

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 ۳۷-۴۴ 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 و ۸۰۰ mg/kg) بررسی شد. اثرات ضد دردی عصاره هایپریکوم با سدیم سالیسیلات به عنوان شاهد مثبت مقایسه گردید. محدوده دوز کشنده LD₅₀ حدود ۶۰۰۰ mg/kg تعیین گردید. آنالیز آماری بر حسب مورد، unpaired, paired t-test 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 و شیمیایی) و درد مزمن (شیمیایی) مؤثر می 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 به بعد شروع شده است. غالباً داروهای موجود دارای عوارض جانبی زیادی می‌باشند (۱). در حال حاضر برای کنترل درد از داروهایی نظیر داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) مانند آسپرین، استامینوفن، داروهای اپیوئیدی (Opioids) شامل مرفین، مپریدین، متادون، ترامادول، بوپرونورفین، بوترفانول، نالبوفین و داروهای دیگر از جمله ضدافسردگی‌های سه حلقه‌ای، کورتیکواستروئیدها و داروهای کمک کننده (Adjuvant analgesic) را می‌توان برشمرد (۲،۳). هرکدام از داروهای فوق به نوبه خود عوارض جانبی نامطلوبی دارند.

از ابتدایی‌ترین روشهای مقابله با بیماریها، استفاده سنتی از گیاهان دارویی بوده است. گیاهان و مواد استخراج شده از آنها جهت درمان بیماریهای گوناگون در انسان مورد استفاده قرار می‌گیرند. این امر منجر به تولید داروهای با منشأ گیاهی نظیر: مرفین، آتروپین، افدرین، کودئین، رزپین، وینبلاستین، وینکریستین و ... شده است (۴). استفاده از گیاهان دارویی سابقه طولانی در ایران و دنیا دارد (۵،۶،۷،۸). با توجه به اینکه این داروها در هنگام مصرف در حد متعادل عوارض خیلی کمتری نسبت به داروهای صنعتی دارند، از این رو توجه دانشمندان به استفاده از گیاهان دارویی معطوف گردیده است (۷،۸). یکی از راهکارهای ممکن جهت دستیابی به داروهای جدید با کاربرد درمانی بالا و اثرات محدود کننده کمتر، توجه به گیاهان و مواد طبیعی است. امروزه مطالعه گونه‌های گیاهی که بطور سنتی به عنوان ضد درد مورد مصرف می‌شوند یک استراتژی تحقیقاتی پرثمر در راه تهیه داروهای ضد درد جدید می‌باشد (۹). لذا به نظر می‌رسد مطالعه برای یافتن گیاهی با اثرات ضد دردی ضروری باشد. بدین منظور کتب مختلف طب سنتی و مراجعه به کاربری گیاهان دارویی بطور بومی، مورد نظر قرار گرفت. گیاهان متنوعی با اثرات یاد

شده مورد استفاده اند. یکی از این موارد گیاه علف چای (هایپریکوم، هوفاریقون، گل شهناز)^۱ می‌باشد که در بیشتر مناطق دنیا یافت می‌شود (۱۰). وجود گزارش‌های متعدد سنتی و بومی از اثرات ضد دردی و ضد التهابی از گیاه هایپریکوم می‌تواند اولین دلیل مطالعه بر روی اثرات این گیاه باشد (۶،۷،۸). اکثر تحقیقات علمی انجام شده بر روی عصاره هایپریکوم اشاره به خاصیت ضد افسردگی آن دارد (۱۱،۱۲). با توجه به اینکه بسیاری از داروهای ضدافسردگی بویژه ضدافسردگی سه حلقه‌ای 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) که خواص ضد دردی از آنها گزارش شده است. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات ضد دردی عصاره آبی علف چای در موش صحرایی نر بود.

مواد و روشها

حیوانات مورد مطالعه: از ۷۰ عدد موش صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۳۰ گرم برای تمام آزمایشات استفاده گردید. همچنین برای تعیین دوز کشنده از ۵۰ عدد موش سوری در محدوده وزنی ۳۴-۳۷ گرم استفاده گردید.

روش تهیه عصاره: گیاه گل شهناز در خرداد ماه ۱۳۸۰ از ارتفاع ۲۳۰۰ متری منطقه شمشک میگون واقع در استان تهران جمع‌آوری شد. بعد از تأیید علمی آن در پژوهشکده گیاهان دارویی و کد گذاری در هرابیوم (No 2002-1) دانشگاه شهید بهشتی، سرشاخه‌های گلدار گیاه جدا و با آب سرد شسته می‌شدند و سپس در درجه حرارت اتاق و سایه خشک می‌شدند. هر بار ۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده در ۱/۵ لیتر آب به مدت ۲۴ ساعت در داخل انکوباتور با دمای ثابت (۲۵ درجه) خیسانده و سپس مدت ۲۰ دقیقه جوشانیده می‌شد. پس 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 می شد و قبل از تجویز به حیوان غلظت مورد نظر از عصاره در آب مقطر تهیه می شد.

تعیین محدوده دوز قابل تحمل: برای تعیین حداقل و حداکثر دوز کشنده از عصاره های آبی هایپریکوم به صورت دوزهای افزایش یابنده (به ترتیب ۴۰۰۰، ۸۰۰۰، ۱۶۰۰۰ mg/kg) به گروهای دارای ۱۰ تا ۱۲ سوری تزریق شده و با بررسی تعداد مرگ و میر پس از ۷۲ ساعت به تفکیک تعیین گردیده است.

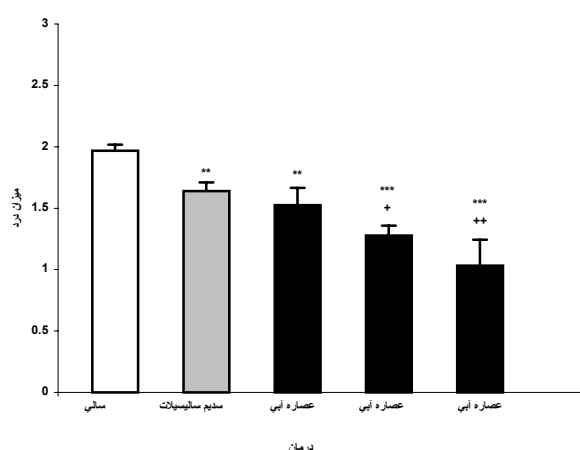
آزمون فرمالین: برای این آزمون از روش ارائه شده توسط دابیسون و دنیس (۱۹۹۷) استفاده گردید (۱۸). همه آزمون ها در فاصله ۹ صبح تا ۵ بعداز ظهر و در درجه حرارت آزمایشگاه انجام شد (23°C - 21°C) و در محیط آرام و بدون استرس بعد از تطابق نیم ساعته حیوان با محیط اطراف انجام می گرفت. ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد بوسیله سرنگ انسولین به صورت زیر جلدی به کف پای راست حیوان تزریق می گردید؛ سپس حیوان در داخل جعبه پلکسی گلاس شفاف به ابعاد $30 \times 30 \times 30$ قرار می گرفت، که در زیر آن آئینه ای با زاویه (45°) قرار می گرفت تا رفتار حیوان به خوبی قابل دیدن باشد. سپس هر ۱۵ ثانیه یکبار یک نمره به حیوان تعلق می گرفت. شدت درد حیوان بر اساس تقسیم بندی زیر به چهار درجه تفکیک گردید: صفر) حیوان بدون توجه به پای تزریق شده می نشیند یا راه می رود و یا به عبارتی روی هر دو پای خود بطور یکسان بایستد، ۱- پای حیوان با محفظه تماس داشته باشد؛ ولی حیوان وزن بدن خود را بیشتر بر روی پای سالم خود می اندازد، ۲- حیوان پای خود را کاملاً از کف سطح محفظه بلند می کند، ۳- پای تزریق گردیده را بلیسد، بگوید و یا به شدت تکان می دهد. دقایق صفر تا ۵ به عنوان فاز اول (درد حاد) و از دقیقه ۱۶ تا ۶۰ به عنوان فاز دوم (درد مزمن) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

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 (23°C - 21°C) 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 می شد و زمان ۱۰ ثانیه به عنوان cut off به منظور جلوگیری از آسیب بافتی در نظر گرفته می شد. برای هر موش زمان تأخیر عقب کشیدن دم پس از تابش نور (predrug-latency) و بعد از تزریق عصاره (post- drug- latency) اندازه گیری می شد. پاسخ ها به عنوان زمان تأخیر (TL) ثبت می شد.

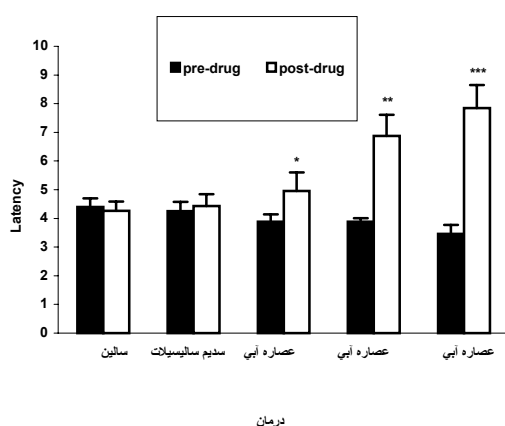
آزمون های آماری: نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ بیان شده اند. محاسبات آماری بر حسب مورد با استفاده از آزمون Paired t-test، Unpaired t-test و ANOVA یک طرفه و سپس آزمون Tukey انجام می گرفتند. $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

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 ۶۰۰۰ mg/kg 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 ۸۰۰ mg/kg) به طور وابسته به دوز در مقایسه با گروه سالین و گروه شاهد مثبت سدیم سالیسیلات



شکل ۲- اثر تزریق داخل صفاقی ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg 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.

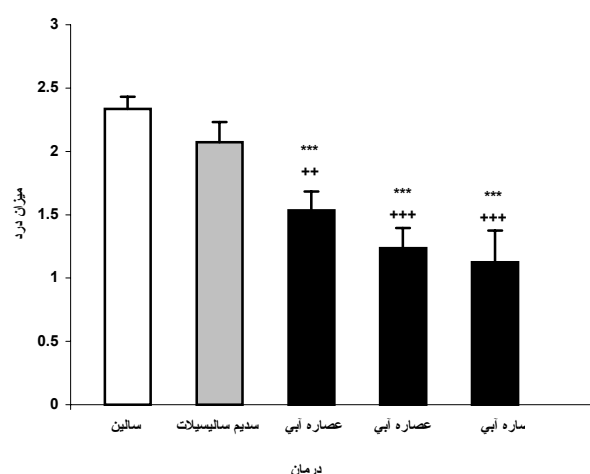


شکل ۳- تزریق داخل صفاقی دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg عصاره آبی (HP) و سدیم سالیسیلات (SS) ۳۰۰ mg/kg بر زمان تأخیر آزمون Tail flick

(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 نورروژنیک در نظر گرفته می شود (Dennis) این یافته وجود

۳۰۰ mg/kg به طور معنی داری سبب مهار درد ناشی از تزریق زیرجلدی فرمالین در فاز اول آزمون گردید (شکل ۱). بین تجویز داخل صفاقی سدیم سالیسیلات و سالین در فاز اول آزمون تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p=Ns$) (شکل ۱). تجویز داخل صفاقی عصاره آبی هایپریکوم در دوزهای (۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg) 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 ($p<0.01$) (شکل ۲). تجویز داخل صفاقی عصاره آبی هایپریکوم در فاز دوم آزمون، با دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg در مقایسه با گروه شاهد مثبت سدیم سالیسیلات سبب بی دردی قابل ملاحظه ای در فاز دوم آزمون گردید. اما دوز ۲۰۰ mg/kg عصاره با گروه سدیم سالیسیلات تفاوت قابل ملاحظه ای نداشت (شکل ۲). تجویز داخل صفاقی سدیم سالیسیلات در مقایسه با سالین در فاز دوم آزمون تفاوت معنی داری داشت ($p<0.01$) (شکل ۲).



شکل ۱- اثر تزریق داخل صفاقی دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg عصاره آبی (HP) و سدیم سالیسیلات (SS) ۳۰۰ mg/kg بر فاز اول آزمون فرمالین (معنی دار بودن تفاوت بین گروه) (آزمون آماری: آنالیز واریانس یک طرفه و سپس Tukey)

اثر مرکزی پیشنهاد شده توسط کومار^۱ 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 هایپرکوم مطرح نمود، که این اثرات ممکن است در ارتباط با افزایش سطح مونوآمین های نظیر سروتونین، نورآدرنالین (۱۱،۱۲) ناشی از عصاره 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^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که عصاره هایپرکوم 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 هایپرکوم در فاز دوم آزمون فرمالین وجود دارد، اثر مهاری عصاره بر COX-1 و 5-LO می باشد. مشاهده شده است که بعد از رهائش 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 لیپوآکسیژناز می باشند اتفاق می افتد. مهار کننده های 5-LO مانع تولید لوکوترین های D4 و B4 می شوند. از طرف دیگر رهائش 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 کننده های 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 رهائش 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 کننده های 5-LO در تولید متابولیت های اسید آراشیدونیک، و نقش متابولیت های نظیر لوکوترین 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 و 5-LO را در فاز دوم آزمون مطرح نمود.

جهت بررسی اثرات عصاره هایپرکوم 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 فزیک 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^۳ 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 هایپرکوم 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 رهائش لوکوترین B4، اثرات ضد دردی عصاره آبی و هایپرکوم 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

References

1. Gross GA, Sticher O. New irioid glycoside and a monoterpen 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 pharmacological basis of therapeutics*. McGraw- Hill, 2001
4. Murry MD, and Brater DC. Renal toxicity 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 Amazonian caboclos 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: موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۱۳۷۰، صص: ۲۷، ۳۱، ۳۵، ۵۲، ۳۱۱
- ۷- زرگری، ع. گیاهان دارویی، چاپ چهارم، جلد چهارم، تهران: موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۱۳۶۹، صص: ۱-۳ و ۷۷-۸۲
- ۸- حسین، م.ح. معارف گیاهی، دفتر نشر فرهنگ اسلامی، جلد پنجم، چاپ اول، ۱۳۷۳، صص: ۲۸۲-۲۹۵
9. Elisabetsky E, Amodor TA, Albuquerque RR, Nunes DS, Carvalho ACT. 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
- عصاره آبی و در آزمون های فرمالین و Tail flick و گزارش اخیر راجع به عصاره هیدروآتانولی هایپریریکوم هندی در آزمون Tail flick و Hot plate. می تواند تأییدی بر پیشنهاد کومار (۱۰) را مبنی بر اثرات ضد درد مرکزی برای عصاره هایپریریکوم را همچنان مطرح دانست.
- نتایج حاصل یک پشوانه 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 و مرکزی، دارد و در درد حاد نیز بهتر از سدیم سالیسیلات عمل می کند، پیشنهاد می گردد که از عصاره تام به سمت عصاره گیری جزئی تر رفته تا در نهایت ماده مؤثره شناسایی شود و مطالعات دقیق در زمینه فارماکولوژی و سم شناسی بر روی این ماده مؤثره صورت پذیرد.
11. Capali G, Crupi A, Firezuli F, Inferrera G, Squadri F, Parisi A, and et al. Serotonin, norepinephrine and dopamine involvement in the action of *Hypericum perforatum*. *Pharmacopsychiatry*, 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: 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, Dinger mann T, Muller WE, Steinhin hilber 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, Dinger mann T, Muller WE, Steinhin hilber 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. 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