

مقایسه اثرات تسکینی و ضد اضطرابی عصاره گیاهی "علف چای" با دیازپام در موش صحرایی

علی رضایی^۱، کامیار رضایی درستکار^۲، مهرداد پاشازاده^۲، چنگیز احمدی زاده^۲، بهبود جعفری^۳

۱. دانشیار علوم بالینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی

۲. مربی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی

۳. مربی میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر

تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۶/۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۶/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: St. John's wort یا Perforatum گیاهی است که در فارسی به "گل راعی" یا "علف چای" معروف است. هایپیرسین و هایپرفورین از اجزای اصلی تشکیل دهنده عصاره این گیاه می‌باشند. اجزای عصاره این گیاه به گیرنده‌های گابا و گیرنده‌های اوپیوئیدی سیگما اتصال می‌یابند. اثرات فارماکولوژی متعدد آن مانند اثر ضد دردی، آرامبخش، تسکین دهنده، ضد اسپاسم، ضد تشنج، ضد افسردگی، ضد باکتری تاکنون مشخص شده است.

مواد و روش کار: جهت انجام این مطالعه عصاره هیدروالکلی اندام هوایی گیاه تهیه شد سپس به گروه‌های مختلف موش‌های صحرایی ماده نژاد ویستار با شرایط سنی و وزنی برابر دوزهای ۵۰۰ mg/kg و ۲۵۰ mg/kg از عصاره، ۱/۲ mg/kg دیازپام و هم‌چنین دی‌متیل سولفو کساید (به‌عنوان کنترل) با حجم برابر ۱۵ دقیقه قبل از ارزیابی اثرات تسکینی/خواب‌آوری (مدت خواب القا شده با کتامین با دوز ۴۰ mg/kg) و ارزیابی اثرات ضد اضطرابی (با استفاده از Elevated Plus Maze) به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده بیانگر افزایش معنی‌دار مدت خواب القا شده با کتامین و هم‌چنین افزایش معنی‌دار مدت زمان سپری شده در بازوهای باز در گروه‌های تیمار با دوزهای بالا و پایین عصاره بود ($p=0/00$) در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است

نتیجه‌گیری: نتایج حاصله نشان داد که عصاره گل راعی در دوز ۵۰۰ mg/kg دارای اثرات تسکینی و ضد اضطرابی است. [م ت ع پ ز، ۱۳۹۰؛ ۱۳(۸): ۸-۱۱]

کلیدواژه‌ها: علف چای، ماز، دیازپام، کتامین، موش صحرایی

مقدمه

امروزه گیاهان دارویی بخش مهمی از طب سنتی بسیاری از کشورها را تشکیل می‌دهند و در رویکردهای جدید درمانی نیز دارای ارزش و جایگاه ویژه‌ای می‌باشند. در این مطالعه اقدام به شناخت هر چه بیشتر اثرات تسکینی و ضد اضطرابی ناشی از عصاره گل راعی گردیده است. Hypericum St. John's wort یا Perforatum نام گیاهی است که در فارسی به گل راعی معروف است.^۱ ترکیبات شیمیایی در عصاره این گیاه شناسایی شده‌اند که عبارتند از نفتودیانترون‌ها، فلاونوئیدها، پروآنتوسیانیدین‌ها، بیفلاوون‌ها، گزانتون‌ها، فلور گلوکسینول‌ها، روغن‌های فرار، مشتقات اسید آمینه و فینیل پروپانها.^۲ در حال حاضر Hypericum Perforatum بیشتر به‌عنوان یک گیاه مؤثر بر افسردگی خفیف تا متوسط مطرح است. در سال ۲۰۰۱ میلادی Kumar و همکارانش بیان کردند که عصاره گونه خاصی از این گیاه در موش‌های صحرایی منجر به کاهش اضطراب می‌شود. مطالعات اخیر در محیط آزمایشگاه حاکی از مهار MAO به وسیله ترکیبات موجود در عصاره این گیاه است که اثر مهاري آن بر MAO-A بیشتر از MAO-B می‌باشد.^۳ هایپرفورین موجود در این گیاه منجر به مهار بازجذب سروتونین، دوپامین و نوراپی نفرین می‌شود. تجویز مزمن عصاره تجارتي اثر قابل توجهی در تنظیم منفی گیرنده‌های بتا۱درنرژیک کورتکس و تنظیم مثبت رسپتورهای سروتونین در مدل حیوانی موش داشته است.^۴ اثرات دیگری که در محیط آزمایشگاه دیده شد، عبارتند از اتصال به گیرنده‌های اوپیوئیدی سیگما با استفاده از بخش هایپیرسین و اتصال به گیرنده‌های گابا با استفاده از عصاره

تجارتي، هم‌چنین در حضور عصاره، تولید IL-6 کاهش می‌یابد.^۵ در یک مطالعه بعد از تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی آرامبخشی قابل ملاحظه‌ای در موش‌ها مشاهده شد.^۶ از سوی دیگر دیازپام بنزودیازپینی است که از طریق تعامل با گیرنده‌های GABA موجود در مغز به‌ویژه در تشکیلات مشبک مغز میانی موجب بروز اثرات تسکینی، آرامبخشی و ضد اضطرابی می‌شود. بدین ترتیب که باعث باز شدن کانال کلری از طریق اتصال به اجزای مولکولی گیرنده GABA موجود در غشای نورونی سیستم عصبی مرکزی می‌شود.^۴ هدف از این تحقیق مقایسه اثرات تسکینی و ضد اضطرابی عصاره گیاه گل راعی به‌عنوان یک داروی گیاهی در مقایسه با یک داروی شیمیایی یعنی دیازپام می‌باشد.

روش کار

در این مطالعه تحقیقی ۳۵ سر موش ماده نژاد ویستار در محدوده وزنی 20 ± 20 گرم با سن حدود ۱۲ هفته جهت انجام کارهای آزمایشگاهی استفاده شد. موش‌ها در اتاق حیوانات و در شرایط استاندارد با درجه حرارت محیطی 23°C - 21°C ، رطوبت نسبی ۷۰ درصد و چرخه نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند و از پلت‌های استاندارد جهت تغذیه موش‌ها به روش Ablibitum (در این روش به‌طور ۲۴ ساعته غذا در اختیار حیوان قرار می‌گیرد) استفاده گردید و آب به مقدار کافی در اختیار موش‌ها قرار داشت. لازم به ذکر است به منظور سازگاری موش‌های رت با محیط نگهداری جدید ۱۰ روز قبل از انجام آزمایشات موش‌های رت از

ماز سپری کردند، بر حسب ثانیه ثبت شد مدت زمان حضور موش‌ها در ماز ۵ دقیقه است. نتایج به دست آمده از این آزمایشات با استفاده از آزمون‌های ANOVA و آزمون تعقیبی توکی و اسمیرنوف کولموگروف مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

با توجه به نمودار، دوز ۵۰۰ mg/kg علف چای از Induction time کمتری نسبت به دیزپام برخوردار است و اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0/001$). با توجه به نمودار دوز ۵۰۰ mg/kg علف چای از Sleeping Time بیشتری نسبت به دیزپام برخوردار است و اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0/001$). با توجه به نمودار فوق دوز ۵۰۰ mg/kg علف چای در ماز بیشترین اثر را به عنوان یک شاخص ضد اضطراب داشت. اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0/001$).

بحث

با گسترش اقبال عمومی نسبت به داروهای گیاهی امروزه تحقیقات زیادی بر روی گیاهان مختلف از جمله گیاه گل راعی انجام شده است و پیش‌بینی می‌شود که در آینده نزدیک، به علت عوارض مختلف داروهای شیمیایی، گیاهان دارویی سهم عمده‌ای از کموتراپی را به خود اختصاص دهند. در این تحقیق اثرات تسکینی و ضد اضطرابی گیاه گل راعی در مقایسه با دیزپام که یک داروی موثر و پر مصرف شیمیایی بررسی شد و نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که دوز ۵۰۰ mg/kg گل علف چای از Induction کمتر و Time Sleeping بیشتری نسبت به دیزپام برخوردار است و اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود. در زیر به تعدادی از مطالعاتی که بر روی این عصاره انجام شده است اشاره می‌شود.^۱

Keachler و همکارانش پیشنهاد کردند که احتمالاً افزایش مونوآمین‌ها و گلو تامات در شکاف سیناپتیک در نتیجه مهار بازجذب توسط هیپرفورین، مکانیسم فعالیت ضد افسردگی SJW است. آن‌ها در Locus Coeruleus رت ناحیه مهمی که در عمل ضد افسردگی مشارکت دارد. مقادیر بالایی از کاتکول آمین‌ها، سروتونین و گلو تامات یافتند.^۲ در سال ۱۹۹۸، Raffa، آفینته هیپریسین ۱/۰ μm را برای گیرنده‌های موسکاربینی و گیرنده‌های سیگما بررسی کرد؛ که ۴۹ درصد مهار گیرنده‌های موسکاربینی و ۴۸ درصد مهار گیرنده‌های سیگما را مشاهده کرد.^۳ این یافته مهمی بود که نشان داده گیرنده‌های سیگما با فعالیت ضد افسردگی داروهای سنتتیک مرتبط هستند و در سیستم لیمبیک قرار دارند. پیشنهاد شده که گیرنده‌های سیگما، گیرنده‌های NMDA گلو تامات را که مسیر بسیار مهمی برای عمل ضد افسردگی محسوب می‌شوند تنظیم می‌کنند.^۴ Kumar و همکارانش در تحقیقات خود بر روی اثر درمانی Perforatum Hypericum در ایجاد تغییر رفتاری و بیوشیمیایی ناشی از استرس ممانعتی نشان دادند که این گیاه فعالیت نسبتاً کمی در ممانعت از این تغییرات دارد.^۵ TeuFel و Gleitz نشان دادند که افزایش (Up-regulation) برای گیرنده‌های سروتونین 5-HT1A و 5-HT 2A پس از مصرف طولانی مدت عصاره در رت‌ها، مشابه میزان بیان

مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی دانشگاه تبریز به محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز انتقال داده شدند. برای تهیه عصاره از ساقه و برگ‌های خشک شده به میزان ۱۰۰۰ گرم از گیاه گل راعی خشک را به صورت پودر در آورده، درون مخلوط کلروفورم: متانول (۷۰:۳۰) حداقل به مدت ۲۴ ساعت خیس نموده، سپس مخلوط به دست آمده را تحت فشار خلاء درون دستگاه روتاری اپراتور حلال زدایی کرده تا عصاره خام بدست آید عصاره خام حاصله را در کمترین مقدار متانول داغ حل کرده و سپس در درون فریزر به دمای ۱۵°C- رسانده و به سرعت صاف نموده تا عصاره فاقد چربی به دست آید به منظور آب زدایی، عصاره چربی‌زدایی شده را در دی کلرومتان حل کرده و با منیزیم سولفات خشک نموده و در دستگاه روتاری اپراتور (Heidolph Wb2000؛ آلمان) تحت خلاء حلال‌زدایی می‌شود تا این‌که عصاره خالص به دست آید بعداً اینها در اختیار شخصی که داروها را تجویز می‌کند و اطلاعاتی از ماهیت داروها ندارد قرار خواهند گرفت.

به منظور مطالعه اثرات تسکینی عصاره گل راعی و مقایسه آن با دیزپام (ساخت شرکت داروسازی لقمان) موش‌ها به‌طور تصادفی در ۵ گروه ۷ تایی تقسیم گردیدند. به گروه اول عصاره با دوز ۵۰۰ mg/kg به صورت داخل پریتونال (Intra Peritoneal: IP) به گروه دوم عصاره با دوز ۲۵۰ mg/kg به صورت IP، به گروه سوم دیزپام با دوز ۱/۲ mg/kg به صورت IP و به گروه چهارم پلاسیبو (DMSO Dimethyl Sopolxid) در همان حجم به صورت IP تجویز شد و به گروه پنجم هیچ دارویی تجویز نشد و مطالعه در دو بخش انجام گرفت در قسمت نخست که هدف ارزیابی اثر تسکینی دارو بود برای این منظور ۳۰ دقیقه بعد از تجویز داروهای فوق، کنامین (شرکت داروسازی کیمیدارو) با دوز ۴۰ mg/kg به صورت IP در هر پنج گروه تجویز شد. بلافاصله بعد از تجویز کنامین مدت زمانی که حیوان رفلکس تصحیح کننده را از دست می‌دهد (Induction Time) و مدت زمانی که حیوان بعد از القای بیهوشی دوباره رفلکس تصحیح کننده را باز می‌یابد. Ketamin Sleeping Time بر حسب ثانیه محاسبه شد و در بخش دوم که هدف مطالعه اثرات ضد اضطرابی دارو می‌باشد از دستگای به اسم Elevated Plus Maze (Stoelting Co.) آمریکا استفاده گردید. این ماز دارای دو بازوی بسته و دو بازوی باز است که طول هر بازو ۵۰ سانتی‌متر می‌باشد و ارتفاع دیواره بازوهای بسته ۴۰ سانتی‌متر است. در این بخش از مطالعه به منظور تعیین اثرات اضطرابی دارو مدت زمان حضور موش‌های صحرایی ماده بر روی بازوهای باز به عنوان یک مارکر عدم اضطراب و مدت زمان حضور موش‌های صحرایی بر روی بازوهای بسته به عنوان یک مارکر اضطراب است که هر چقدر این مدت زمان مربوط به بازوهای باز باشد نشان دهنده اثرات ضد اضطرابی قوی‌تر داروی مورد نظر می‌باشد از عصاره گیاهی گل راعی با دوزهای (۵۰۰ mg/kg و ۲۵۰ mg/kg IP) و داروی دیزپام با دوز (۱/۲ mg/kg IP) و DMSO به عنوان پلاسیبو با دوز (۵۰۰ mg/kg IP) استفاده گردید و ۳۰ دقیقه بعد از تجویز داروهای فوق، موش‌ها به صورت انفرادی در مرکز ماز قرار داده شدند و مدت زمانی که موش‌ها در هر یک از بازوهای

فلاونوئید بود، وابسته به دوز است. این یافته‌ها اهمیت فلاونوئیدها در فعالیت ضدافسردگی را نشان داد و نیز این که ساقه مغز احتمالاً هدفی برای عمل هیپریکوم است.^{۱۲}

با توجه به نتایج اثرات تسکینی در بین دوزهای به کار رفته از عصاره گیاهی Hypericum Perforatum دوز ۵۰۰mg/kg از عصاره گیاهی گل راعی پاسخ‌های معنی‌دارتری نسبت به سایر دوزهای عصاره در مقایسه با دیازپام به همراه داشت بدین ترتیب که عصاره گیاهی گل راعی با دوز ۵۰۰mg/kg در مقایسه با دیازپام با دوز ۱/۲mg/kg، Induction Time کمتر و Ketamin Sleeping Time بیشتری را ایجاد نمود.^{۱۳} هم‌چنین بر طبق نتایج به دست آمده عصاره گل راعی با دوز (IP, ۵۰۰mg/kg) اثرات ضد اضطرابی قوی‌تری نسبت به دیازپام با دوز ۱/۲mg/kg در موش‌های صحرایی ماده ایجاد کرد.^{۱۴} بنابراین با معین شدن اثرات ضد اضطرابی و تسکینی عصاره هیپریکوم بر اساس این مطالعه و جمع بندی نتایج با مطالعات قبلی می‌توان نتیجه گرفت که هم‌چون گروه بنزودیازپینی همه اثرات ضدافسردگی، تسکینی و ضد اضطرابی را دارد و برای مصرف به عنوان داروی پیش بیهوشی پتانسیل مناسبی را دارا می‌باشد.^{۱۵}

سپاسگزاری

این مقاله از پایان نامه آقای کامیار رضایی درستکار با کد ۱۰۲۱۰۵۰۱۸۶۱۰۱۹ استخراج گردیده است.

References

1. Aeinechi Y. [Medicinal plants] Persian. Tehran: Tehran University Press; 1370: 27-39.
2. Ballard CG, O'Brien JT, Reichet K and Perry Ek. Aromatherapy as a safe and effective treatment for the management of agitation in sever dementia the result of a double – blind placebo controlled trial with melissa. J Clin Psychiatry 2002; 63(7): 553-8.
3. Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M, et al. Salvia officinalis extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: A double blind, randomized and placebo-controlled trial. J Clin Pharm Ther 2003; 28(1): 53-9.
4. Aufmkolk M, Kohrle J, Gumbinger H, et al. Antihomonal effects of plant extracts. Iodothyronine deiodinase of rat liver is inhibited by extracts and secondary metabolites of plants. Horm Metab Res 1984; 16(4): 188-92.
5. Caccia S, Gobbi M. St. John's Wort components and the brain: Uptake, concentrations reached and the mechanisms underlying pharmacological effects. Curr Drug Metab 2009; 10(9): 1055-65.

این گیرنده‌ها در مصرف ضد افسردگی‌های سنتتیک است. این نتایج اهمیت سروتونین در مکانیسم عمل ضد افسردگی St. John's wort را تایید کرد. Caccia و همکارانش در تحقیقات خود در مورد اجزای تشکیل دهنده Hypericum Perforatum و مغز شامل جذب، دستیابی به تمرکز و اثرات فارماکولوژیکی مکانیسم‌های اساسی دریافتند که ترکیباتی چون اسیل فلوروگلوکوسینول هایپرفورین و فلاونول کورستین و ترکیبات گلیکوسیلات و متابولیت‌هایشان، بی فلاونیس آمتوفلاوون و I3 و II8 آنالوگ بی‌اپگنین و نافتودیاترون هایپریسین و پزودو هایپریسین از سد خونی-مغزی در حیوانات در حد بسیار کمی عبور میکنند. و هم‌چنین تمرکز مغز ناشی از این ترکیبات با وزن مولکولی بالا و در حد کم ترکیبات قابل حل در آب در دوزهای موثر فارماکولوژیکی از عصاره به دست می‌آید و اثر در گیرنده‌های نورو ترانسmitter و مکانیسم‌هایی که واضحاً مهم هستند جزو اثرات مرکزی قراردادی و فارماکولوژیکی داروها هستند.^{۱۶}

بر اساس مطالعه Evans مشتق فلورو گلوکوسینول یعنی هیپرفورین احتمالاً مهم‌ترین جزء فعال مسئول اثرات ضدافسردگی است.^{۱۷}

Mihaela و همکارانش در تحقیقات خود در مورد فعالیت تسکینی عصاره هیدروالکلی Hypericum Perforatum در موش دریافتند که هیچ یک از اجزای جداسازی شده از عصاره هیدروالکلی فعالیت مشابهی با خود عصاره هیدروالکلی ندارند.^{۱۸} Holmes و همکارانش ثابت کردند که افزایش سروتونین و ۵-هیدروکسی ایندل استیک (5-HIAA) در سطح دی‌انسفال و نوراپی نفرین در ساقه مغز پس از مصرف عصاره هیپریکوم که عمدتاً حاوی

6. Azadbakht M. [Medicinal plants] Persian. Tehran: Teimurzadeh Press; 1378: 265-93.
7. Bissett NG. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1994: 91-92.
8. Hosseinzadeh H, Nasser M. Anti convulsant sedative and muscle relaxant effects of carbenonlone in mice. BMC Pharmacol 2003; 3(6): 72-81.
9. Kumar A, Garg R, Prakash AK. Effect of St.Jon's Wort (Hypericum perforatum) treatment on restraint stress induced behavioral and biochemical alteration in mice. BMC Complement Altern Med 2010; 10: 18.
10. Evans WC. Trease and evans pharmacognosy. 15th ed. London: W.B. Saunders; 2002: 316-18.
11. Mihaela G, Andree C, Anne P, et al. Sedative activity in mice of a hydroalcohol extract of Hypericum perforatum L. Phytother Res 1997; 11: 395-397.
12. Holmes A, Parmigiani PF, Ferrari PF, et al. Behavioral profile of wild mice in the elevated plus maze test for anxiety. Physiol Behav 2000; 71(5): 509-16.

*A comparative study of sedative and anxiolytic effects of the *Hypericum perforatum* and diazepam on rats*

Ali Rezaei,¹ Kamyar Rezaei-Dorostkar,² Mehrdad Pashazadeh,² Changiz Ahmadizadeh,³ Behboud Jafari³

Received: 26/Aug/2010

Accepted: 7/Sept/2010

Background: *Hypericum perforatum* or St. John's wort is a plant known as a Raae flower (or *Hypericum*) in Persian. Hyperisin and Hyperforin are the main constituents of this plant extract that are connected to sigma opioid and GABA receptors. Its various pharmacological effects, such as analgesia, sedation, anti-spasm, anti-convulsion, anti-anxiety, and anti-bacteria have already been known.

Materials and Method: To conduct the study, the authors prepared the hydro alcohol extract taken from the aerial organ of the plant. Then, different groups of female Wistar rats, which were almost equal in age and weight, received doses of 500mg/kg and 250mg/kg of the extract, 1.2mg/kg of diazepam, and di-methyl sulphoxid (as placebo) with equal volumes. The intraperitoneal injections were administered 15min before assessing the sedative/hypnotic effects (i.e. duration of the induced sleep by ketamin with a dose of 40mg/kg) and the anxiolytic effects by means of the elevated plus maze.

Results: The results showed a statistically significant increase ($p= 0.00$) both in the duration of the induced sleep by ketamin and in the time lapsed in the open arms in the experimental groups with high and low doses of the extract.

Conclusion: The findings suggest that the extract of *Hypericum perforatum* with a dose of 500mg/kg could have sedative, preanaesthetic, and anxiolytic effects. [ZJRMS, 2012; 13(8): 8-11]

Keywords: *Hypericum perforatum*, maze, diazepam, ketamine, rats

1. Associate Professor of Clinical Sciences, School of Veterinary, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.
2. Instructor of Veterinary, School of Veterinary, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.
3. Instructor of Microbiology, Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, Iran.

Please cite this article as: Rezaei A, Rezaei-Dorostkar K, Pashazadeh M, Ahmadizadeh C, Jafari B. A comparative study of sedative and anxiolytic effects of the *Hypericum perforatum* and diazepam on rats. *Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS)* 2012; 13(8): 8-11.