مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره پنجم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۵، ۲۷۸-۲۷۳

مقایسه اثرضددردی عصاره رازک با مرفین در موش سوری

سیدحسن حجازیان[۱] سیدمجید مهدوی[۲]

دریافت مقاله: ۸۳/۱۱/۲۱ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸٤/۸/۱۸ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۵/۱۰/۲٤ پذیرش مقاله: ۸۵/۱۰/۲۸

چکیده

سابقه و هدف: رازک از خانواده گیاهان دارویی و از تیره شاهدانه می‌باشد که به صورت وحشی از زمان‌های دور در اروپا و آسیا و شمال آمریکا رویش داشته است. در فارماکوپه دارویی، به عنوان ضد اضطراب، ضددرد، آرام‌بخش و برطرف کننده فشارهای عصبی از آن یاد شده است. این ماده دارای ترکیباتی چون پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، لیپیدها و گلوکز، پکتین، موم و ترکیبات استروژنی می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضددردی عصاره رازک و مقایسه این اثر با مرفین می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، پس از آماده کردن عصاره آبی رازک به روش دم کرده، اثر ضددردی آن با دوزهای۵ /۰ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین با استفاده از آزمون فرمالین در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت. این آزمون یکی از آزمون‌های استاندارد است که جهت ارزیابی درد در مدل حیوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش تزریق فرمالین منجر به پاسخ دو مرحله‌ای درد شده که مرحله سریع و زودگذر اولیه با یک دوره تأخیری و تونیک دنبال می‌شود.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد در حالی که رازک با دوز ۸mg/kg در موش سوری بر پاسخ اولیه درد اثری نداشته اما بر پاسخ تأخیری آزمون فرمالین در فاصله ۱۵-۶۰ دقیقه مؤثر است. این اثر ضد دردی در حد فاصل بین اثر مرفین با دوز ۰/۵ تا mg/kg ۱ قرار داشته ولی با هیچ یک از دوزهای مرفین تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

نتیجه‌گیری: شواهد نشان می‌دهد که تعدیل درد می‌تواند از طریق سیستم‌های متعددی صورت پذیرد. ما با توجه به وجود استروژن در رازک و تأثیر ضد دردی و ضد التهابی آن می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که این ماده ممکن است از طریق اثر استروژن و مکانیسم مهار سیکلواکسیژناز تأثیرات خود را ایفا نموده باشد.

واژه‌های کلیدی: درد، آزمون فرمالین، رازک، مرفین

مقدمه

درد، تجربه ناخوشایند بسیار فراگیری است که هر فرد در طول زندگی خود بکرات با آن مواجه می‌شود و از این حیث تعجب‌آور نیست که بشر همواره در پی یافتن راه‌هایی جهت مقابله با آن بوده است. از ابتدایی‌ترین روش‌های مقابله با درد و تسکین آن، استفاده از گیاهان دارویی است که در طب دنیا و ایران سابقه طولانی دارد با توجه به این که مصرف داروهای گیاهی در حد متداول، خطرات کمتری نسبت به داروهای

۱- (نویسنده مسؤول) مربی و عضو هیأت علمی گروه آموزشی فیزیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یزد
تلفن: ۰۳۵۱-۸۲۲۹۵۰۰، فاکس: ۰۳۵۱-۸۲۴۷۰۸۴، پست الکترونیکی:hejaziansh@yahoo.com

۲- کارشناس آزمایشگاه، گروه آموزشی فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یزد

صناعی دارد، لذا توجه محققین را به استفاده از آن معطوف شده است. یکی از این داروها که به عنوان یک عامل ضددرد از آن یاد شده است، گیاه رازک (HOPS) می‌باشد که از خانواده شاهدانه (Cannebinaceae) با نام علمی Humulus lupulus می‌باشد. ماده مؤثره آن در میوه گیاهی به نام Humulus یا HOPS بوده که از تیره گیاهان Moracea به دست می‌آید [۱] و دارای خاصیت ضدتوموری و اثرات هورمونی است [۲] و با توجه به محلولیت آن در آب و اثرات تقطیری، تغییراتی در دستگاه گوارش به وجود نمی‌آورد [۳]. این ماده هم‌چنین دارای اثر آرام‌بخشی بوده و در ایجاد خواب آلودگی مؤثر است [۴]. ترکیب رازک و سنبل‌الطیب به طور محسوس و متناوب با بنزودیازپام برای معالجه بی‌خوابی غیر عصبی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۵].

رازک بر روی سیستم عصبی اثر داشته و باعث شل کنندگی و آرام‌بخشی می‌گردد. دارای اثر خواب آوری است و مخصوصاً در بی خوابی مؤثر است [۶]. مواد متشکله اصلی گیاه رازک را ترکیبات رزینی، روغن‌های فرار و ترکیبات پلی‌فیلی تشکیل می‌دهند. مهم‌ترین ترکیبات اولئورزینی رازک، اسیدهای تلخ آلفا و بتا می‌باشد که شامل هومولون، کوهومولون، ارهوموولون، لوپولون، کولوپولون و ادلوپولون می‌باشد. میزان روغن فرار رازک ۰/۳-۱٪ می‌باشد که مهم‌ترین اجزاء متشکله آن آلفا-هومولون، بتامیرسن و فازنرن است. سایر ترکیبات موجود در رازک شامل پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، لیپیدها، اسیدهای چرب، قندهایی نظیر گلوکز و فروکتوز، پکتین، املاح، موم و ترکیبات استروژنی می‌باشد [۸-۷].

لذا با توجه به گزارش‌هایی که در خصوص اثر آرام بخشی این گیاه [۷، ۵-۳، ۱] وجود دارد و از آن جایی که عصاره این گیاه در نوشیدنی‌های الکلی و غیرالکلی استفاده داشته و یکی از ترکیبات مهم دلستر و ماءالشعیر می‌باشد، بر آن شدیم تا با یک تشخیص علمی و بنیادی به وسیله یک مطالعه تجربی، اثر ضددردی این گیاه را در موش سوری مورد مطالعه قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

الف- تهیه عصاره آبی: ۴۰ گرم گیاه خشک و ساییده که به نسبت ۱ به ۵ آب، یعنی ۴۰ گرم گیاه را به ۲۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه نمودیم. به روش دم کرده در ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت دادیم. سپس ظرف محتوی گیاه را بر روی حمام بخار قرار داده و ضمن هم زدن‌های مکرر به مدت نیم ساعت در این حرارت باقی نگه داشتیم و سپس آن را به صورت گرم صاف کردیم و عصاره آن را به میزان ۸mg/kg تهیه نمودیم.

ب- نوع تحقیق و گروه‌بندی حیوان‌ها: این تحقیق از نوع تجربی است که بر روی۲۰ سر از موش‌های نر سوری با وزن تقریبی ۲۵-۲۰ گرم که در یک محیط تغذیه‌ای و روشنایی یکسان قرار داشتند و به روش تصادفی انتخاب شدند، انجام گرفت. موش‌های سوری به چهار گروه ۵ تایی کنترل [۹] و شاهد تقسیم شدند. مقدار ۱ میلی‌لیتر نرمال سالین به موش‌های گروه کنترل، ۰/۵mg/kg از مرفین به موش‌های گروه شاهد I، ۱mg/kg از مرفین به موش‌های گروه شاهد II، ۸mg/kg از عصاره آبی رازک [۱۰] به موش‌های گروه آزمون به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

ج- آزمایش فرمالین: در آزمایش فرمالین پس از قرار دادن هر حیوان در دستگاه آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه، به کف پای هر حیوان به مقدار ۲۰ میکرولیتر فرمالین ۲٪ به عنوان محرک دردزا به صورت زیر جلدی تزریق شد و پاسخ هر حیوان را به این محرک به مدت یک ساعت مشاهده و ثبت گردید و هر ۱۵ ثانیه یک بار، شدت درد ایجاد شده امتیازدهی شد. به این صورت که اگر حیوان پای تزریق شده را همانند پای تزریق نشده روی زمین بگذارد، امتیاز صفر و اگر پای تزریق شده را روی زمین گذاشته و به آن تکیه ندهد، امتیاز ۱ و اگر پای تزریق شده را بالا نگهدارد، امتیاز ۲ و اگر آن را لیس زده و یا گاز بگیرد، امتیاز ۳ داده می‌شود و سپس در هر ۵ دقیقه امتیازات معدل‌گیری شده و میانگین آن به صورت اندازه درد برای هر حیوان محاسبه و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت .

د- تجزیه و تحلیل آماری: در هر سری آزمایش، میانگین و انحراف معیار پاسخ‌های بدست آمده در ۵ سر موش ثبت شد. جهت تعیین وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه‌های مختلف که غلظت عصاره رازک رادریافت کرده‌اند از روش آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی (TOKEY) استفاده شد و اختلاف ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار در نظر گرفته شد.

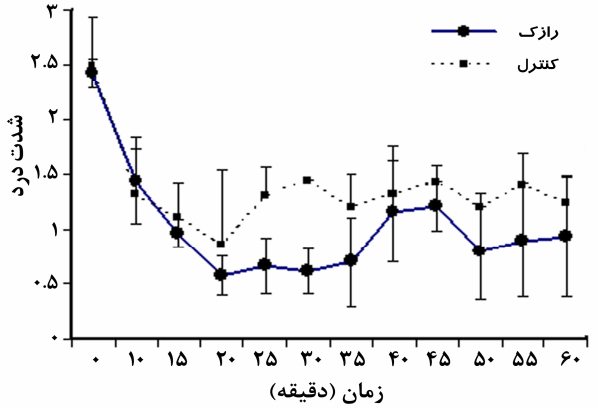
نتایج

یافته‌های تحقیق که بر روی گروه‌های ۵ تایی از موش‌های سوری صورت گرفته، دو دوره زمانی را نشان می‌دهد: به طوری که دوره اولیه سریع و زودگذر بوده و تا ۱۰ دقیقه ادامه می‌یابد. دوره تأخیری و ثانویه که از ۱۵ تا ۶۰ دقیقه طول می‌کشد نشان دهنده عدم تأثیر رازک بر شدت درد ناشی از فرمالین در فاز اول درد در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) است و تفاوت معنی‌داری را در آن نشان نمی‌دهد که بیانگر این مطلب است که بر دردهای فازیک مؤثر نیست اما تفاوت رازک با نرمال سالین در فاز دوم درد که از ۱۵ تا ۶۰ دقیقه محاسبه شده است قابل توجه بوده به طوری که میانگین شدت درد در موش‌های گروه کنترل ۱/۳۳±۰/۱۸ و در گروهی که عصاره رازک را دریافت نموده‌اند میانگین شدت درد به ۰/۸۹±۰/۲۷ تقلیل یافته است ($p=۰/۰۰۴$) این تغییرات در جدول ۱ نشان داده شده است.

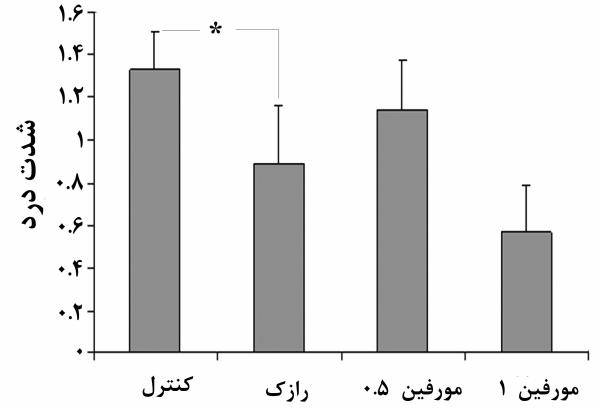
جدول ۱: میانگین شدت درد در هر ۵دقیقه به مدت ۱ ساعت در پاسخ به آزمون فرمالین در گروه‌های مختلف

گروه / زمان دقیقه	رازک X ± SD	کنترل N.Salin	مقایسه کنترل بارازک P.V	مرفین ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم X ± SD	مقایسه مرفین ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم با رازک P.V	مرفین ۱میلی گرم بر کیلوگرم X ± SD	مقایسه مرفین ۱میلی گرم بر کیلوگرم با رازک P.V
۵	۲/۴۲±۰/۱۲	۲/۴۸±۰/۴۶	۱	۲/۱۰±۰/۴۹	۰/۲۶	۲/۱۹±۰/۲۳	۰/۸۸
۱۰	۱/۴۴±۰/۴	۱/۳۳±۰/۴۳	۰/۹۸	۰/۹۲±۰/۴۵	۰/۳۴	۰/۵۱±۰/۲۹	۰/۱۰
۱۵	۰/۹۶±۰/۱۲	۱/۱۷±۰/۳	۰/۱۸	۰/۹۱±۰/۹۰	۰/۴۸	۰/۳۲±۰/۲۰	۰/۰۰
۲۰	۰/۵۸±۰/۱۸	۰/۹۶±۰/۶۸	۰/۲۱	۱/۴۷±۰/۴۲	۰/۰۰	۰/۵۸±۰/۱	۰/۴۸
۲۵	۰/۶۷±۰/۲۵	۱/۳±۰/۲۶	۰/۰۰	۱/۳۲±۰/۷۰	۰/۰۰	۰/۶۰±۰/۵۴	۰/۳۳
۳۰	۰/۶۵±۰/۲۱	۱/۴۴±۰/۱۰	۰/۰۰	۱/۴۰±۰/۵۳	۰/۱۶	۰/۴۰±۰/۳۵	۰/۲۰
۳۵	۰/۷۲±۰/۴	۱/۲±۰/۲	۰/۴۰	۱/۹۰±۰/۶۰	۰/۱۳	۰/۹۰±۰/۷۴	۰/۸۳
۴۰	۱/۱۶±۰/۴۶	۱/۳۱±۰/۴۶	۰/۵۷	۱/۵۲±۰/۴۰	۰/۱۲	۰/۹۰±۰/۴۲	۰/۴۰
۴۵	۱/۵۱±۰/۲۳	۱/۴۳±۰/۱۶	۰/۶۳	۱/۲۲±۰/۴۰	۰/۰۰	۱/۱۱±۰/۲۶	۰/۳۰
۵۰	۰/۷۹±۰/۴۲	۱/۵۲±۰/۱۲	۰/۰۰	۰/۷۸±۰/۶۰	۰/۹۰	۰/۵۷±۰/۱۰	۰/۲۷
۵۵	۰/۹۲±۰/۵۱	۱/۴۲±۰/۳	۰/۹۰	۱/۱۱±۰/۴۰	۰/۴۳	۰/۵۲±۰/۳۰	۰/۱۲
۶۰	۰/۹۳±۰/۵۴	۱/۵۴±۰/۲۵	۰/۴۰	۱±۰/۵	۰/۸۳	۰/۵۶±۰/۳۰	۰/۱۱

بررسی به عمل آمده در مورد مقایسه اثرات گیاه رازک با مرفین با دوز ۰/۵mg/kg و مرفین با دوز ۱mg/kg، نشان دهنده تأثیر ضددردی گیاه است که قدرت آن از مرفین با دوز ۰/۵mg/kg بیشتر و از مرفین با دوز ۱mg/kg کمتر است به طوری که شدت درد در گروهی که مرفین با دوز ۰/۵mg/kg دریافت نموده‌اند ۱/۱۴±۰/۲۳ و در گروهی که مرفین mg/kg ۱ دریافت نموده‌اند ۰/۵۷±۰/۲۲ می‌باشد. این تغییرات در جدول ۱و نمودارهای ۱و ۲ نشان داده شده است.



نمودار ۱- میانگین شدت درد در گروه‌های آزمون و کنترل در طول یک ساعت در پاسخ به آزمون فرمالین که کاهش شدت درد در گروه آزمون رازک نسبت به گروه کنترل معنی‌دار می‌باشد (p=۰/۰۰٤).



نمودار ۲- مقایسه اثر ضد دردی رازک با مرفین در فاز دوم درد ناشی از آزمون فرمالین در گروه‌های ۵ تایی از موش‌های سوری بر اساس میانگین و انحراف معیار به طوری که شدت درد در گروه کنترل ۱/۳۳±۱/۱۸ و در گروه رازک ۰/۲۷± ۰/۸۹ بوده و تفاوت معنی‌دار می‌باشد. *: p=۰/۰۰٤ معنی‌دار می‌باشد.

بحث

در این پژوهش اثر عصاره آبی گیاه رازک با دوز ۸mg/kg با مرفین سولفات با دوزهای ۰/۵ و ۱mg/kg به عنوان تسکین دهنده استاندارد بر درد ناشی از فرمالین در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله مؤید این است که عصاره مزبور بر روی فاز اول درد ناشی از فرمالین تأثیری نداشته، در حالی که فاز دوم درد را کـــاهش داده است.این بدین معناست که عصاره رازک بر تحریک مستقیم گیرنده‌های حسی درد در فاصله زمانی تا ده دقیقه اثری ندارد در حالی که اثر ضد دردی آن در فاز دوم احتمالاً ناشی از اثر بر پاسخ التهابی ایجاد شده به وسیله فرمالین بوده و یا مربوط به تغییراتی در روند تثبیت این پاسخ‌ها در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد.

ابتدایی‌ترین روش برای تسکین درد، استفاده از داروهای گیاهی بوده است که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به تریاک اشاره کرد. این ماده از قدیمی‌ترین داروهای تسکین دهنده درد محسوب می‌شود اما به خاطر ایجاد مشکلاتی مانند وابستگی و اعتیاد، اطباء درصدد استفاده از سایر داروهای تسکین درد برآمدند. در منابع طب سنتی از تسکین دهنده‌های متعددی یاد شده است. پس از پیدایش علوم جدید و صنایع داروسازی مدرن، تحقیقات گسترده‌ای در زمینه تولید داروهای ضددرد صناعی به عمل آمده است، اما به علت عوارضی که این داروها به دنبال دارند گرایش افراد به استفاده از داروهای سنتی هم‌چنان پا بر جا است. به همین علت اخیراً محققین درصدد بررسی علمی اثرات داروهای سنتی برآمده‌اند و مدل‌های مختلفی جهت ارزیابی اثرات ضددردی این داروها ارایه کرده‌اند که یکی از آن‌ها استفاده از آزمایش فرمالین است که اولین بار توسط Dubiusson & Dennis ارایه شد [۱۱]. در این روش تزریق زیرجلدی فرمالین رقیق شده، باعث ایجاد طرح دو مرحله‌ای بروز درد می‌شود. در مرحله اول، درد سریع بوده و ظرف ۵ دقیقه اول به حداکثر شدت خود می‌رسد. سپس برای مدت ۱۰-۵ دقیقه از شدت درد کاسته شده و مجدداً از دقیقه بیستم پس از تزریق فرمالین، مرحله دوم درد شروع می‌شود که تا ۶۰ دقیقه پس از آزمایش فرمالین ادامه می‌یابد. درد مرحله دوم از نوع درد مداوم بوده و از نظر مکانیسم ایجاد و مسیرهای هدایتی در سیستم عصب مرکزی، با درد مرحله اول تفاوت دارد. اظهار نظر شده است که درد مرحله اول ناشی از تحریک مستقیم گیرنده‌های درد و فعال شدن فیبرهای نوع C و A دلتا می‌باشد. در حالی که درد ایجاد شده در مرحله دوم علاوه بر واکنش‌های آماسی در بافت محیطی، مربوط به تثبیت پاسخ التهابی و یا تغییرات عملی ایجاد شده در سیستم عصبی مرکزی می‌باشد [۱۲].

دایره‌المعارف ترکیبات گیاهان دارویی [۸]، به وجود مقادیر زیادی استروژن در عصاره رازک اشاره کرده است. هم‌چنین Chad wick و همکارانش [۱۳]، در گزارش خود اثرات استروژنیک عصاره رازک را مورد تأکید قرار داده‌اند. علاوه بر این Negus و همکارانش [۱۴]، در بررسی خود نقش جنسیت در احساس درد را گزارش کرده‌اند که استرادیول از طریق گیرنده‌های کاپای مرفینی اثر ضددردی اعمال می‌کنند. همین اثر توسط Dausons و همکارانش [۱۵] نیز گزارش شده است لذا با توجه به اثر ضددردی به دست آمده در تحقیق حاضر که منحصر به فاز التهابی درد فرمالین می‌باشد، و ممکن است مربوط به استروژن و اثرات استروژنیک عصاره این گیاه باشد. هم‌چنین گزارش‌هایی مبنی بر مهار سیکلواکسیژناز ۲ توسط عصاره رازک وجود دارد [۱۶-۱۷] و مشخص شده که مهارکننده‌های سیکلواکسیژناز به طور مؤثری در کاهش التهاب و درد ناشی از آن نقش دارند [۱۸-۱۹]. به این ترتیب با توجه به اثر استروژن که از طریق سایکلواکسیژناز اعمال می‌شود [۲۰] و وجود استروژن در رازک، اثر ضد دردی آن ممکن است از طریق این مکانیسم صورت گرفته باشد.

نتیجه‌گیری

رازک دارای اثر ضد دردی بوده که میزان آن در حد فاصل اثر ضد دردی مرفین ۰/۵mg/kg و ۱ mg/kg می‌باشد. این اثر ممکن است مربوط به استروژن و اثرات استروژنیک عصاره این گیاه باشد که از طریق مکانیسم سایکلواکسیژناز دردهای التهابی را تسکین می‌دهد.

References

[۱] میرحیدر ح. مصارف گیاهی، کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها. انتشارات نشر فرهنگ اسلامی، سال ۱۳۸۰، جلد پنجم، چاپ سوم، صفحات: ۲۳۵-۲۴۱.

[2] Wohlfart R, Hansel R, Schmidt H. The sedative – hypnotic action of HOPS 4. Pharmacology of the hop substance 2-methyl-3-buten-2-01. *Planta Med*, 1983; 48(2): 120-3.

[3] Hansel R, Wohlfart R, Coper H. Sedative - hypnotic compounds in the exhalation of HOPS, II. *Z Naturforsch [C],* 1980; 35(11-12): 1096.

[4] Schmitz M, Jackel M. Comparative study for assessing quality of life of patients with exogenous sleep disorders (temporary sleep onset and sleep interruption disorders) treated with a HOPS- valarian preparation and a benzodiazepine drug. *Wien Med Wochenschr*, 1998; 148(13): 291-8.

[5] Muller- Limmroth W, Ehrenstein W. Utersuchungen uber die wirkung Schlafgestrerter Menschen [Experimental studies of the effects of Valerian, HOPS and Passionflower on subjects suffering from anxiety disorders] *Med Klin*, 1997; 72(25): 1119-25.

[6] Gerhard U, Linnenbrink N, Georghiadou C, Hobi V. Vigilance- decreasing effects of 2 plant - derived sedatives. *Schweiz Rundsch Med Prax*, 1996; 85(15): 473-81.

[7] LeungAy, Foster S. Encyclopedia of commmune natural ingredients used in food, drug and cosmetics. New York John W iley and sons, Inc. 1996; pp: 300-2.

[8] Duke JA. CRC Hand book of medicinal herbs, BOCA Raton: CRC press. 1989; pp: 233-4.

[9] Movahedia Na, Moshtaghie A. Changes in paramiteres related to serum Iron metabolism in Gallium treated rats. *R.M.S*, 2000; 5: 60-3.

[۱۰] قاسمی ن. فارماگوپه گیاهی ایران. چاپ اول، وزارت بهداشت درمان آموزش پزشکی، معاون غذا و دارو، محل نشر اصفهان، ۱۳۸۱، صفحه: ۲۲.

[11] Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain,* 1977; 4(2): 161-74.

[12] Wheeler A, Porreca HF, Cowan A. The rat paw formalin test: comparison of noxious agents, *pain*. 1990; 40(2): 229-38.

[13] Chadwick LR, paudi GF, Farnsworth NR. The pharmacognasy of Humulus lopulus L. (HOPS) with an

emphasis on estrogenic propertis. *Phytomedicine*. 2006; 13(1-2): 119-31.

[14] Negus SS, Mello NK. Opioid antinociception in overiectomized monkeys comperison with antinocicetption in males and effects of estradiol replacenent. *J Pharmachol EXP Ther*, 1999; 290 (3): 1132-40.

[15] Dawsons – Basoa ME, Gintzler AR. Estrogen and progestrone activate kappa-opiats receptor analgasic mechanisms. *Pain*. 1996; 64(3): 608-15.

[16] Bohr G, Geshauser C, Knauft J, Zapp J, Becher H. Anti-inflammatory acylphlorojlusinol derivatives from HOPS (Humules lupulus). *J Nat Prod,* 2005; 68(10): 1545-8.

[17] Chang- ming Tsao, Chia - Ming- HO, Shen K, Tak- Y. Effect of estrogen on autotomy a neural and overectomy rats. *Int. J Exp Clin Pharm*. 1999; 59(3): 142-8.

[18] Lemay M, Murray MA, Davies A, Roh- Schmidt H. Randolph RK. In vitro and ex vivo cyclooxygenase ibhibition by a hops extract. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2004; 13(Suppl): 110.

[19] James MJ, Cleland LG. Cyclooxygenase –2 inhibitores: what went wrong? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care,* 2006; 9(2): 89-94.

[20] Geary GG, Krause DN, Duckles SP. Estrogen reduces mouse cerebral artery tone through endothelial NOS- and cyclooxygenase-dependent mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000; 279(2): 511-9.