۵۰ و ۱۰۰ mg/kg) باعث کاهش معنادار و وابسته به دوز میزان حجم پای حیوان در روزهای ۳ و ۷ در مقایسه با گروه کنترل (CFA) گردید ($p < 0.001$).

ایندومتاسین با دوز ۵ mg/kg به طور معناداری کاهش داد ($p < 0.001$).

نتایج مطالعه ما نشان داد که کاهش خیز پا در پاسخ به تجویز دوز موثر عصاره قطبی در مقایسه با گروه CFA در روز ۷ نسبت به تاثیر تجویز دوز موثر عصاره‌ی غیر قطبی به طور معناداری بیش‌تر بود ($p < 0.01$).

هم‌چنین در بررسی‌های انجام شده بین گروه CFA و گروه هم‌چنین در بررسی‌های انجام شده بین گروه CFA و گروه vehicle (CFA+DMSO) در میزان تغییرات حجم پا تفاوت معنادار وجود نداشت.

تاثیر تجویز کوتاه‌مدت عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* بر روی هیپرالژزی ناشی از CFA

تزیق CFA در کف پای موش صحرائی باعث افزایش هیپرالژزی در روز ۳ و ۷ در مقایسه با روز صفر و گروه کنترل (CFA) گردید که میزان هیپرالژزی ایجاد شده در روز ۷ به طور معناداری بیش‌تر از روز ۳ می‌باشد ($p < 0.001$).

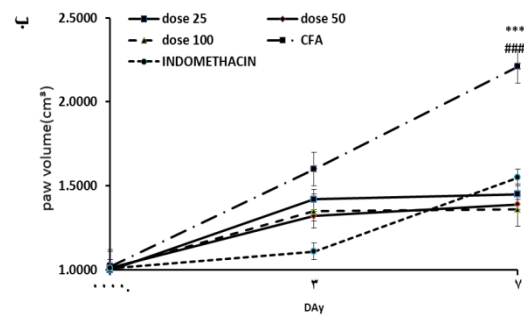
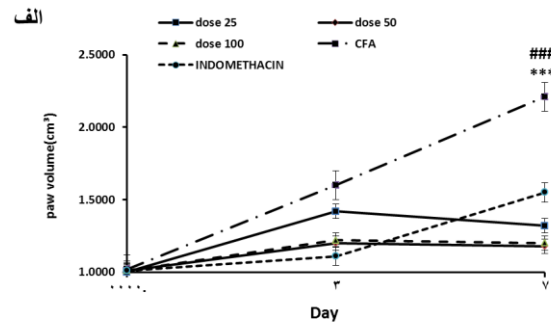
مطالعه ما نشان داد که عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* با دوز (۵۰ و ۱۰۰) به صورت وابسته به دوز باعث کاهش میزان هیپرالژزی در روزهای ۳ و ۷ در مقایسه با گروه کنترل (CFA) گردید ($p < 0.001$).

مطالعه ما نشان داد که هیپرالژزی طی تجویز دوز ۵۰ mg/kg و ۱۰۰ هر دو نوع عصاره در روزهای ۳ و ۷ به طور معناداری نسبت به دوز ۲۵ mg/kg کاهش پیدا کرد ($p < 0.01$).

در این مطالعه تفاوت معناداری در بین دوز ۵۰ mg/kg و ۱۰۰ هر دو نوع عصاره در کاهش هیپرالژزی وجود نداشت و دوز ۵۰ به عنوان دوز موثر در نظر گرفته شد.

تجویز دوز موثر عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی دوز موثر ایندومتاسین (۵ mg/kg) باعث کاهش معنی‌دار هیپرالژزی در روز ۷ گردید ($p < 0.001$).

هم‌چنین نتایج نشان داد که تاثیر دوز موثر عصاره‌های قطبی گیاه *Salvia Candidissima* در کاهش هیپرالژزی



شکل ۱. اثرات (الف) عصاره‌های قطبی و (ب) غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* با دوزهای (۲۵، ۵۰، و ۱۰۰) و ایندومتاسین (۵ mg/kg) بر روی تغییرات حجم پا ناشی از تزریق CFA نتایج به صورت mean+SEM بیان شده و N=6 است. ($p < 0.001$) ***: مقایسه تاثیر دوز موثر عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia* (۵۰ mg/kg) *Candidissima* بر روی کاهش حجم پا با گروه کنترل (CFA) و روز صفر در روز ۷ بعد از تزریق CFA. ($p < 0.001$) ####: مقایسه تاثیر دوز موثر عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia* (۵۰ mg/kg) *Candidissima* بر روی کاهش حجم پا با گروه کنترل مثبت (ایندومتاسین ۵ mg/kg) در روز ۷ بعد از تزریق CFA

نتایج نشان داد تجویز عصاره‌های قطبی و غیر قطبی با دوز ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg باعث کاهش معنی‌دار خیز پا در روز ۳ و ۷ در مقایسه با گروه کنترل (CFA) گردید ($p < 0.001$). مطالعه ما نشان داد که خیز پا طی تجویز دوز ۱۰۰ و ۵۰ هر دو نوع عصاره در روزهای ۷ به طور معناداری نسبت به دوز ۲۵ mg/kg کاهش پیدا کرد ($p < 0.01$).

در این مطالعه تفاوت معناداری بین دوز ۵۰ mg/kg و ۱۰۰ در کاهش میزان خیز پا برای هر دو گروه عصاره قطبی و غیر قطبی وجود نداشت و دوز ۵۰ به عنوان دوز موثر در نظر گرفته شد.

تجویز دوز موثر عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* خیز پا را در روز ۷ نسبت به

مطالعه ما نشان داد که عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* با دوز (۲۵ mg/kg، ۵۰ و ۱۰۰) به صورت وابسته به دوز باعث کاهش میزان خیز و هیپرآلژزی در روزهای ۳ و ۷ در مقایسه با گروه کنترل گردیدند ($p < 0.01$).

حسین‌زاده و همکاران در مطالعات خود بر روی گیاه *Salvia leriifolia* اثر ضد دردی و ضد التهابی قوی از این گیاه را روی موش صحرایی نر مشاهده کردند [۱۹]. بررسی‌های متعددی وجود فلاونوئیدها، ترپن‌ها و عوامل آنتی‌اکسیدانت را در گونه‌های گیاه سالویا را مورد تحقیق و تأیید قرار دادند [۱۳].

از آن جایی که یکی از مواد موجود در این عصاره‌ها ترکیبات فلاونوئیدی هستند، بنابراین ما احتمال می‌دهیم که اثرات مفید این عصاره‌ها مربوط به این ترکیبات باشد.

فلاونوئیدها باعث مهار تولید سیتوکین‌های التهابی مانند $TNF-\alpha$ ، IL-1 و IL-6 می‌شوند [۲۰]. مطالعات نشان داده است که فلاونوئیدها با مهار NF-Kappa B به عنوان عاملی مهم از ایجاد التهاب جلوگیری می‌کنند. از طرفی فلاونوئیدها موجب افزایش سیتوکین ضد التهابی IL-10 می‌گردد [۲۱].

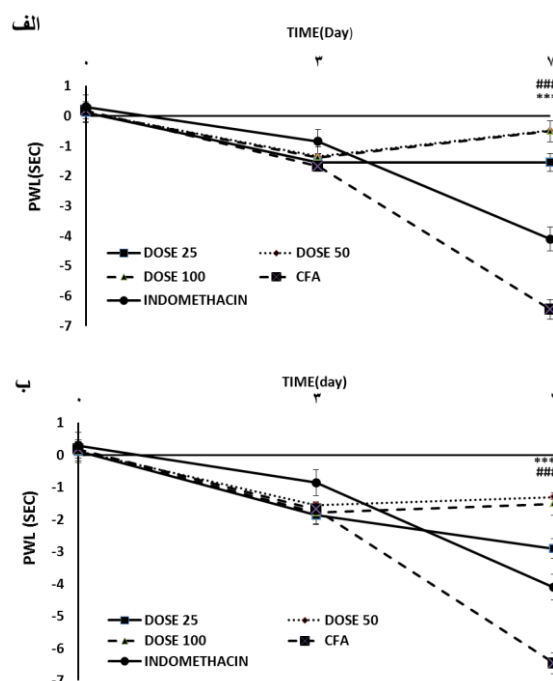
فلاونوئیدها تجمع لیپیدهای شناور را که برای سیگنال کردن پدیده درد ضروری هستند را کم می‌کنند به علاوه فلاونوئیدها و ترپن‌ها با مهار تجمع گیرنده‌ها و آبشار سیگنالی، التهاب مزمن و حاد را کم می‌کنند [۲۲، ۲۳].

نتایج مطالعه ما نشان داد که درمان با عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* باعث کاهش معنی‌دار و وابسته به دوز علائم التهاب ناشی از تزریق CFA مانند خیز و هیپرآلژزی می‌گردد.

بررسی انجام شده در این مطالعه نشان داد که تزریق روزانه و داخل صفاقی دوزهای ۲۵ mg/kg، ۵۰ و ۱۰۰ از عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* باعث کاهش معنادار خیز و هیپرآلژزی ناشی از تزریق CFA گردید. اما عصاره قطبی اثرات قوی‌تری نسبت به عصاره غیر قطبی نشان داد. که نتیجه حاصل شده بیانگر وجود عوامل ضد

نسبت به دوز موثر عصاره غیر قطبی گیاه در روز ۷ به طور معناداری بیش‌تر بود ($p < 0.01$).

هم‌چنین در بررسی‌های انجام شده بین گروه CFA و گروه vehicle (CFA+DMSO) در میزان تغییرات هایپرآلژزی تفاوت معناداری وجود نداشت.



شکل ۲. اثرات عصاره‌های (الف) قطبی و (ب) غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* با دوزهای (۲۵، ۵۰، ۱۰۰) و ایندومتاسین (5mg/kg) بر روی تغییرات هیپرآلژزی ناشی از تزریق CFA. نتایج به صورت $mean \pm SEM$ بیان شده و $N=6$ است. ($p < 0.01$) ***: مقایسه تأثیر دوز موثر عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه (50mg/kg) *Salvia Candidissima* بر روی کاهش هیپرآلژزی در مقایسه با گروه کنترل (CFA) و روز صفر در روز ۷ بعد از تزریق CFA. ($p < 0.01$) ###: مقایسه تأثیر دوز موثر عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه (50mg/kg) *Salvia Candidissima* بر روی کاهش هیپرآلژزی با گروه ایندومتاسین (5mg/kg) در روز ۷ بعد از تزریق CFA.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که درمان کوتاه‌مدت با عصاره‌های گیاه *Salvia Candidissima* باعث کاهش معنی‌دار علائم التهاب مانند خیز و هیپرآلژزی را می‌شوند.

- [5] Magaji MG, Anuka JA, Abdu-Aguye I, Yaro AH, Hussaini IM. Behavioural effects of the methanolic root bark extract of *Securinega virosa* in rodents. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2008; 5: 147-153.
- [6] Asadi S, Ahmadiani A, Esmaeili MA, Sonboli A, Ansari N, Khodagholi F. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: A comparative study. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 1341-1349.
- [7] Dweck AC. The folklore and cosmetic use of various *salvia* species. Sage CRC Press 2000; p: 1-25.
- [8] Jang SI, Jeong SI, Kim KJ, Kim HJ, Yu HH, Park R, et al. Tanshinone IIA from *Salvia miltiorrhiza* inhibits inducible nitric oxidesynthase expression and production of TNF-alpha, IL-1beta and IL-6 in activated RAW 264.7 cells. *Planta Med* 2003; 69: 1057-1059.
- [9] Al-Yousuf MH, Bashir AK, Ali BH, Tanira MO, Blunden G. Some effects of *Salvia aegyptiaca*. on the central nervous system in mice. *J Ethnopharmacol* 2002; 81: 121-127.
- [10] Ahmadi R, Hodavand Mirzaee Z, Mafi M. The effects of *Salvia officinalis* extract on serum level of CEA in male rats. *Razi J Med Sci* 2012; 19: 37-42.
- [11] Fellah S, Diouf PN, Petrissans M, Perrin D, Romdhane M, Abderrabba M. Chemical composition and antioxidant properties of *Salvia officinalis*. oil from two culture sites in Tunisia. *J Essent Oil Res* 2006; 18: 553-556.
- [12] Baricevic D, Sosa S, Della Loggia R, Tubaro A, Simonovska B, Krasna A, Zupancic A. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *J Ethnopharmacol* 2001; 75: 125-132.
- [13] Ahmed B, Al-Howiriny TA, Al-Rehaily AJ, Mossa JS. Verbenacine and salvanine: two new diterpenes from *Salvia verbenaca*. *Z Naturforsch C* 2004; 59: 9-14.
- [14] Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain on conscious animals. *Pain* 1983; 16: 109-110.
- [15] Cicala C, Ianaro A, Fiorucci S, Calignano A, Bucci M, Gerli R, et al. NO-naproxen modulates in inflammation, nociception and downregulates Tcell response in rat Freund's adjuvant arthritis. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 1399-1405.
- [16] Rezaazadeh SH, Zaringhalam J, Manaheji H, Kebryaezadeh A. Anti-inflammatory and anti-hyperalgesic activities of *Stachys athorecalyx* extracts on CFA induced inflammation. *J Med Plants Res* 2009; 3: 368-376.
- [17] Tekieh E, Zaringhalam J, Manaheji H, Maghsoudi A, Alani B, Zardooz H. Increased serum IL-6 level time-dependently regulates hyperalgesia and spinal mu opioid receptor expression during CFA-induced arthritis. *EXCLI J* 2011; 10: 23-33.
- [18] Zaringhalam J, Akbari A, Tekieh E, Manaheji H, Rezaazadeh S. *Achillea santolina* reduces serum interleukin-6 level and hyperalgesia during complete Freund's adjuvant-induced inflammation in male Wistar rats. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao* 2010; 8: 1180-1189.
- [19] Hosseinzadeh H, Haddadkhodaparast MH, Arash AR. Antinociceptive, anti inflammatory and acute toxicity effects of *Salvia leriifolia* Benth. seed extract in mice and rats. *Phytother Res* 2003; 17: 422-425.
- [20] Hougee S, Sanders A, Faber J, Graus YM, van den Berg WB, Garssen J, et al. Decreased pro-inflammatory cytokine production by LPS-stimulated PBMC upon in vitro incubation with the flavonoids apigenin, luteolin or chrysin, due to selective elimination of monocytes/macrophages. *Biochem Pharmacol* 2005; 69: 241-248.
- [21] Comalada M, Ballester I, Bailón E, Sierra S, Xaus J, Gálvez J, et al. Inhibition of pro-inflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: analysis of the structure-activity relationship. *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 1010-1021.
- [22] Ramakrishnan G, Joshua Allan J, Goudar K, Amit A. Comparative evaluation of anti-inflammatory activity of different extracts of *boswellia serrata* in wistar albino rats. *Int J Pharm Tech Res* 2011; 3: 261-267.
- [23] De Araújo PF, Coelho-de-Souza AN, Morais SM, Ferreira SC, Leal-Cardoso JH. Antinociceptive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* on mice. *Phytomedicine* 2005; 12: 482-486.

التهابی در هر دو عصاره بوده، اما به نظر می‌رسد مواد موجود در بخش قطبی عصاره اثرات ضد التهابی قوی‌تری نسبت به عوامل هیدروفوب عصاره در بهبود علائم التهاب ناشی از CFA نشان می‌دهند.

عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* نسبت به ایندومتاسین (5 mg/kg) در روز ۳ اثرات کم‌تری از خود نشان دادند که این عامل می‌تواند به ماهیت شیمیایی این دارو مرتبط باشد که داروهای شیمیایی اثرات خود را سریع نشان می‌دهند اما در روز ۷ پاسخ مشاهده شده از عصاره‌های قطبی و غیر قطبی گیاه *Salvia Candidissima* نسبت به این دارو بسیار قوی‌تر می‌باشد که دلیل آن می‌تواند وابسته بودن عصاره به وجود اثرات تجمعی می‌باشد تا بتواند اثرات خود را اعمال نماید.

می‌توان بررسی‌های پیش‌تر و دقیق‌تری را بر روی مواد موثره هر دو نوع عصاره گیاه *Salvia candidissima* انجام داد و تاثیر هر کدام از مواد موثره را به صورت جداگانه بر روی روند التهاب بررسی کرد.

تشکر و قدردانی

این طرح به عنوان پایان نامه کارشناسی ارشد دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی مصوب و اجرا شده است.

منابع

- [1] Machelska H, Stein C. Immune mechanisms in pain control. *Anesth Analg* 2002; 95: 1002-1008.
- [2] Snehalatha U, Anburajan M, Venkatraman B, Menaka M. Evaluation of complete Freund's adjuvant-induced arthritis in a Wistar rat model. Comparison of thermography and histopathology. *Z Rheumatol* 2013; 72: 375-382.
- [3] Philippe L, Gegout-Pottie P, Guingamp C, Bordji K, Terlain B, Netter P, Gillet P. Relations between functional, inflammatory, and degenerative parameters during adjuvant arthritis in rats. *Am J Physiol* 1997; 273: 1550-1556.
- [4] Schmourlo G, Mendonça-Filho RR, Alviano CS, Costa SS. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *J Ethnopharmacol* 2005; 96: 563-568.

Effects of hydroalcoholic and chloroformic extracts of *Salvia Candidissima* on hyperalgesia and edema during adjuvant-induced arthritis

Ali mohammad khani zade (M.sc)¹, Jalal zarin ghalam(Ph.D)^{*1}, Ali sonboli(PhD)², Mahdi ayyari(Ph.D)², Homa Manaheji (Ph.D)¹

1 – Dept. of Physiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 – Dept. of Biology, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

(Received: 14 Dec 2013; Accepted: 10 Jun 2014)

Introduction: Inflammatory symptoms such as edema and hyperalgesia were induced by some mediators like cytokines in response to irritant stimulus. The aim of this study was to investigate the effects of hydroalcoholic and chloroformic extracts of *Salvia Candidissima* on hyperalgesia and edema during adjuvant-induced arthritis in rats.

Materials and Methods: Inflammation was induced by single subcutaneous injection of CFA to rat hindpaw. Hydroalcoholic and chloroformic extracts of *Salvia Candidissima* prepared from aerial part of plant and different dose of extracts (25, 50 and 100/kg) were administered (i.p.) during the 7-day study. Indomethacin (5 mg/kg) used as positive control. Hyperalgesia and edema were assessed at 0, 3 and 7 days after arthritis induction by CFA by radiant heat and plethysmometer, respectively.

Results: The result showed that hydroalcoholic and chloroformic extracts of *Salvia Candidissima* at dose of 50 mg/kg caused significant reduction in hyperalgesia and edema on days 3 and 7 as compared with the day zero, negative control and positive control (receiving indomethacin at dose of 5 mg/kg, daily) groups ($p < 0.001$).

Conclusion: It can be concluded that hydroalcoholic and chloroformic extracts of *Salvia Candidissima* dose dependently reduce edema and hyperalgesia during CFA-induced inflammation.

Keywords: Plant extract, *Salvia Candidissima*, Hyperalgesia, Edema

* Corresponding author. Fax: +98 21 22439971; Tel: +98 912 516 8313
jzaringhalam@yahoo.com

How to cite this article:

Mohamad khani zadeh A, Zaringhalam moghadam J, Sonboli A, Ayari M, Mirjafari S. Effects of hydroalcoholic and chloroformic extracts of *Salvia Candidissima* on hyperalgesia and edema during adjuvant-induced arthritis. *koomesh*. 2015; 16 (2) :239-245

URL http://koomeshjournal.semums.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-865-3&slc_lang=fa&sid=1