

مطالعه اثرات تسکینی و پیش بیهوشی سه دسته فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی عصاره رازک (*Humulus lupulus*) در مقایسه با دیازپام در موش صحرایی

رامین شیشه‌گر^{۱*}، علی رضایی^۲، ایلیداد عیسی بیگلو^۳، محمد جلیل زاده هدایتی^۴،
چنگیز احمدیزاده^۵، سلما اصل فائقی^۶، امیررضا عبادی^۷

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، گروه علوم پایه، اهر، ایران

۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، تبریز، ایران

۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده علوم پزشکی، گروه فارماکولوژی، تبریز، ایران

۴. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، گروه شیمی، اهر، ایران

۵. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، گروه میکروبیولوژی، اهر، ایران

۶. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانش آموخته مهندسی کشاورزی، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: r_shishegar@iau-ahar.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۱/۲/۲۰، پذیرش نهایی: ۹۱/۶/۱۵)

چکیده

رازک (*Humulus lupulus*) با نام انگلیسی Hop، گیاهی است دارای آثار تسکینی که در طب سنتی نیز به آثار آرام‌بخشی این گیاه اشاره شده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات تسکینی سه دسته فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی مستخرج از گیاه رازک در مقایسه با دیازپام در مدل حیوانی موش صحرایی می‌باشد. جهت انجام این مطالعه سه دسته فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی از گیاه رازک عصاره‌گیری شد. به گروه‌های مختلف موش‌های صحرایی ماده نژاد ویستار با شرایط سنی و وزنی برابر، دوزهای ۱۰۰ mg/kg از فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی عصاره گیاهی رازک، دیازپام با دوز ۲ mg/kg، دی متیل سولفوکساید (DMSO) به منظور مطالعه اثر حلال دیازپام و عصاره، هم حجم داروهای دیگر به صورت تزریق داخل صفاقی (IP) تزریق شدند. از یک گروه شاهد بدون دریافت دارو نیز استفاده شد. نتایج آماری حاصل، بیانگر افزایش معنی‌دار زمان خواب القاء شده با فراکسیون قطبی عصاره گیاه رازک و کاهش معنی‌دار زمان القاء بیهوشی توسط کتامین، بعد از تزریق فراکسیون قطبی عصاره گیاهی رازک بود ($p < 0.01$). نتایج حاصله نشان داد که فراکسیون قطبی عصاره رازک دارای اثرات تسکینی بیشتر و معنی‌داری نسبت به فراکسیون‌های نیمه قطبی و غیر قطبی رازک و نیز دیازپام است.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ۶، شماره ۱، پیاپی ۲۱، صفحات: ۱۴۶۹-۱۴۶۳.

کلید واژه‌ها: رازک، فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی، دی متیل سولفوکساید، دیازپام، موش صحرایی

مقدمه

چندساله، ۲ پایه، بالارونده و دارای اعضای پوشیده از تارهای
خشن است.

رازک گیاهی علفی است که به حالت خودرو در جنگل‌ها و
اماکن مستور از درختچه‌ها و انبوه بوته‌ها می‌روید و نیز گیاهی

۵- اسیدهای فنولیک

۶- آمینو اسیدها

و سایر ترکیبات دیگر که مقادیر آنها بسیار کم می‌باشد (۴). از سوی دیگر دیازپام بنزودیازپینی است که به اجزای مولکولی گیرنده گابا-A موجود در غشاء نورونی سیستم عصبی مرکزی متصل می‌شود و منجر به باز شدن کانال کلر می‌گردد و به این ترتیب اثر آرام‌بخشی و خاصیت شل‌کنندگی عضلات را ایجاد می‌کند (۶).

مواد و روش‌ها

- تهیه فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیرقطبی از برگ‌های گیاه رازک

روش تهیه عصاره: میزان ۵۰۰ گرم از برگ‌های گیاه رازک را توسط نیتروژن مایع پودر کرده به مدت ۴۸ ساعت در ۴ لیتر حلال غیرقطبی مانند پترولیوم اتر در دستگاه سوکسله حل می‌کنیم، عصاره حاصل همان فراکسیون غیرقطبی است. سپس تفاله گیاه را که در سوکسله است به مدت ۴۸ ساعت در ۴ لیتر از یک حلال نیمه قطبی مانند کلروفرم حل می‌کنیم و فراکسیون نیمه قطبی حاصل می‌شود و نهایتاً تفاله رازک را در ۴ لیتر حلال شدیداً قطبی مثل متانول ۴۸ ساعت حل می‌کنیم تا فراکسیون قطبی حاصل شود. فراکسیون‌های حاصله تحت خلاء با دستگاه روتارد حلال زدایی شده و آماده استفاده می‌باشند.

حیوانات مورد استفاده: در این روش از ۹۰ سر موش ماده نژاد ویستار در محدوده وزنی 10 ± 300 گرم با سن حدود ۳ ماه جهت انجام کارهای آزمایشگاهی استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد و با درجه حرارت محیطی ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰ درصد و چرخه نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگه‌داری شدند و از پلت‌های استاندارد جهت تغذیه موش‌ها از روش *ad libitum* (در این روش غذا ۲۴ ساعته در اختیار حیوان قرار می‌گیرد) استفاده گردید و آب در ظروف مخصوص در اختیار حیوان قرار داشت.

در این مطالعه فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی گیاه رازک از لحاظ خواص تسکینی بسیار قوی مورد بررسی قرار گرفته و برای مشخص شدن قدرت اثر تسکینی فراکسیون‌های این گیاه، رازک را با یک داروی شناخته شده جزء گروه بنزودیازپین‌ها، بنام دیازپام مقایسه کرده‌ایم.

گیاه در مناطق وسیعی از ایران و جهان، علی‌الخصوص در نواحی شمال ایران، بین گرگان و سواحل خزر بین رشت و لاهیجان و کل حاشیه خزر می‌روید (۱۲). در طب سنتی چینی این دارو برای رفع و درمان بیماری بی‌خوابی (*Insomnia*) درمان تشویش و اضطراب در خواب، درد شکم در ناحیه روده‌ای (*Intestinal cramp*) و موارد بسیار دیگر استفاده می‌شده و می‌شود. در جدیدترین تحقیقاتی که روی آثار تسکینی (*Sedative*) گیاه رازک انجام شده، به آثار آرام‌بخشی و تسکینی آن تاکید شده است (۵ و ۹).

عصاره گیاه رازک شامل مقدار قابل توجهی روغن‌های ضروری (*essential oils*) می‌باشد (۱).

سایر مواد اکثراً شامل α -bitter acid و β می‌باشد و نیز 2-methyl-3-buten-ol ماده‌ای است که آن را عامل تسکین فرض می‌کنند (۲ و ۳).

بر اساس تحقیقات انجام شده ترکیبات مختلفی که از گیاه رازک اخذ و جدا سازی شده‌اند عبارتند از:

- ۱- اسیدهای تلخ (*bitter acid*) (۰.۳-۰.۵٪)، که بیشتر آنها از نوع α -bitter acid و β است. α -bitter acid (۰.۱-۰.۲٪) (*humulones*) و β -bitter acid (۰.۱۶-۰.۲٪) (*lupulones*)
- ۲- ترکیب حاصل از اکسیداسیون اسیدهای تلخ 2-methyl-3-buten-2-ol
- ۳- تانن‌های متراکم (*condensed tannins*) (۰.۲-۰.۴٪)
- ۴- روغن‌های فرار یا ضروری (*volatine oil*) (۰.۱-۰.۳۵٪) که اغلب از نوع *monoterpenes* و *sequiterpenes* می‌باشند

گرفت. حداقل قابل قبول تفاوت معنی‌دار برای داده‌ها ($p < 0/01$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مطالعه اثرات تسکینی و پیش بیهوشی فراکسیون‌های

قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی رازک:

بعد از تزریق داروی آرامبخش (به عنوان پیش بیهوشی) و تزریق داروی القاء کننده بیهوشی، ثبت زمان القاء (Induction time) کمتر و ثبت زمان خواب (sleeping time) بیشتر، به عنوان یک شاخص در بیشتر بودن آثار تسکینی داروی پیش بیهوشی مطرح است (۷، ۹ و ۱۱).

نتایج آزمون تعقیبی دو به دوی توکی در این بخش از مطالعه در تزریق داخل صفاقی فراکسیون قطبی رازک با دز ۱۰۰ mg/kg نسبت به فراکسیون نیمه‌قطبی و غیرقطبی و نیز دیازپام از لحاظ زمان القاء و نیز زمان خواب آثار تسکینی بیشتر و تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/01$).

و نیز هر دو فراکسیون نیمه‌قطبی و غیرقطبی رازک با دز ۱۰۰ mg/kg در تزریق داخل صفاقی نسبت به دیازپام ۱۰۰ mg/kg ۲ از لحاظ زمان القاء تفاوت معنی‌دار و آثار تسکینی بیشتری نشان داد ($p < 0/01$) و از لحاظ زمان خواب فراکسیون غیر قطبی نسبت به دیازپام آثار تسکینی بیشتر و تفاوت معنی‌داری نشان داد. در مورد فراکسیون نیمه‌قطبی رازک، از لحاظ زمان خواب، نتایج نسبت به دیازپام معنی‌دار نبود.

و نیز بر طبق جداول آزمون آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA، در سطح $\alpha = 0/01$ تفاوت بین زمان القاء بیهوشی و زمان خواب بین گروه‌های فوق‌الذکر معنی‌دار بر آورد شده ($p < 0/01$).

موش‌ها در گروه‌های ۱۵ تایی به تفکیک شماره‌گذاری شده و در قفس‌های مخصوص نگاه‌داری حیوانات نگاه‌داری شدند.

سایر مواد به کار رفته: دی متیل سولفوکساید (DMSO) دیازپام، کتامین هیدروکلراید.

روش ارزیابی اثرات تسکینی و پیش بیهوشی عصاره رازک

در مقایسه با دیازپام:

برای ارزیابی اثرات تسکینی (sedative) به گروه اول فراکسیون قطبی عصاره رازک با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به گروه دوم، فراکسیون نیمه قطبی عصاره رازک با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به گروه سوم فراکسیون غیرقطبی رازک با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به گروه چهارم دیازپام با دوز ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به گروه پنجم (DMSO) به منظور مطالعه اثر حلال دیازپام و عصاره، هم حجم داروهای دیگر به صورت تزریق داخل صفاقی (IP) تزریق شد و به گروه ششم هیچ دارویی تزریق نشد.

۳۰ دقیقه بعد از تجویز داروهای مذکور، کتامین با دوز ۱۰۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی (IP) در هر شش گروه تزریق شد.

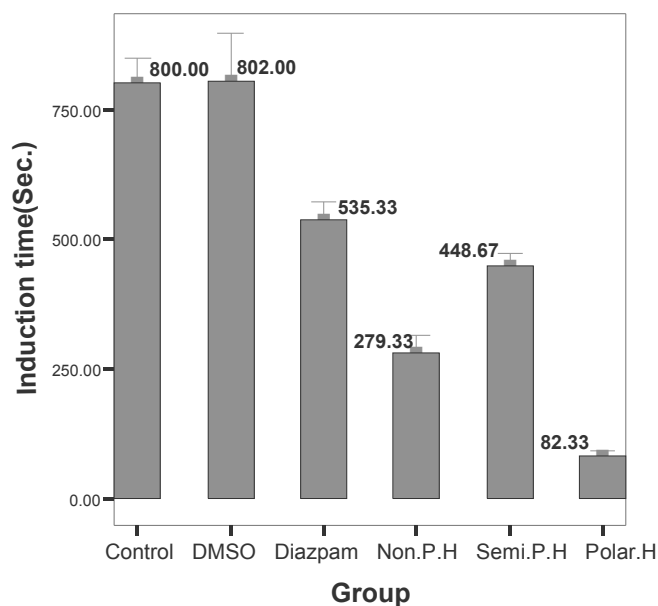
بلافاصله بعد از تجویز کتامین مدت زمانی که حیوان رفلکس تصحیح کننده را از دست داد، زمان القای بیهوشی (Induction time) و مدت زمانی که حیوان بعد از القاء بیهوشی دوباره رفلکس تصحیح کننده را باز یافت، زمان خواب (Sleeping time) را بر حسب ثانیه با کرونومتر ثبت کردیم.

آنالیز داده‌های آماری:

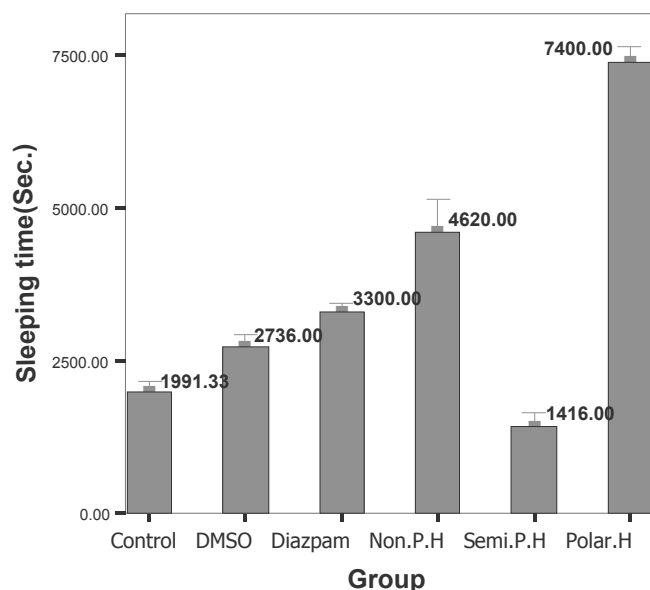
با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی دو به دوی توکی، داده‌ها مورد ارزیابی قرار

جدول ۱- اندازه‌گیری زمان القای بیهوشی و زمان خواب در گروه‌های تحت مطالعه

زمان خواب (Mean ± SE)	زمان القا (Mean ± SE)	رژیم دارویی دریافتی (mg/kg)	گروه‌ها
۷۴۰۰/۰۰	۸۲/۳۳	۱۰۰ mg/kg قطبی + ۱۰۰ mg/kg کتامین	گروه ۱
۱۴۱۶/۰۰	۴۴۸/۶۷	۱۰۰ mg/kg نیمه قطبی + ۱۰۰ mg/kg کتامین	گروه ۲
۴۶۲۰/۰۰	۲۷۹/۳۳	۱۰۰ mg/kg غیر قطبی + ۱۰۰ mg/kg کتامین	گروه ۳
۳۳۰۰/۰۰	۵۳۵/۳۳	۲ mg/kg دیازپام + ۱۰۰ mg/kg کتامین	گروه ۴
۲۷۳۶/۰۰	۸۰۲/۰۰	DMSO هم حجم ۱۰۰ mg/kg کتامین	گروه ۵
۱۹۹۱/۳۳	۸۰۰/۰۰	۱۰۰ mg/kg کتامین	گروه ۶



نمودار ۱- میانگین داده‌های زمان القای بیهوشی (Induction Time) در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۲- میانگین داده‌های زمان خواب (sleeping time) در گروه‌های مورد مطالعه

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه اقدام به شناخت هر چه بیشتر ترکیبات و اثرات درمانی گیاهی شاخص به نام رازک با نام علمی *Humulus lupulus* کرده‌ایم، این داروی گیاهی از دیرباز در ایران و جهان مورد استفادهٔ اطباء قرار داشته و دارای اثرات درمانی مفیدی می‌باشد. در این مطالعه گیاه رازک از لحاظ خواص تسکینی بسیار قوی مورد بررسی قرار گرفته و برای مشخص شدن قدرت اثر تسکینی این گیاه، رازک را با یک داروی شناخته شده جزء گروه بنزودیازپین‌ها، به نام دیازپام مقایسه کرده‌ایم. زادگاه گیاه رازک به طور دقیق ثبت و مستند نشده اما بنا به تحقیقاتی منشا آن آلمان ذکر شده که در سال ۱۸۶۰ از آنجا به ژاپن - چین و کره منتقل شده و کاشت شده است (۸).

در آمریکای شمالی از این گیاه به منظور مداوای درگیری-

های کلیوی، به عنوان آنتی روماتیک، و نیز در درمان

مشکلات پستان و رحم استفاده می‌شده است (۱۲). در

فارماکوپه گیاهی بریتانیا، آثار تسکین عصبی، به آن نسبت داده شده است (۱۴) *lupulon*، نوعی آنتی بیوتیک است که در این گیاه یافت می‌شود و در فارماکوپه گیاهی انگلستان به ثبت رسیده است (۴).

در *German Standard Licensee* برای چای رازک خواصی از قبیل آرام‌بخشی ذکر شده و برای مواردی از جمله بیخوابی و اختلال در خواب پیشنهاد شده است (۱۰). در تحقیقی توسط *Braun* و همکاران در مؤسسهٔ استاندارد داروهای گیاهی آلمان نیز به اثرات آرام بخشی دم کرده و چای رازک اشاره شده است (۱۰). از رازک در صنعت آجوسازی نیز استفادهٔ فراوانی می‌شود (۸) با این وجود مکانیسم دقیق خواص تسکینی رازک به طور دقیق مورد بررسی قرار نگرفته و هنوز ناشناخته است (۵ و ۶). در مطالعه حاضر، اثرات تسکینی و پیش بیهوشی فراکسیون‌های قطبی، نیمه‌قطبی و غیرقطبی رازک که در طب سنتی به‌عنوان آرام-بخش بکار می‌رفته مورد بررسی قرار گرفت، که فراکسیون

رازک می‌باشد که برای تایید این فرضیه انجام مطالعات بیشتر پیشنهاد می‌شود.

با وجود همه سوابق تاریخی استفاده از این گیاه در طب سنتی، رازک در کشور ما تا حدی ناشناخته مانده و هدف از این تحقیقات نشان دادن بخشی از آثار شگفت انگیز درمانی گیاه رازک می‌باشد.

در این مطالعه تلاش بسیاری به عمل آمد تا بخشی از آثار دارویی گیاه رازک مورد بررسی قرار گیرد و نتایج قابل قبولی

به دست آمد. عوارض جانبی خاص از گیاه ذکر شده و مصرف آن در دوران بارداری و شیردهی نیاز به مطالعات بیشتری دارد. به منظور مشخص تر شدن میزان اثربخشی فراکسیون‌های مختلف عصاره رازک، بررسی آثار ضد اضطرابی فراکسیون‌های مختلف عصاره رازک اکیداً توصیه می‌شود.

قطبی آثار معنی‌داری از خود نشان داد. نتایجی که از مطالعه ما حاصل شد، مکمل مطالعاتی است که Lee و همکاران در سال ۱۹۹۳ در بررسی آثار وابسته به دوز گیاه انجام دادند (۷) و نیز همراستار با مطالعه دیگری است که در سال ۲۰۰۵ zanoli و همکاران (۱۱)، در بررسی آثار تسکینی عصاره رازک در روی سیستم اعصاب مرکزی حیوانات آزمایشگاهی انجام دادند. این مطالعه، اولین مطالعه در سطح جهانی محسوب می‌شود که بر فراکسیون‌های عصاره رازک انجام شده و اکنون می‌توان نتیجه‌گیری کرد که بیشترین و معنی‌دارترین آثار تسکینی عصاره کامل گیاه رازک مربوط به فراکسیون قطبی آن می‌باشد.

برای روشن‌تر شدن ترکیبات و اجزای کامل این گیاه روش‌های Gas chromatography و بررسی داده‌های طیفی آن از قبیل NMR پیشنهاد می‌شود. به نظر می‌رسد که ماده موثر در آثار تسکینی گیاه رازک یعنی 2-methyl-3-buten-2-ol از اجزای موجود در فراکسیون قطبی عصاره

منابع

1. Akhondzadeh, sh, 1380, medicinal plants encyclopedia, Tehran, medicinal plants research center Jahad daneshgahi publication, Tehran, 85-177.
2. Alen, d, prigel, F.J, comprehensive direction of veterinary medicine. Translaion: mamaghani, k, khalfi, f, Tehran, azarang publication.
3. Boyle, W., 1991, official Herbs: botanical substances in the united states Pharmacopoeias 1820-19900 East Palestine, OH Buckeye Naturopathic Press.
4. Bradley, P.R., 1992, British herbal compendiu 1. Bourenemouth, British Herbal Medicine Association. Degradation of bitter acids to 2-methyl-3-buten-ol, a hop constituent with sedative-hypnotic activity. Arch. Pharm. (Weinheim) 316, 132-137.
5. Braun, R., et al. 1997, Standerzulassungen für Fertigarzneimittel – Text and Kommentar Stuttgart: Deutscher Apotheker Veriag
6. Gudmundson, c., and Lidgren, L., 1973, Dose diphenylhydantion accelerate healing of fractures in mice? Acta Orthop Scand. 44, 640-9
7. Lee, K.M., Jung, k.s., L, song, D.K., Krauter, M., Kim, H.Y., 1993, Effects of Humury lupuhis extract on the central nervous system in mice. Med, 59 (Suppl), A691.
8. Muthukumarasamy, M. Sivakumar, G. and Manoharan, G. 1991. topical phenytoin in diabetic foot ulcers. Diabetes Care; 14, 909-11.
9. Schiller, H., Froster, A., Vonhof, C., Hegger, M., Biller, A., 2006, sedating effects of Humulus lupulus . Germany, 13, 1-6.

10. Wohlfart, R., Hansel, R., Schmidt, H., 1983a. The sedative-hypnotic action of hops. 4. Pharmacology of the hop substance 2-methyl-3-buten-ol. *Planta Med.* 48, 120-123.
11. Zanolì, P., Rivasi, M., Zavatti, M., Brusiani, F., Baraldi, M., 2005, New insight in the neuropharmacological activity of *Humulus lupulus* L. *J. Ethnopharmacol.* 102, 102-106.
12. Zargari, A, 1368, iran medicinal plants, Tehran, 422-428.

Study on sedative effects of different fractions of Hop (*Humulus lupulus* L.) extract compared with diazepam in rats

**Shishehgar, R.^{1*}, Rezaie, A.², Iesa beiglou, I.³, Jalilzadeh Hedayati, M.⁴,
Ahmadzadeh, Ch.⁵, Asl Faeghi, S.⁶, Ebadi, A.R.⁵**

1-Department of Basic Science, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran

2-Department of Clinical Science, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

3-Department of Pharmacology, Tabriz Medical University, Pharmacy Faculty, Tabriz, Iran

4-Department of Chemistry, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran

5-Department of Microbiology, Tabriz Branch, Islamic azad University, medical faculty, Tabriz, Iran

6-Graduate of Agricultural Engineering, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding author's email: r_shishehgar@iauh.ac.ir

(Received: 2012/5/9, Accepted: 2012/9/6)

Abstract

Humulus lupulus is a medicinal plant which in Farsi is called "razak". The purpose of this research is, studying the sedative effects of polar, semi polar and non polar fractions extracted from Hop (*Humulus lupulus*. L) in comparison with diazepam in the animal model of Rat. For conducting this research polar, semi polar and non polar fractions extracted from Hop based on the polarity of solvent. Then study continued with the injection of obtained extracts and other medicines to different groups of Wistar breed of rats. First group was injected with 100mg/kg of Polar fraction extract the second group, with 100mg/kg of Semipolar extract, the third group, with 100 mg/kg of non-polar extract of *Humulus lupulus* the fourth group with 2 mg/kg of Diazepam the fifth group with the same volume of DMSO used as solvent of injectable medicines an the sixth group was the control group and did not receive any drug. The method of injection was Intra peritoneal (IP) form. Statistical diagrams and results showed a significant decreasing of anesthetic induction time and increasing of sleeping time of Ketamin induced anesthesia, after IP injection of the Polar fraction extract of *Humulus lupulus*. The results obtained showed that the polar-fraction extract of *Humulus lupulus* has more sufficient sedative effects than diazepam and other under studied groups.

Keywords: *Humulus lupulus*, Polar fraction, Semi-polar fraction, Non-polar fraction, Dimethylsulfoxide, Rat