

نگرشی بر روش‌های تجربی در بررسی اثر گیاهان دارویی: از پژوهش تا رویکرد

دکتر نریمان مصفا

گروه ایمنونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

آنها پی بردند که شیمی هر دارو بخش اصلی فارماکولوژی آن است. دانستن ساختمان شیمیایی و طرز عمل ترکیبات دارویی، برای فهم واکنش‌های احتمالی آنها در بدن لازم است. تکمیل این اطلاعات نیاز به زمان داشته و طب مدرن با تکیه بر همین منابع پایه‌ریزی گردید (۵-۳).

معمولا قبل از انجام مطالعات تجربی و آزمایشگاهی در زمینه فهم مکانیسم‌های عملکرد یک گیاه دارویی که در زیر به شرح آن می‌پردازیم، لازم است بخش‌های مختلف اندام‌های گیاه مورد بررسی دقیق فیتوشیمیایی قرار گیرد. ارجاع دادن این ساختارها به سایر مقالات در منابع خارجی نه تنها درست نیست، بلکه اشتباه نیز می‌باشد. هر گیاهی به خصوص طی با بوم‌شناسی خاصی واجد یک ماده موثره آن هم با غلظت‌های متفاوت می‌باشد و باید با تکنیک‌های دقیق و پیشرفته نظیر کروماتوگرافی اسپکتروفتومتری و روش‌های طیف‌سنجی مانند NMR و جرم‌سنجی مانند HPLC بخشی از ترکیبات شناخته شده را در مقایسه با استانداردهای موجود با تعیین میزان دقیق درمقیاس‌های رایج مشخص نمود. پروتئومیکس نیز به عنوان روشی نوین در تخلیص و جداسازی و تعیین هویت ترکیبات تازه یافت شده ولی نامشخص پپتیدهای گیاهی به این مجموعه اضافه گردیده است (۶، ۷).

اصلی‌ترین آزمون‌های به کار گرفته شده در تجربیات آزمایشگاهی شامل موارد زیر هستند:

۱- مطالعات درون‌تنی یا *in vivo* که در اکثر موارد با استفاده از حیوانات آزمایشگاهی صورت می‌پذیرند. گاهی اوقات نیز در فرد تحت آزمایش، در صورت اطمینان از حداقل آسیب، مطالعه و بررسی صورت می‌پذیرد.

گیاهان دارویی در طبیعت یکی از نعمت‌های بزرگ الهی می‌باشند. آثار به جای مانده از تمدن‌های اولیه بشری، حکایت از قدمت شصت هزارساله طب گیاهی دارد (۱). گیاهان دارویی منابع عظیمی برای به دست آوردن مواد دارویی می‌باشند. بقراط و جالینوس از مفاخر بزرگ و بنیان‌گذاران نظام پزشکی علمی در جهان درمان بیماری‌ها را با استفاده از گیاهان دارویی پایه‌ریزی نمودند. محمدبن زکریای رازی استاد و طبیب بیمارستانی آثار برجسته‌ای تحت عنوان جامع‌الکبیر (کتاب طب الحاوی) در ۲۴ جزء و نیز طب‌المنصوری را در زمینه نسخه‌های تهیه و تجویز داروهای با منبع گیاهی به رشته تحریر درآورد. همچنین ابوریحان بیرونی از مشاهیر بلند آوازه ایرانی از نخستین دانشمندانی بود که فارماکوپه با فهرست داروهای گیاهی را در جهان تدوین نمود. کتاب قانون در طب تالیف حکیم بوعلی سینا که تالیف کلاسیک از طب سنتی است، یکی دیگر از منابع غنی و سرشار از اطلاعات گیاهان دارویی می‌باشد. امروزه بر حسب علاقمندی انسان‌ها مطالعه متون مربوط به گیاهان دارویی نه تنها آموزنده، بلکه لذت‌بخش نیز می‌باشد (۱، ۲).

بسیاری دیگر از دانشمندان علوم دارویی، براساس دانش و اندیشه علمی زمان خود که نشانگر وسعت اطلاعات آنان بوده، در زمینه شناخت گیاهان دارویی که منطبق با تاریخ طبیعی هر ملت است، به گردآوری نظریات خود و دیدگاه‌های سایر دانشمندان پرداخته‌اند که هر یک از آنها، مرجع و استاندارد در نخستین حوزه فارماکولوژی آن روزگار به شمار می‌رفتند.

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی گروه ایمنونولوژی (e-)

mail: mosaffansar@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۶/۲۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۷/۱۹

جای خود بسیار حائز اهمیت است، به دلیل اثرات وسیع فیزیوپاتولوژیکی که در حیوان به بار می‌آورد منجر به کسب داده‌های علمی غیرمعتبر و نامناسب می‌گردد. به خصوص اثرات ناشی از درد تزریق ماده که معمولاً به دلیل حجم زیاد و ناخالص از عناصر و ذرات معلق، موجب برانگیخته شدن واکنش‌های التهابی در حیوان گردیده و تغییرات بسیاری را در پارامترهای بیولوژیک حیوان اعمال می‌نماید. از طرفی، گوناگونی بیولوژیک بین حیوانات به نحوی است که پاسخ‌های آنها به طرز غیرقابل اجتناب از یکدیگر متفاوت می‌باشد. مثلاً می‌توان به آزمون‌های دوز کشنده و یا دوز موثر (LD50 یا ED50) داروها اشاره نمود. چنانچه دارو با دوز LD50 تجویز شود، تنها نیمی از حیوانات می‌میرند و نیمی دیگر زنده می‌مانند (۹). معمولاً ارزیابی این نتایج بدون در نظر گرفتن نحوه تشخیص، تعیین درجه‌بندی میزان رنج حیوان صورت می‌پذیرد و نگارنده مقاله به سرعت از داده‌های اصلی عبور می‌کند. بنابراین یافته‌ها از لحاظ علمی و انسانی قابل قبول نمی‌باشند (۱۲-۱۰).

از آنجایی که ارائه و توصیف کامل در مورد پروتکل‌های کار با حیوانات آزمایشگاهی در این نوشتار میسر نمی‌باشد، به دلیل طیف وسیع اعمال تجربی بر حیوانات، لازم است مروری موثر بر روش‌های تهاجمی علی‌الخصوص مطالعه اثر داروها صورت گیرد و قوانین مربوطه در آزمایشگاه‌ها رعایت گردیده و یا مجدداً مورد بازبینی و بازنگری قرار گیرد.

جدا از بحث رعایت اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و پرهیز از هرگونه تحمیل درد بر آنان این سؤال مطرح می‌شود که چگونه است که دارویی می‌تواند از طریق خوراکی اثرات درمانی خود را اعمال نماید و هدف نهایی بررسی نیز همین است، ولی در شرایط تجربی، مسیر تزریقی آن هم محوطه صفاقی که سرشار از پاسخ‌های دفاعی التهابی ذاتی و حتی اکتسابی در مقابل هر عامل خارجی می‌باشد، به عنوان روش تجویز دارو انتخاب می‌گردد. معمولاً تزریق داخل صفاقی برای ایمنیزاسیون روش مناسبی است و در این گونه مطالعات، این شبهه به وجود می‌آید که تغییرات فیزیولوژیک و شاید ایمنونولوژیک منجر به تولید نتایج گوناگون گردیده و با پدیده اثرگذاری دارو مورد اشتباه قرار گیرد. آیا امکان این وجود دارد که به جای تزریق ماده گیاهی که روشی نامأنوس و غیرطبیعی برای مطالعه اثرات آن است، با روش خوراکی جایگزین گردد. در سال‌های اخیر تحول عظیمی در زمینه تجویز خوراکی داروها به همراه جیره غذایی صورت پذیرفته که نگارنده چند نمونه موفق آنها را در چند گزارش به چاپ رسیده ملاحظه

۲- تجربیات برون‌تنی (داخل لوله‌ای) یا *in vitro* که زیر ساخت‌های آن و مواد آزمایشگاهی به کار گرفته شده در شرایط مصنوعی شکل می‌گیرد و تمامی شرایط محیط آزمون در اختیار فرد آزمایش کننده می‌باشد.

۳- بررسی‌های *Ex vivo* که شامل برقراری شرایط محیطی مشابه آنچه که در داخل بدن ارگانیسم وجود دارد و بافت یا سلول زنده از شرایط درون تنی به آزمایشگاه منتقل شده و تحت شرایط و امکانات آزمایشگاهی و رعایت استریلیزاسیون بدون هیچگونه تفاوتی تا مدت ۲۴ ساعت مورد بررسی و مطالعه قرار می‌گیرد. تجربیات طولانی‌تر از این زمان بر روی سلول‌های زنده یا بافت باید *in vitro* تلقی شوند. در این وضعیت حداقل تغییر شرایط طبیعی رخ می‌دهد (۸).

بسیاری از گزارشاتنی که در مقالات منتشره در مجلات معتبر با رتبه علمی- پژوهشی ملاحظه می‌گردد، مربوط به خصوصیات بیوشیمیایی، بیولوژیک و آثار فیزیولوژیک یک گیاه دارویی است. در کنار عناصر تشکیل دهنده مشخص آن فراورده گیاهی، مواردی بصورت نامشخص گزارش گردیده که می‌تواند بخشی از خواص دارویی آن گیاه را تشکیل دهد که متأسفانه در اکثر موارد پی‌گیری نگردیده است. در مورد تجربیات آزمایشگاهی مواردی همچون مطالعه خواص ضد میکروبی برخی فراورده‌ها به صورت آزمون‌های مشابه با آنتی‌بیوگرام و یا تعیین حداقل غلظت مهاری ملاحظه می‌گردد که متأسفانه بسیاری از آنها در حد همان شرایط تجربی باقی مانده و مانند اکثر کوشش‌های مشابه به صنعت و جامعه راه نیافته است. می‌توان اذعان نمود که یکی از همین موارد مربوط به عدم شناخت کافی و دقیق ماده موثره گیاه است. در مورد تجربیات نیمه آزمایشگاهی و نیمه حیاتی که می‌تواند اساس بسیاری از مطالعات بعدی را پایه ریزی نماید، به مورد صحیح و تعیین شده‌ای برخورد نمی‌گردد. اما بررسی‌های درون‌تنی که بخشی مهم از این نوشتار را به خود اختصاص می‌دهد و انگیزه اصلی در ارائه مباحث مطروحه می‌باشد، مربوط به اجرای روش‌ها در حیوانات آزمایشگاهی است.

تزریقات مکرر از انواع عصاره‌های تهیه شده، به خصوص از نوع داخل صفاقی که یکی از دردناک‌ترین روش‌های تجویز داروست، متأسفانه و بنا به مقتضیات، اکثراً مقبول محققان علوم گیاهان دارویی در بررسی‌های تجربی و در شرایط زنده قرار گرفته است. این روش به عنوان یک دیسترس ذهنی و تحمیلی بر حیوان عمل می‌نماید و منجر به بروز پاسخ‌های مرتبط با فعالیت محور استرس می‌گردد. این روش نوظهور، جدا از مسئله اخلاق در کار با حیوانات آزمایشگاهی که به

با کمترین تغییرات به خصوص از نوع اسموتیک یا سمی دارند. فرضیه وابسته بودن به دوز دارو، در شرایط *in vivo* یا *Ex vivo* کمی قابل قبول و منطقی است، ولی در مورد سلول‌های تحت کشت می‌توان اذعان داشت که دوز افزاینده دارو، به راحتی در شرایط انکوباسیون دچار تراکم و توده‌ای شدن می‌گردد و مسلماً قادر به عبور از غشاء سلول نمی‌باشد. ترکیبات حاوی ویتامین‌های طبیعی در عصاره‌های گیاهی، قاعداً در طول فرآیند طولانی تهیه آنها (حرارت- خشکی، امتزاج با حلال‌ها) مسلماً دچار کاهش شدید می‌گردد و به ندرت می‌توان نتایج حاصله را به آنها نسبت داد (۸، ۹). اینکه عوامل دارویی با چه مکانیسمی منجر به فعالیت ساختار ژنومیک سلول و یا تغییر فنوتیپ سلول می‌شود، همیشه مورد سوال می‌باشد. باید عوامل واسطه‌گر مثل انواع مولکول‌های دخیل در ارسال پیام داخل سلولی نیز مورد سنجش قرار گیرند که متأسفانه تا به امروز موارد فوق در هیچ گزارشی ارائه نگردیده است. مسلماً هرچه قدر ماده مورد بررسی ناخالص‌تر پیچیده‌تر و بدون الگوی خاص از عناصر موثره باشد، بررسی اثرات مولکولی آن نیز دشوار بوده و تفسیر و توجیه نتایج به سختی قابل درک می‌گردد. تا به امروز موارد فوق در کمتر گزارشی ارائه گردیده است.

با راه اندازی مراکز ویژه و تخصصی و پژوهشی در علوم طب سنتی می‌توان ترویج این فرهنگ را در بین اطباء هموار نمود. چنانچه علم و دانش گیاه درمانی همراه با تجربیات آزمایشگاهی دقیق نباشد و بهره‌جویی از نعمات بیکران طبیعت با علوم و تکنولوژی مدرن تلفیق نگردد، موجب آسیب به مردم و در نتیجه نظام دارویی مرسوم می‌گردد و نمی‌تواند به نتیجه‌ای قطعی و موثر دست یابد. بهره‌گیری از مزایای بیکران گیاهان دارویی و طب سنتی باید مبنای اصولی و منطقی داشته باشد.

خوشبختانه با تأسیس گروه‌های آموزشی و پژوهشی طب سنتی و گیاهان دارویی در اکثر دانشگاه‌های علوم پزشکی کشور و راه‌اندازی مراکز تحقیقاتی و پژوهشکده‌های گیاهان دارویی می‌توان به آینده روشنی در کاربردهای روزافزون این منابع سرشار امیدوار بوده و با کوشش‌های اساتید و کارشناسان و دانشجویان علاقمند شاهد هرچه نزدیک‌تر شدن متدولوژی‌های تحقیق به واقعیات نهفته در داروهای گیاهی باشیم.

هم اکنون نتایج فعالیت‌های پژوهشی دانشمندان علوم گیاهی و داروشناسی طب سنتی در چندین فصلنامه با عناوین رویکردهای گیاهان دارویی انتشار یافته و با وجود بیش از ده‌ها

نموده است. اتفاقاً حیوانات آزمایشگاهی به خصوص رت سازگاری خوبی با دریافت خوراکی داروها دارند و این سیر تطابق بیشتری با واقعیات کاربردی آن داروی گیاهی پیدا می‌نماید. یکی از مقالات پژوهشی در همین فصل نامه و در یکی از شماره‌های اخیر نیز با استفاده از روش خوراکی به صورت کاملاً طبیعی، مطالعه دقیقی را بر روی یک فرآورده گیاهی دریایی به انجام رسانده و نتایج معتبری را نیز ارائه نموده است.

نکته دیگری که در بسیاری از مقالات مورد توجه قرار می‌گیرد. عدم ارائه یک مدل تجربی مناسب می‌باشد. آیا می‌توان بدون ایجاد یک مدل هیپرکلسترومیک و هیپرلیپیدمیک اقدام به بررسی اثرات متابولیک یک داروی گیاهی نمود. آیا می‌توان مدل دیابتیک با تجویز استرپتوزوتوسین ایجاد نمود که سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس پانکراس را به طور موقت تخریب نماید و بدون تغییر در رژیم غذایی حیوان مترصد تحقیق گردید و سپس اثرات کاهش دهنده قند خون را به یک داروی گیاهی تجویزی نسبت داد؟ سوالات بسیاری در این مورد مطرح می‌شود (۶، ۸).

معمولاً فرضیات با متدولوژی تحقیق هم‌خوانی ندارد. در اکثر گزارشات مطرح نمودن پاره‌ای از حدسیات و فرضیات به عنوان مکانیسم عملکرد داروی گیاهی عملی نه چندان خوشایند و غیرآکادمیک می‌باشد. نتایج بدون ارائه مکانیسم اثر و نسبت دادن به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و استفاده از لغاتی همچون «احتمالاً» و «شاید» زبیده یک مطالعه تجربی نمی‌باشد.

همچنین نکات قابل بحث در مطالعات *in vitro* به خصوص به کارگیری از لاین‌های سلولی از نوع سرطانی و یا غیره در برخی از تجربیات به چشم می‌خورد. البته جایگزین نمودن روش‌های کشت سلولی هدفمند به جای قربانی نمودن حیوانات و پرهیز از تلفات آنها، جزئی از پروتکل‌های توصیه شده به جای کار با حیوانات آزمایشگاهی است. ولی آن هم مشکلات بسیاری دارد. چگونه می‌توان اطمینان حاصل نمود که رده سلولی مورد استفاده، استعداد پذیرش و نفوذ آن داروی گیاهی را حتی در سطوح غشایی خود دارد. فرآیند جذب و دخول دارو آن هم انواع عصاره‌های آبی، الکلی چگونه صورت می‌گیرد؟ در این حالات، بیشتر اهداف درباره اثر ضدسرطانی یا ضدتکثیر سلول مورد هدف است. با اجرای چند روش، میزان مرگ سلولی و یا حداکثر نوع مرگ سلولی (نکروز یا آپوپتوز) ارزیابی می‌شود. معمولاً سلول‌های تحت کشت چه از نوع سرطانی و یا به صورت رده‌های نامیرای سلول بافتی، در شرایط آزمایشگاه حساسیت بسیار زیادی به مواجهه

الکتروفورز در ژل، بخش مورد نظر را برای تجربیات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار داد، منجر به اخذ نتایج با ارزش تری می‌گردد. مسلماً کوشش‌های بنیادین و مطالعات معتبر تجربی می‌تواند در تقویت بستر غنی از گیاهان دارویی که در کشورمان به صورت زیستگاه وسیع بومی موجود است، یاری نماید.

از آنجایی که اخیراً شاهد چاپ رو به رشد مقالات در زمینه گیاهان دارویی در مجله وزین پژوهش در پزشکی می‌باشیم که اکثراً بر مبنای اصول تجربی و طراحی آزمایشگاهی تدوین و نگارش گردیده‌اند بر آن شدم تا در جایگاه یک معلم آزمایشگاه و فعال در امر کار با حیوانات آزمایشگاهی به طور تجربی، این موضوع را مورد بحث و نقد قرار دهم. خوانندگان عزیز می‌توانند به منظور کسب اطلاعات بیشتر به منابع و مراجع زیر دسترسی حاصل بفرمایند.

پایگاه اینترنتی و حتی وبلاگ‌های شخصی متعلق به افراد علاقمند، کاوش و جستجو در یافتن نمونه‌های جدید رو به افزایش می‌باشد. امید است تا مقالاتی با معرفی کامل گیاه و بوم‌شناسی دقیق آن و شرح کامل از اجزاء متشکله دارویی انواع گیاهان به مرحله انتشار راه یافته و با تأکید بر تطابق علمی و عملی یافته‌ها با مبنای کاربردی در علوم پزشکی و دارویی، کمک موثری در رفع نیازهای دارویی بیماران و نیز با هدف پیشگیری از بسیاری از وقایع ناگوار و مخاطره‌آمیز سلامتی، به جامعه ایرانیان مشتاق به احیای این فرهنگ اصیل و ملی صورت پذیرد.

روش‌های پیشنهادی در مقالات و منابع جدید، تأیید و تعیین دقیق ماده مؤثر گیاه دارویی است که می‌توان با بهره‌گیری از انواع روش‌های NMR کروماتوگرافی و به خصوص تکنولوژی HPLC، به میزان دقیق آنها دسترسی یافت و چنانچه بتوان با روش‌های تخلیص و جداسازی مانند کروماتوگرافی ستونی و یا

REFERENCES

۱. پایگاه جامع علوم و فنون گیاهان دارویی ایران. قابل دسترسی در: <http://www.scitech.IRan.com>.
۲. شبکه تحقیقات گیاهان دارویی. معاونت تحقیقات و فناوری وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی. قابل دسترسی در: http://www.mprn.ir/subject.php?sub=5display_news.php?id=694.
3. Weiss RF, editor. Herbal medicine. 6th edition. Beaconsfield, UK: Beaconsfield publication; 2002. p.1-11.
4. Alastair J, Wood J. Herbal Remedies. N Eng J Med 2002; 347: 2045-56.
5. History of Medicinal plants. Available from: http://www.botanical-online.com/english/history_of_medicinal_plants.
6. Research and Development relating to medicinal plants (collection, review, analysis and future guideline), September 2004. Available from: www.hujra.org.
7. Medicinal plants Research Network. Available from: http://www.mprn.ir/subject/php?sub=5/display_News/php?id=694.
8. National Laboratories/ Institutes under the CSIR. Available from: <http://www.education.nic.in/cd50geass/12/8i/6R/816Roko1.htm>.2011.
9. Gupta VK, Sharma SK. Plants and natural antioxidants. Natural Product Radiance 2006; 5: 326-34.
10. Animal experimentation: a student guide to balancing the issues. Australian and Newzealand council for the case of animal in research and teaching (ANZCCART). Accessed December 12, 2007.
11. Ryder RD, editor. Animal revolution: changing attitudes towards speciesism. New York: Berg publisher; 2000. p.54.
12. European convention for the protection of laboratory animal used for experimental another scientific purpose.