مهار درد حاد و مزمن با عصاره آبی علف چای (Hypericum perforatum L.) در موش صحرایی نر

مجتبی خاکساریان✦ محمد جوان✦✦ علی سنبلی✦✦✦ دکتر فرشته معتمدی✦✦✦✦

یافته / سال پنجم / شماره ۱۸

چکیده

مقدمه : گیاه هایپریکوم پرفوراتوم در پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی کد گذاری گردید و عصاره گیری با استفاده از روش جوشاندن (decoction) انجام شد. گزارشات فراوانی راجع به اثرات ضدافسردگی هایپریکوم پرفوراتوم وجود دارد؛ اما در رابطه با اثرات ضد دردی خانواده هایپریکوم (به ویژه هایپریکوم پرفوراتوم) مطالعات کمی انجام شده است. هدف از این تحقیق بررسی اثرات مهاری عصاره آبی علف چای بر درد حاد (حرارتی و شیمیایی) و درد مزمن (شیمیایی) می باشد.

مواد و روشها : در این مطالعه تجربی از ۷۰ عدد موش صحرایی نر Sprague-Dawely در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۳۰ گرم برای تمام آزمایش ها و برای تعیین دوز کشنده از ۵۰ عدد موش سوری با محدوده وزنی ۳۷-۳۴ گرم انجام شد. برای اندازه گیری درد از دو روش آزمایش فرمالین (مدل درد حاد و مزمن شیمیایی) و آزمایش Tail-flick (درد حاد حرارتی) استفاده گردید. اثرات ضد دردی تجویز داخل صفاقی عصاره آبی در سه دوز(۲۰۰، ۴۰۰ و۸۰۰ mg/kg) بررسی شد. اثرات ضد دردی عصاره هایپریکوم با سدیم سالیسیلات به عنوان شاهد مثبت مقایسه گردید. محدوده دوز کشنده LD_{50} حدود ۶۰۰۰ mg/kg تعیین گردید. آنالیز آماری بر حسب مورد، paired t-test، unpaired و ANOVA انجام شد.

یافته ها : نتایج آزمایشات نشان می دهد که تجویز داخل صفاقی سدیم سالیسیلات (۳۰۰mg/kg) بر زمان تاخیر آزمون Tail flick اثری نداشت؛ در حالیکه عصاره آبی در تمامی دوزهای مصرفی باعث افزایش زمان تاخیر آزمون گردید. همچنین عصاره آبی در تمامی دوزهای مصرفی بی دردی حیوان را در هر دو فاز آزمون فرمالین افزایش داد؛ اما سدیم سالیسیلات فقط بر فاز دوم آزمون فرمالین مؤثر بود.

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهند که عصاره آبی هایپریکوم بر مدل های درد حاد (حرارتی وشیمیایی) و درد مزمن (شیمیایی) مؤثرمی باشد و همچنین می توان اثرات ضددردی محیطی و مرکزی برای عصاره قائل شد.

واژه های کلیدی: آزمون فرمالین، آزمون Tail-Flick، هایپریکوم پرفوراتوم، موش صحرایی

✦ کارشناس ارشد فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

✦✦ دانشجو PhD فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

✦✦✦ کارشناس ارشد فیزیولوژی دانشگاه شهید بهشتی تهران

✦✦✦✦ استاد فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

مقدمه

علاقه به تحقیق و یافتن ترکیبات جدید ضد درد از دهه ۱۹۶۰ بـه بعـد شـروع شده است. غالباً داروهای موجود دارای عوارض جانبی زیادی می‌باشند(۱). در حال حاضر برای کنترل درد از داروهایـی نظـیر داروهـای ضـدالتهابی غیراسـتروئیدی (NSAIDs) مانـند آسـپرین، استامینوفن، داروهای اپیوئیدی (Opioids) شـامل مرفیـن، مپریدیـن، مـتادون، تـرامادول، بوپرونورفیـن، بوتـرفانول، نالبوفیـن و داروهـای دیگـر از جمله ضدافسردگی های سه حلقه ای، کورتیکوستروئیدها و داروهای کمـک کننده (Adjuvant analgesic) را می توان برشمرد (۲،۳). هـرکدام از داروهـای فـوق بـه نوبه خود عوارض جانبی نامطلوبی دارند.

از ابتدایی ترین روشهای مقابله با بیماریها، استفاده سنتی از گـیاهان دارویی بوده است. گیاهان و مواد استخراج شده از آنهـا جهـت درمان بیماریهای گوناگون در انسان مورد استفاده قرار می گیرند. این امر منجر به تولید داروهای با منشاء گیاهی نظـیر: مرفین، آتروپین، افدرین، کودئین، رزرپین، وینبلاستین، وینکریسـتین و ... شـده اسـت (۴). اسـتفاده از گیاهان دارویی سابقه طولانی در ایران و دنیا دارد (۵،۶،۷،۸). با توجه به اینکه ایـن داروهـا در هـنگام مصـرف در حـد متعادل عوارض خیلی کمـتری نسـبت بـه داروهـای صـناعی دارنـد، از این رو توجه دانشمندان به استفاده از گیاهان دارویی معطوف گردیده است (۷،۸). یکـی از راهکارهـای ممکـن جهت دستیابی به داروهای جدیـد با کاربرد درمانی بالا و اثرات محدود کننده کمتر، توجه بـه گـیاهان و مـواد طبیعـی اسـت. امـروزه مطالعـه گونه های گیاهـی کـه بطـور سـنتی بـه عـنوان ضـد درد مـورد مصـرف مـی شوند یک استراتژی تحقیقاتی پرثمر در راه تهیه داروهای ضد درد جدید می باشد (۹). لذا به نظر می رسد مطالعه برای یافتـن گیاهـی بـا اثرات ضد دردی ضروری باشد. بدین منظور کتـب مخـتلف طب سنتی و مراجعه به کاربری گیاهان داروئی بطـور بومی، مورد نظر قرار گرفت. گیاهان متنوعی با اثرات یاد شـده مـورد اسـتفاده انـد. یکـی از ایـن مـوارد گـیاه علف چای (هایـپریکوم، هوفـاریقون، گـل شـهناز)[1] مـی باشد که در بیشتر مناطق دنیا یافت می شود(۱۰). وجود گزارش های متعدد سنتی و بومـی از اثـرات ضد دردی و ضد التهابی از گیاه هایپریکوم می توانـد اولیـن دلیل مطالعه بر روی اثرات این گیاه باشد (۶،۷،۸). اکـثر تحقیقات علمی انجام شده بر روی عصاره هایپریکوم اشاره بـه خاصـیت ضـد افسـردگی آن دارد (۱۱،۱۲). با توجه به اینکه بسـیاری از داروهـای ضدافسـردگی بویژه ضدافسردگی سه حلقه ای اثرات ضد دردی نیز دارند، احتمال اثرات ضد دردی برای این گیاه محتمل است (۱۳،۱۴). از طرف دیگر گیاه هایپریکوم دارای ترکیبات نظیر فلاوونوئیدها و گلوکوزیدهاست (۷،۱۱،۱۵،۱۶،۱۷) کـه خواص ضد دردی از آنها گزارش شده است. هدف از انجام این مطالعـه بررسـی اثـرات ضـد دردی عصـاره آبـی علـف چـای در موش صحرایی نر بود.

مواد و روشها

حـیوانات مـورد مطالعـه: از ۷۰ عـدد مـوش صـحرایی نـر نـژاد Sprague-Dawely در محـدوده وزنی ۲۰۰- ۲۳۰ گرم برای تمام آزمایشات استفاده گردید. همچنین برای تعیین دوز کشنده از ۵۰ عـدد مـوش سوری در محدوده وزنی ۳۴-۳۷ گرم استفاده گردید.

روش تـهـیـه عـصـاره: گـیاه گل شهناز در خرداد ماه ۱۳۸۰ از ارتفـاع ۲۳۰۰ مـتری مـنطقه شمشـک میگون واقع در استان تهران جمـع آوری شد. بعد از تأیید علمی آن در پژوهشکده گیاهان دارویی و کـد گـذاری در هرباریوم (No 2002-1) دانشگاه شهید بهشتی، سرشـاخه‌هـای گلـدار گـیاه جدا و با آب سرد شسته می‌شدند و سـپس در درجـه حـرارت اتـاق و سـایه خشک می‌شدند. هر بار ۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده در۱/۵ لیتر آب به مدت ۲۴ساعت در داخـل انکوبـاتور با دمای ثابت (۲۵درجه) خیسانده و سپس مـدت ۲۰ دقـیقه جوشـانیده مـی‌شـد. پـس از صاف کردن مایع بدست آمده روی بن‌ماری تغلیظ می‌شد تا عصاره‌ای با قوام شبیه

1. Hypericum perforatum L

عسل بدست می آمد. عصاره در داخل یخچال نگهداری می‌شد و قبل از تجویز به حیوان غلظت مورد نظر از عصاره در آب مقطر تهیه می‌شد.

تعیین محدوده دوز قابل تحمل: برای تعیین حداقل و حدا کثر دوز کشنده ازعصاره های آبی هایپریکوم به صورت دوزها ی افزایش یابنده (به ترتیب mg/kg ۶۰۰۰،۸۰۰۰، ۴۰۰۰، ۳۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰) به گروههای دارای ۱۰ تا ۱۲ سوری تزریق شده و با بررسی تعداد مرگ و میر پس از ۷۲ ساعت به تفکیک تعیین گردیده است.

آزمون فرمالین : برای این آزمون از روش ارائه شده توسط دابیسون و دنیس (۱۹۹۷) استفاده گردید (۱۸). همه آزمون ها در فاصله ۹صبح تا ۵ بعداز ظهر و در درجه حرارت آزمایشگاه انجام شد (۲۳C°-۲۱) و در محیط آرام و بدون استرس انجام گرفت. از دستگاه Tail flick مدل ۸۱۲ ساخت شرکت HSE آلمان استفاده می شد. حیوان درون محفظه مخصوص (Restrainer) به صورت افقی و با دم آویزان قرار می گرفت و پس از آرام گرفتن حیوان، از شدت نور (Intensity) ۷ استفاده می‌شد و زمان ۱۰ ثانیه به عنوان cut off به منظور جلوگیری از آسیب بافتی در نظر گرفته می‌شد. برای هر موش زمان تأخیر عقب کشیدن دم پس از تابش نور (predrug-latency) و بعد از تزریق عصاره (post- drug- latency) اندازه‌گیری می‌شد. پاسخ‌ها به عنوان زمان تأخیر(TL) ثبت می‌شد.

آزمون Tail-flick : برای اندازه گیری میزان تحمل درد حاد حرارتی حیوانات گروههای مختلف، از آزمون Tail-flick استفاده گردید. این آزمون بر اساس روش (D'& Smith Amour 1941) انجام می شد (۱۹). همه آزمون ها در فاصله ۹ صبح تا ۵ بعداز ظهر و در درجه حرارت آزمایشگاه انجام شد (۲۳C° ۲۱) و در محیط آرام و بدون استرس انجام گرفت. از دستگاه Tail flick مدل ۸۱۲ ساخت شرکت HSE آلمان استفاده می شد. حیوان درون محفظه مخصوص (Restrainer) به صورت افقی و با دم آویزان قرار می گرفت و پس از آرام گرفتن حیوان، از شدت نور (Intensity) ۷ استفاده می‌شد و زمان ۱۰ ثانیه به عنوان cut off به منظور جلوگیری از آسیب بافتی در نظر گرفته می‌شد. برای هر موش زمان تأخیر عقب کشیدن دم پس از تابش نور (predrug-latency) و بعد از تزریق عصاره (post- drug- latency) اندازه‌گیری می‌شد. پاسخ‌ها به عنوان زمان تأخیر(TL) ثبت می‌شد.

آزمون های آماری : نتایج به صورت Mean±SEM بیان شده اند. محاسبات آماری بر حسب مورد با استفاده از آزمون Paired t-test ، Unpaired t-test و ANOVA یک طرفه و سپس آزمون Tukey انجام می گرفتند. P<۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

تعیین میزان رطوبت : نتیجه رطوبت سنجی نشان داد که در این مطالعه میزان رطوبت عصاره بکار رفته شده ۱۰٪ بوده است.

دوز کشنده LD50 : نظر به یافته های مربوط به تعیین حداقل دوز قابل تحمل عصاره آبی هایپریکوم مشخص می شود که حداقل دوز کشنده برای عصاره حدود mg/kg ۶۰۰۰ می باشد.

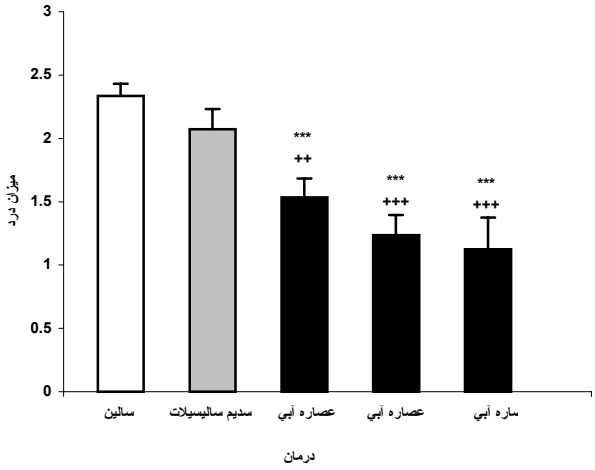
بررسی اثرات ضد دردی: تجویز محیطی عصاره آبی هایپریکوم در

آزمون فرمالین : تجویز داخل صفاقی عصاره آبی هایپریکوم در دوزهای (۲۰۰، ۴۰۰ و mg/kg ۸۰۰) به طور وابسته به دوز در مقایسه با گروه سالین و گروه شاهد مثبت سدیم سالیسیلات

1. Dubuisson and Dennis

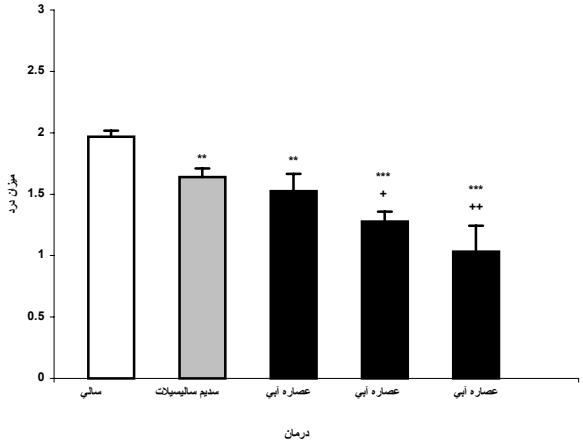
۳۰۰mg/kg بـه طـور معنـی داری سـبب مهار درد ناشی از تـزریق زیرجلدی فرمالین در فاز اول آزمون گردید (شکل۱) . بیـن تجویز داخل صفاقی سدیم سالیسیلات و سالین در فاز اول آزمون تفاوت معنی داری مشاهده نشد (p=Ns) (شکل۱).

تجویز داخل صفاقی عصاره آبی هایپریکوم در دوزهای (۲۰۰، ۴۰۰ و mg/kg ۸۰۰) به طور وابسته به دوز در مقایسه با گروه کنترل سالین به طور معنی داری سبب مهار قابل توجه درد ناشی از تزریق زیرجلدی فرمالین در فاز دوم آزمون شد (p<۰/۰۱) (شکل۲). تجویز داخل صفاقی عصاره آبی هایپریکوم در فاز دوم آزمون، با دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰mg/kg در مقایسه با گروه شاهد مثبت سدیم سالیسیلات سبب بی دردی قابل ملاحظه ای در فاز دوم آزمون گردید. اما دوز ۲۰۰ mg/kgعصاره با گروه سدیم سالیسیلات تفاوت قابل ملاحظه ای نداشت(شکل۲). تجویز داخل صفاقی سدیم سالیسیلات در مقایسه با سالین در فاز دوم آزمون تفاوت معنی داری داشت (p<۰/۰۱) (شکل۲).



شکل۱- اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و mg/kg ۸۰۰ عصاره آبی (HP) و سدیم سالیسیلات (SS) mg/kg ۳۰۰ بر فاز اول آزمون فرمالین (معنی دار بودن تفاوت بین گروه)

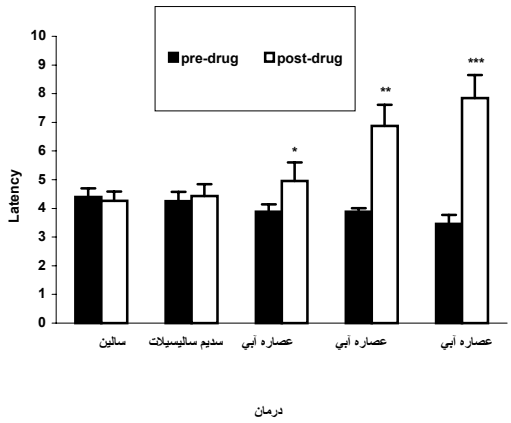
(آزمون آماری: آنالیز واریانس یک طرفه و سپس Tukey)



شکل۲- اثر تزریق داخل صفاقی ۲۰۰، ۴۰۰ و mg/kg ۸۰۰ عصاره آبی (HP) و سدیم سالیسیلات (SS) بر فاز دوم آزمون فرمالین.

(آزمون آماری: آنالیز واریانس یک طرفه و سپس Tukey)

عصاره آبی در تمامی دوزهای مصرفی موجب افزایش زمان تأخیر آزمون Tail Flick شده است.



شکل۳- تزریق داخل صفاقی دوزهای۲۰۰،۴۰۰ وmg/kg ۸۰۰ عصاره آبی (HP) و سدیم سالیسیلات (SS) mg/kg ۳۰۰ بر زمان تاخیر آزمون Tail flick

(آزمون آماری: Paired t- Test معنی دار بودن تفاوت بین گروهها)

بحث

مطابق نتایج بدست آمده تجویز داخل صفاقی عصاره آبی به طور وابسته به دوز درد را در فاز اول آزمون بطور معنی داری کاهش داد. با توجه به اینکه فاز اول آزمون به عنوان فاز نوروژنیک در نظر گرفته می شود (Dennis) این یافته وجود

اثر مرکزی پیشنهاد شده توسط کومار[1] و همکاران (۱۰) را تأیید می کند.

در نهایت نتایج آزمایشگاهی نشان داده اند فرمالین باعث افزایش فعالیت فیبرهای C در فاز اول آزمون فرمالین می شود (۱۵). می توان کاهش فعالیت فیبرهای C را از طریق عصاره هایپریکوم مطرح نمود، که این اثرات ممکن است در ارتباط با افزایش سطح مونوآمین های نظیر سروتونین، نورآدرنالین (۱۱،۱۲) ناشی ازعصاره می باشد.

تجویز داخل صفاقی عصاره آبی به طور وابسته به دوز درد را در فاز دوم آزمون بطور معنی داری کاهش داد. لازم به ذکر است که در تمامی دوزهای استفاده شده درصد مهار ایجاد شده در فاز اول بیشتر از فاز دوم آزمون (فرمالین) بود این موضوع می تواند بیانگر تشابه بین اثرات عصاره و داروهای با عمل مرکزی باشد.

آلبرت[2] و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که عصاره هایپریکوم می تواند COX-1 و 5-LO را مهار نماید(۲۰). بنابراین علاوه بر مکانیسم های مطرح شده سروتونرژیک، آلفا ۲ آدرنرژیک و اوپیوئیدرژیک احتمال دیگری که برای خواص ضد دردی عصاره هایپریکوم در فاز دوم آزمون فرمالین وجود دارد، اثر مهاری عصاره بر COX-1 و 5-LO می باشد. مشاهده شده است که بعد از رهایش لوکوترین ها از بافت های آسیب دیده، فیبرهای حسی حساس می شوند. این حساس شدن از طریق لوکوترین های D4 و B4 که از متابولیت های مسیر لیپواکسیژناز می باشند اتفاق می افتد. مهار کننده های 5-LO مانع تولید لوکوتر ین های D4 و B4 می شوند. از طرف دیگر رهایش پروستاگلاندین ها و لوکوترین B4 در طی فرآیندهای التهابی به عنوان یک سیستم تقویت کننده برای مکانیسم های درد می باشد (۳،۲۱،۲۲) که این اثر توسط مهار کنندهای 5-LO و COX-1 بلوک می شود (۱۴،۲۱). همچنین آنتاگونیست های لوکوترین D4 و مهار کننده های COX-1 دردهای تونیک ایجاد شده مانند درد فاز دوم آزمون فرمالین و درد ناشی از اسید استیک را کاهش می دهند (۲۱،۲۳). نقش مهاری 5-LO بر رهایش پروستاگلاندین ها و تولید لوکوترین های مختلف(B4 و D4) در طی فاز دوم (التهابی) فرمالین (۳،۲۱،۲۲،۲۳) تا حدود زیادی روشن است. با توجه نقش مهار کنندهای 5-LO در تولید متابولیت های اسید آراشیدونیک، و نقش متابولیت های نظیر لوکوتر ین D4 (۲۲) و پروستاگلاندین ها (۲۴) در دردهای تونیک (التهابی) نظیر فاز دوم آزمون فرمالین، می توان پیشنهاد احتمال اثر ضد دردی عصاره از طریق اثرات مهاری آن بر COX-1 و5-LO را در فاز دوم آزمون مطرح نمود.

جهت بررسی اثرات عصاره هایپریکوم از مدل درد حاد Tail flick نیز استفاده شد. داروهای ضد درد ضعیف مانند اسید استیل سالیسیلیک (ASA) آسپرین و پاراستامول در آزمونهایی با تحریکات فازیک مانند Tail flick و Hot plate بی اثر بوده و یا اثر بسیار اندکی دارند (۲۴،۲۵). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داده است که سدیم سالیسیلات به عنوان یک ضد درد، اثر معنی داری بر کاهش درد در مدل Tail flick ندارد که این یافته با مطالب ارائه شده توسط تجولسن و بیور[3] مطابقت دارد (۲۵). از سوی دیگر مشخص شده است که آزمون Tail flick حساسیت بسیار زیادی نسبت به داروهای دارای عمل مرکزی دارد (۲۵). در مطالعه اخیر مشخص شد که تجویز داخل صفاقی عصاره آبی گیاه هایپریکوم بر خلاف سدیم سالیسیلات به طور قابل توجهی موجب افزایش مدت زمان تاخیر در پس کشیدن دم حیوان شده است.

با توجه به نقش لوکوترین B4 در حساس کردن فیبرها به محرک های حرارتی(۲۶،۲۷) و نقش 5-LO را در رهایش لوکوترین B4، اثرات ضد دردی عصاره آبی و هایپریکوم را در آزمون حرارتی Tail flick می توان به اثر مهاری عصاره بر آنزیم 5-LO نسبت داد. به هر حال با توجه به اثرات ضد دردی

1. Kumar
2. Albert
3. Tjolsen & Beaver

عصاره آبی و در آزمون های فرمالین و Tail flick و گزارش اخیر راجع به عصاره هیدرواتانولی هایپریکوم هندی در آزمون Tail flick و Hot plate، می تواند تأییدی بر پیشنهاد کومار (۱۰) را مبنی بر اثرات ضد درد مرکزی برای عصاره هایپریکوم را همچنان مطرح دانست.

نتایج حاصل یک پشتوانه آزمایشگاهی و علمی را برای استفاده از گیاه علف چای (Hypericum perforatum L) به عنوان ضد درد در طب سنتی ایران فراهم می کند، هر چند با اطلاعات به دست آمده فعلی چنین کاربردی توصیه نمی شود و کارهای آزمایشگاهی و تحقیقاتی بیشتری لازم است، از جمله با توجه به این که دارو اثر ضد دردی با محل اثر محیطی ومرکزی، دارد و در درد حاد نیز بهتر از سدیم سالیسیلات عمل می کند، پیشنهاد می گردد که از عصاره تام به سمت عصاره گیری جزیی تر رفته تا در نهایت ماده مؤثره شناسایی شود و مطالعات دقیق در زمینه فارماکولوژی و سم شناسی برروی این ماده مؤثره صورت پذیرد.

References

1. Gross GA, Sticher O. New irioid glycoside and a monterpen glycoside from Sambucus ebulus L (caprifoliaceae). Helvetica chemical Acta, 1989; 70: 91-101
2. Abramowice M, Rizack MA, Goodstine D and Faucard A. Drugs for pain, Medical Letter, 1998; 40: 79-84
3. Hardman JG, Limbird LE, and Gillman AG. The pharmalogical basis of therapeutics. Mc Graw- Hill, 2001
4. Murry MD, and Brater DC. Renal toxity of the nonsteroidal anti-inflammatory drugs, Ann Rev Pharmacol Toxicol, 1993; 33: 435-465
5. Elisabetsky E and Castilhos ZC. Plants used as analgesics by Amazoniancaboclos as a basis for selecting plant for investion. Int J Cride Drug Res, 1990; 28: 309-320

۶- آئینه چی، ی. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران، تهران: مو سسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۱۳۷۰، صص: ۲۷، ۳۱، ۳۵، ۵۲، ۳۱۱

۷- زرگری، ع. گیاهان دارویی، چاپ چهارم، جلد چهارم، تهران: مو سسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران،۱۳۶۹، صص: ۱-۳ و۷۷-۸۲

۸- حسین، م.ج. معارف گیاهی، دفتر نشر فرهنگ اسلامی، جلد پنجم، چاپ اول، ۱۳۷۳، صص: ۲۹۵-۲۸۲

9. Elisabetsky E, Amodor TA, Albuquerque RR, Nunes DS, Carvalho AC.T. Analgesic activity Psychotria colorata (Wild. ex R. & S.) Muell. Arg. alkaloids J Ethnopharmacol, 1995; 48: 77-83
10. Kumar V, Singh PN, Bhattachacharya SK, Anti-inflammatory and analgesic activity of Indian Hypericum perforatum L. Indian J Exp Biol 2001; 39: 339-343
11. Capali G, Crupi A, Firezuli F, Inferrera G, Squadri F, Parisi A, and et al. Serotonin, norepinephrinne and dopamine involvement in the action of Hypericum perforatum. Phamacopsychiatry, 2001; 34: 45-49
12. Pradeep J and Nathan P. Hypericum perforatum (St John's wort): A nonselective reuptake inhibitor? Journal of Psychopharmacology, 2001; 15: 359-346
13. Bowsher D. The effects of pre-emptive treatment of postherpetic neuralgia with amitriptyline neuralgia with amitriptyline: a randomized T double-blind T placebo-controlled trial. J Pain symptom manage, 1997; 8: 32-331

14. Wall PD, Melzack R. Textbook of pain, Churchill Livingstone, 1999
15. Ozturk B, Apadin S, Goldeli E, Ince I, and Zeybak U. Hypericum triquetrifolium Turra. Extract exhibits anti- inflammatory activity in the rat, J Ethnopharmacol, 2002; 80: 207-209
16. Apaydins ZU, Ince I, Eligin G, Karamenderes G, Ozturk B, Tuglular I. Hypericum triquetrifolium Turra. Extract exhibits antinociceptive activity in the mouse, J Ethnopharmacol, 1999; 69: 307-312
17. Travato A, Ranneri E, Koladis M, Tzakou O, Taviano MF and Galati EM. Anti-inflammatory and analgesic activity of Hypericum empertrifolium wild (Guttiferae), Farmaco, 2001; 56: 455-457
18. Dubusisson D, Deniss SG. The formalin test: a quantitative study, of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. Pain, 2001; 4: 161-174
19. D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. J Pharmacol Exp Ther, 1941; 72: 74-79
20. Albert D, Zündorf I, Dingermann T, Muller WE, Steinhinhilber D and Werz O. Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipooxygenase. Biochemical Pharmacology, 2002; 64: 1767-1775
21. Pleurvry BJ, Lauretti GR. Biochemical aspects of chronic pain and it's relationship to treatment. Pharmacol Ther, 1996; 71: 313-324
22. Albert D, Zundorf I, Dingermann T, Muller WE, Steinhinhilber D, and Werz O. Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipooxygenase. Biochemical Pharmacology, 2002; 64: 1767-1775
23. Malmberg AB, Raffery MF, Yaksh TL. Antinociceptive effect of spinally delivered prostaglandin E receptor antagonists in the fomalin test on the rat, Neurosci Lett, 1994; 173: 193-196
24. Tegeder I, Niederberger E, Vetter G, Brautigam L, Geisslinger G. Differential effect of selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor NS 398 and diclofenac on formalin-induced nociception in the rat, Neurosci Lett, 1998; 248: 25-28
25. Nadeson R, and Goodchild CS. Antinociceptive role of 5HT1A receptors in rat spinal cord. Br Janaesth, 2002; 88: 679-684
26. Bolshakova IV, Lozovkaia EL, Sapezhinskii I I. Antioxidant properties of plant extracts Biofizika, 1998; 43: 186-188
27. Hunt EJ, Lester CE, and Tackett RL. Effect of St. John's wort on free radical production Life Sciences, 2001; 69: 181-190