Archive of SID

بررسی اثرات خواب‌آوری و شلی عضلانی تیموکینون، ماده موثر سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) و تاثیر آن بر فعالیت و هماهنگی سیستم حرکتی موش

سیاوش پرورده[1]، حسین حسین‌زاده[2]*

۱- دستیار گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۲- استاد گروه فارماکودینامی و سم‌شناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی و دانشکده داروسازی مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

*آدرس مکاتبه: مشهد، دانشکده داروسازی، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۳۶۵

تلفن: ۸۶۲۳۲۵۲ (۰۵۱۱)، نمابر: ۸۶۲۳۲۵۱ (۰۵۱۱)

پست الکترونیک: hosseinzadehh@yahoo.com

چکیده

در مطالعه قبلی نشان دادیم که تیموکینون مهم‌ترین ترکیب کینونی موجود در دانه‌های سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) دارای اثر ضدتشنجی در مدل پنتیلن تترازول می‌باشد. در مقاله حاضر، به منظور ارزیابی بیشتر اثرات تیموکینون بر سیستم اعصاب مرکزی، اثرات خواب‌آوری و شلی‌عضلانی آن را به ترتیب با استفاده از آزمایش القای خواب توسط پنتوباربیتال و آزمون گرفتن میله مورد مطالعه قرار دادیم. همچنین با انجام آزمایش‌های میله گردان (Rotarod test) و جعبه باز (Open-field test)، تاثیر تیموکینون را بر فعالیت و هماهنگی سیستم حرکتی در موش بررسی کردیم. در آزمون خواب‌آوری، تیموکینون هیچ‌گونه اثری بر زمان شروع به خواب رفتن و طول مدت خوابیدن موش‌ها نداشت. در آزمون گرفتن میله (Traction test) تیموکینون با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث ایجاد شلی عضلانی در ۳۰ درصد موش‌ها گردید. در آزمایش Rotarod، دوزهای ۸۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیموکینون توانست به صورت وابسته به دوز موجب عدم هماهنگی حرکات موش‌ها شود. همچنین تیموکینون با دوزهای ۲ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم فعالیت حرکتی و شاخص‌های رفتاری موش‌ها را در آزمون Open-field کاهش داد. این نتایج نشان می‌دهند که تیموکینون فاقد اثرات خواب‌آوری می‌باشد ولی می‌تواند موجب شلی عضلات، کاهش فعالیت حرکتی و اختلال در هماهنگی حرکات موش‌ها شود.

گل‌واژگان: تیموکینون، سیاه‌دانه، خواب‌آوری، شلی‌عضلانی، فعالیت حرکتی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی است از خانواده آلاله (Ranunculaceae) که در طب سنتی موارد مصرف متعددی دارد و از عصاره یا اسانس آن در درمان بیماری‌های مختلفی از جمله گوارشی، تنفسی و کلیوی استفاده می‌شود [۱۵، ۱۱]. مطالعات وسیعی به منظور شناخت دقیق خصوصیات فیتوشیمیایی و فارماکولوژیکی دانه‌های سیاه‌دانه در سال‌های اخیر صورت گرفته است. بر اساس این تحقیقات، بسیاری از خواص دانه‌های سیاه‌دانه به ترکیبات کینونی موجود در آن نسبت داده می‌شود. در این میان، تیموکینون (Thymoquinone) به عنوان فراوان‌ترین این ترکیبات، بسیار مورد توجه قرار گرفته و خواص درمانی متعددی برای آن شناخته شده است که از آن جمله می‌توان به اثرات ضددردی و ضدالتهابی [۹، ۲]، ضدسرطانی [۱۷، ۶] و آنتی‌اکسیدانتی [۸] اشاره کرد.

در بین مطالعات انجام گرفته بر روی تیموکینون، اثرات آن بر سیستم اعصاب مرکزی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعات قبلی نشان دادیم که تیموکینون در مدل تشنجی پنتیلن تترازول دارای اثرات ضدتشنجی می‌باشد [۱]. همچنین با استفاده از فلومازنیل و نالوکسان، به ترتیب به عنوان آنتاگونیست‌های رقابتی گیرنده‌های بنزودیازپینی و اوپیوییدی مشخص کردیم که تیموکینون اثرات ضدتشنجی خود را عمدتاً از طریق تحریک گیرنده‌های اوپیوییدی اعمال می‌کند و به طور غیرمستقیم موجب افزایش فعالیت سیستم گابارژیک می‌شود.

به منظور شناخت بیشتر عملکرد تیموکینون بر سیستم اعصاب مرکزی، اثرات خواب‌آوری و شلی عضلانی آن را به ترتیب با استفاده از آزمون القای خواب توسط پنتوباربیتال و شلی‌عضلانی در موش مورد مطالعه قرار دادیم. همچنین با استفاده از آزمون‌های جعبه باز و میله‌گردان، تاثیر تیموکینون را بر فعالیت و هماهنگی سیستم حرکتی در موش بررسی کردیم.

روش کار

حیوان

موش‌های نر از نژاد BALB/c با محدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم که از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات موسسه رازی مشهد تهیه شده بودند، مورداستفاده قرار گرفتند. این حیوانات در شرایط سیکل روشنایی/تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت در دمای ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد و با دسترسی آزاد به آب و غذا، در اتاق حیوانات دانشکده داروسازی مشهد نگهداری گردیدند. کلیه آزمایش‌ها در زمان روشنایی، بین ساعات ۸ صبح الی ۱۲ ظهر، به منظور جلوگیری از تاثیر ریتم شبانه‌روزی حیوان بر آزمایش‌های، انجام گرفتند. حیوانات یک ساعت قبل از شروع آزمون به آزمایشگاه منتقل می‌شدند تا با شرایط آزمایشگاه خو بگیرند.

مواد

تیموکینون (Aldrich)، پنتوباربیتال (Sigma)، دیازپام (IPDIC، شرکت گسترش و سرمایه‌گذاری دارویی، رشت، ایران) و نرمال سالین (داروسازی ثامن، مشهد) مورد استفاده قرار گرفتند. تیموکینون در نرمال سالین حاوی توین ۸۰ (۰/۸ درصد V/V) حل شد. سایر داروها در محلول نرمال سالین حل شدند. کلیه تزریقات به صورت داخل صفاقی بوده و حجم تزریق حداکثر برابر ۰/۱ ml/۱۰ g وزن موش بوده است. در صورت تزریق بیش از یک دارو به صورت داخل صفاقی، محل‌های جداگانه‌ای در سطح شکمی حیوان در نظر گرفته می‌شد. مبنای انتخاب دوز، مطالعات انجام شده قبلی بر روی تیموکینون بوده است [۲،۱].

بررسی اثرات خواب‌آوری

در این آزمایش، ابتدا تیموکینون (۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دیازپام (۱ mg/kg) به گروه‌های مختلف حیوانات تزریق شد. موش‌های

www.SID.ir

Archive of SID

گروه کنترل، نرمال سالین + توییین ۸۰ دریافت کردند. ۳۰ دقیقه پس از تزریق دیازپام و کنترل و ۶۰ دقیقه پس از تزریق تیموکینون، پنتوباربیتال سدیم با دوز ۳۰ mg/kg به موش‌ها تزریق شد [۱۲]. سپس حیوان را بر روی یک سطح نرم و گرم (۲۱ درجه سانتی‌گراد) به پشت خوابانده و بازتاب righting در حیوان بررسی گردید. زمان شروع به خواب رفتن حیوان هنگامی است که بازتاب righting منفی باشد، به این معنی که حیوان در طول مدت ۶۰ ثانیه پس از خوابانیدن به پشت، نتواند به سطح شکمی برگردد. پایان زمان خوابیدن هنگامی است که بازتاب righting سه بار پیاپی مثبت شود، به این معنی که هر بار حیوان بتواند در ظرف کمتر از یک دقیقه برگشته و روی پاهای خود بایستد. در بیشتر نمونه‌ها، پس از ایستادن روی پاها، حیوان شروع به حرکت کرد [٤].

بررسی اثر شل کنندگی عضلانی (Traction test)

برای انجام این آزمایش، میله فلزی محکم به طول ٤٠ سانتی‌متر و با قطری مناسب (٥ میلی‌لیتر) انتخاب شد به طوری که در حالت عادی موش توانایی گرفتن میله را داشته باشد. این میله از دو طرف توسط گیره به پایه‌هایی به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر وصل شد. اگر ارتفاع میله کمتر از ۳۰ سانتی‌متر باشد موش‌ها تمایل به گرفتن میله نداشته و خود را رها می‌کنند. در این روش موش‌ها را از طریق دو پای خود از میله آویزان کرده و اگر بتواند در مدت ٥ ثانیه بالا رفته و میله را با دست‌های خود بگیرد مشخص می‌شود که ماده مورد آزمایش اثر شلی عضلانی نداشته است. پاسخ مثبت به اثر شل‌کنندگی به صورت از دست دادن توانایی حیوان در گرفتن میله با دست یا سقوط حیوان ظاهر می‌شود.

آزمایش فوق فقط بر روی موش‌هایی انجام شد که قبل از تزریق بتوانند میله را با دست‌های خود در ظرف مدت ٥ ثانیه بگیرند. این کار جهت افزایش دقت و صحت آزمایش انجام می‌گیرد [١٦]. تیموکینون (۲۰ و ٤٠ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ۶۰ دقیقه و دیازپام (۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/٥ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کنترل (نرمال سالین + توییین ۸۰) ۳۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش به گروههای ۱۰ تایی از موش‌ها تزریق شد. درصد موش‌هایی که قادر به گرفتن میله نبودند به عنوان اثر شلی عضلانی ثبت گردید.

مطالعه فعالیت حرکتی و تعادلی با کمک میله گردان (Rotarod)

به منظور بررسی اثر تیموکینون بر هماهنگی حرکات و تعادل حیوان، از دستگاه Rotarod (Rotarod 3375-5, TSE System) بر اساس روش Dunham و Myia استفاده شد [٥]. به‌طور خلاصه، ابتدا حیوانات به‌منظور باقی‌ماندن بر روی میله گردان (سرعت اولیه: ۱۰ دور بر دقیقه، سرعت نهایی: ۲۰ دور بر دقیقه، زمان افزایش سرعت: ۲۰ ثانیه) آموزش داده شدند. حیواناتی که قادر بودند به مدت ٥ دقیقه بر روی میله گردان باقی بمانند جهت آزمایش انتخاب شدند. در روز بعد، دارو و کنترل‌ها به موش‌ها تزریق شدند: تیموکینون (٤٠ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیازپام (۱میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کنترل (نرمال سالین + توییین ۸۰). سپس مدت زمان باقی ماندن حیوانات بر روی میله گردان ۳۰ دقیقه (آزمایش اول) و ۶۰ دقیقه (آزمایش دوم) پس از تزریق، اندازه‌گیری شد.

بررسی اثر تیموکینون بر فعالیت حرکتی و شاخص‌های رفتاری موش در آزمون جعبه باز:

این آزمایش جهت ارزیابی اثرات تیموکینون بر رفتارهای حرکتی (Locomotor associated behaviors) شامل exploration و walk که مجموعاً Locomotor activity نامیده می‌شود و برخی شاخص‌های استرئوتایپی و رفتاری موش‌ها از جمله Grooming، Rearing، Leaning و Defecation انجام گرفته است. برای این منظور از یک جعبه سفید رو باز به ابعاد ۱m×۱m×۳۰cm استفاده می‌شود. کف جعبه با خطوط قرمز به ۲۵ خانه مربع شکل تقسیم شده است. در شروع آزمایش، حیوان در خانه

www.SID.ir

Archive of SID

مرکزی قرار گرفته و طی ۱۰ دقیقه رفتارها و حرکاتش اندازه‌گیری می‌شوند [۱٤]. نیم ساعت قبل از شروع آزمایش، تیموکینون (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیازپام (۱/۵ و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کنترل (نرمال سالین + توین ۸۰) به حیوانات تجویز شده‌اند. آزمایش در محیطی کاملاً آرام، با درجه حرارت ثابت و روشنایی یکنواخت انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و به دنبال آن آزمون Tukey-Kramer تجزیه و تحلیل شده‌اند. در آزمون شلی عضلانی (Traction test) از آزمون دقیق فیشر جهت آنالیز داده‌های غیر کمی استفاده شد.

نتایج

آزمون القای خواب توسط پنتوباربیتال

تجویز تیموکینون با دوزهای ٤۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ٦۰ دقیقه قبل از تزریق پنتوباربیتال (۳۰ mg/kg) تغییری در زمان به خواب رفتن و طول مدت خوابیدن موش‌ها ایجاد نکرد به طوری که هیچ تفاوت معنی‌داری بین زمان شروع به خواب رفتن و مدت زمان خوابیدن گروه‌های درمان شده با تیموکینون و کنترل وجود نداشت. در این آزمون، دیازپام (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) توانست در مقایسه با گروه کنترل، مدت زمان خوابیدن موش‌ها را از ۲٦/٤±۱/۲ دقیقه به ٤٤/۹±۱/۹ دقیقه افزایش و زمان شروع به خواب رفتن را از ۷/۹±۰/۷ دقیقه به ۳/۷±۰/۳ دقیقه کاهش دهد (p<۰/۰۰۱) (جدول شماره ۱).

آزمون شلی عضلانی (Traction test)

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، تجویز تیموکینون با دوزهای ۲۰ و٤۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، هیچ‌گونه اثر شلی‌عضلانی در برنداشته به‌طوری که هیچ یک از موش‌ها در مدت ۵ ثانیه میله را رها و سقوط نکردند و توانستند میله را با دست خود بگیرند. ولی تیموکینون با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب ایجاد شلی‌عضلانی در ۳۰ درصد موش‌های تحت آزمایش شد. در این آزمون، دیازپام در مقایسه با گروه کنترل به صورت وابسته به دوز درصد عدم گرفتن میله توسط موش‌ها را افزایش داد به طوری که دوزهای ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم به کیلوگرم به ترتیب موجب ۵۰ و ۱۰۰ درصد سقوط حیوانات از میله شدند (به ترتیب p<۰/۰۵ و ۰/۰۰۱ >p).

جدول شماره ۱- اثر تیموکینون بر زمان شروع خواب و مدت زمان خواب ایجاد شده در موش توسط پنتوباربیتال

درمان	دوز	زمان شروع خواب (دقیقه)	مدت زمان خواب (دقیقه)
کنترل	۰/۱ml/۱۰g	۷/۹ ± ۰/۷	۲٦/٤ ± ۱/۲
دیازپام	۱ mg/kg	۳/۷ ± ۰/۳ **	٤٤/۹ ± ۱/۹ ***
تیموکینون	٤۰ mg/kg	۹/۳ ± ۱/۹	۲۵/۵ ± ۱/٦
تیموکینون	۸۰ mg/kg	۸/۱ ± ۰/۵	۳۰/٦ ± ۲/۱

پنتوباربیتال (۳۰ mg/kg) ۶۰ دقیقه و ۳۰ دقیقه به ترتیب پس از تجویز تیموکینون و دیازپام تزریق شده است. کنترل: نرمال سالین + توین ۸۰ (۰/۸ درصد) داده‌ها به صورت میانگین ± میانگین خطای استاندارد برای ۱۰ میوان گزارش شده است.

p<۰/۰۰۱*** (مقایسه با گروه کنترل، آزمون Tukey-Kramer)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۲- مطالعه اثر شل‌کنندگی عضلانی تیموکینون در موش (Traction test)

درمان	دوز	درصد عدم گرفتن میله
کنترل	۰/۱ml/۱۰g	۰
دیازپام	۰/۱۲۵ mg/kg	۰
دیازپام	۰/۲۵ mg/kg	۵۰*
دیازپام	۰/۵ mg/kg	۱۰۰***
تیموکینون	۲۰ mg/kg	۰
تیموکینون	٤۰ mg/kg	۰
تیموکینون	۸۰ mg/kg	۳۰

تیموکینون و دیازپام به ترتیب ۶۰ دقیقه و ۳۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش به حیوانات تزریق شدند. کنترل: نرمال سالین + توییین۸۰ (۰/۸ درصد) نتایج به صورت درصد عدم گرفتن میله برای ۱۰ حیوان با زمان ختم آزمایش ۵ ثانیه بیان شده‌اند.

$p<0/05$*، $p<0/001$* (مقایسه با گروه کنترل، آزمون دقیق فیشر)**

مطالعه هماهنگی حرکات و تعادل در آزمون Rotarod

در این آزمایش، ٦۰ دقیقه پس از تجویز تیموکینون (٤۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) زمان باقی‌ماندن موش‌ها بر روی میله‌گردان از ۳۰۰ ثانیه به ۲۷/۱ ± ۲۱۱/۲ ثانیه کاهش یافت که این کاهش دارای اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل بوده است ($p<0/01$). این اثر ۹۰ دقیقه پس از تجویز همان دوز تیموکینون (آزمایش دوم) از بین رفت به‌طوری‌که هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین زمان باقی‌ماندن موش‌ها بر روی میلهٔ گردان در گروه دریافت‌کننده تیموکینون و گروه کنترل وجود نداشت (جدول شماره ۳). همچنین تیموکینون با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در هر دو آزمایش اول و دوم در مقایسه با گروه کنترل، موجب عدم هماهنگی حرکات و از بین رفتن تعادل حیوان شده و زمان باقی ماندن موش‌ها را از ۳۰۰ ثانیه به ۸/۳ ± ۳٦/۳ ثانیه در آزمایش اول ($p< 0/001$) و ٤/٥ ± ۲٦/۷ ثانیه در آزمایش دوم ($p< 0/001$) کاهش داد (جدول شماره ۳).

آزمون Open-field

پس از مقایسهٔ نتایج به‌دست آمده از گروه‌های مورد آزمایش با گروه کنترل، مشخص شد که موجب کاهش کل حرکت حیوان (Total locomotion) می‌گردد. این در حالی است که حرکت محیطی

جدول شماره ۳- اثر تیموکینون بر هماهنگی و تعادل حرکات در موش (Rotarod test)

درمان	دوز	زمان باقیماندن موش‌ها بر روی میله چرخان شتابدار (ثانیه)	
		آزمایش اول	آزمایش دوم
کنترل	۰/۱ ml/۱۰g	۳۰۰	۳۰۰
دیازپام	۱ mg/kg	۳/۷ ± ۰/٤ ***	۵/۲ ± ۰/۸ ***
تیموکینون	٤۰ mg/kg	۲۱۱/۲ ± ۲۷/۱ **	۲٤۰/۳ ± ۳۱/۷
تیموکینون	٦۰ mg/kg	۳٦/۳ ± ۸/۳ ***	۲٦/۷ ± ٤/٥ ***

تیموکینون و دیازپام به ترتیب ۶۰ دقیقه و ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش به حیوانات تزریق شده‌اند. آزمایش دوم، ۳۰ دقیقه پس از آزمایش اول انجام گرفته است.

کنترل: نرمال سالین + توییین ۸۰ (۰/۸درصد). نتایج به صورت میانگین ± میانگین خطای استاندارد برای ۱۰ موش گزارش شده‌اند.

$p<0/01$*، $p<0/001$* (مقایسه با گروه کنترل، آزمون Tukey-Kramer)**

www.SID.ir

Archive of SID

موش‌ها (Peripheral locomotion) فقط با دوز بالای تیموکینون (۲ mg/kg) مشاهده شد. همچنین حرکت دوز تیموکینون (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کاهش یافت (جدول شماره ٤). در این آزمون، دیازپام با دوزی که اثر خواب‌آوری و ضدتشنجی داشته است (۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تاثیری بر Total locomotion نداشته ولی در دوز بالاتر (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) حرکت‌های حیوان را کاهش داده است.

علاوه بر این، تیموکینون با تمام دوزهای به کار رفته توانست شاخص‌های Leaning، Rearing و Defecation را کاهش دهد ($p< ۰/۰۰۱$) ولی همچون دیازپام تاثیری بر Grooming نداشته است. همچنین دیازپام توانست با هر دو دوز به‌کار رفته، شاخص‌های Leaning و Rearing را کاهش دهد ($p< ۰/۰۰۱$) ولی تاثیری بر Defecation نداشت (جدول شماره ٤).

بحث

نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که تیموکینون دارای اثرات تضعیفی بر سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد به‌طوری که می‌تواند موجب شلی‌عضلات، از بین رفتن هماهنگی و تعادل در حرکات، کاهش فعالیت حرکتی و کاهش برخی شاخص‌های حرکتی و رفتاری از جمله Leaning، Rearing و Defecation شود. همچنین، بر طبق نتایج آزمون خواب‌آوری، تیموکینون نتوانسته است زمان شروع به خواب رفتن موش‌ها را کاهش یا مدت زمان خوابیدن آنها را افزایش دهد. بر همین اساس تیموکینون فاقد اثرات خواب‌آوری می‌باشد.

مطالعاتی که تاکنون بر روی اسانس سیاه‌دانه (که حاوی بیشترین مقدار تیموکینون می‌باشد) صورت گرفته، نشان می‌دهد که این فرآورده طبیعی قادر است اثرات آرام‌بخشی و تضعیفی بر سیستم اعصاب مرکزی گذاشته و موجب کاهش فعالیت حرکتی و افزایش زمان بی‌حرکتی در رت شود [۱۰]. این در حالی است که تاکنون مشخص نشده است که این اثرات مربوط به تیموکینون می‌باشد یا خیر. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که این اثرات احتمالاً مربوط به تیموکینون می‌باشد، بنابراین می‌توان اثرات تضعیف‌کنندگی اسانس سیاه‌دانه بر سیستم اعصاب مرکزی را به تیموکینون موجود در آن نسبت داد.

در مطالعه قبلی نشان دادیم که اثرات ضدتشنجی تیموکینون احتمالاً از طریق تحریک جایگاه گیرنده‌های بنزودیازپینی موجود در گیرنده‌های $GABA_A$ صورت می‌گیرد، زیرا فلومازنیل به عنوان آنتاگونیست رقابتی این گیرنده‌ها توانست اثرات ضدتشنجی تیموکینون را آنتاگونیزه نماید [۱]. بنابراین تحریک این گیرنده‌ها احتمالاً می‌تواند دلیلی بر اثرات مشاهده شده از تیموکینون در این مطالعه باشد.

داروهایی که باعث تضعیف نرون‌های حرکتی فوقانی یا مسیرهای حرکتی نزولی به‌خصوص نرونهای حرکتی نخاع می‌شوند، می‌توانند موجب شلی‌عضلات اسکلتی شده و رفلکس‌های کششی تونیک و اسپاسم عضلات اسکلتی را برطرف نمایند [۸].

دیازپام دارویی است که با تحریک گیرنده خود در مجموعه گیرنده‌های $GABA_A$ در مسیرهای نرون‌های حرکتی نخاع موجب اثر ضداسپاسمی مفیدی می‌شود [۸]. با توجه به تاثیر تیموکینون بر جایگاه گیرنده‌های بنزودیازپینی در مجموعه گیرنده‌های $GABA_A$، به نظر می‌رسد شلی‌عضلانی مشاهده شده، ناشی از تاثیر آن بر همین گیرنده‌ها در مسیر نرون‌های حرکتی نخاع باشد. همچنین تضعیف هماهنگی و تعادل در فعالیت حرکتی (بر اساس نتایج آزمایش Rotarod) و کاهش Locomotor activity، Leaning و Rearing در موش‌های درمان شده با تیموکینون (بر اساس نتایج آزمون جعبهٔ باز)، احتمالاً نتیجه تاثیر آن بر گیرنده‌های $GABA_A$ و تسهیل

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۴- اثر تیموکینون بر فعالیت حرکتی و شاخص‌های رفتاری موش‌ها در آزمون Open-field

درمان	دوز	حرکت مرکزی	حرکت محیطی	کل حرکت (محیطی+مرکزی)	Leaning	Rearing	Grooming	Defecation
کنترل	۰/۱ ml/۱۰g	٦٧/٤±٦/٨	۲۰٦/۰±۱۳/٦	۲۷۳/٤±۱۰/۲	٥٥/٤±۳/٦	۱۷/۰±۱/۸	۳/۰±۰/۳	۲/٤±۰/٤
دیازپام	۱/٥ mg/kg	٥٥/۲±۸/۸	۲٤٤/٥±۳۳/۹	۲۹۹/۷±۲۱/۳	۳۲/۲±۳/٦***	۱/٥±۰/۷***	٤/۰±۰/٥	۲/۳±۰/٥
دیازپام	۳ mg/kg	۳۹/۱±۷/۷*	۱۳۱/۳±۱۳/٦ *	۱۷۰/۲±۱۰/۲***	٥/٦±۱/٤***	۰/۸±۰/۳***	۳/۱±۰/٦	۳/٦±۰/۹
تیموکینون	۰/۲٥ mg/kg	٦۰/٤±٥/۸	۱۸۸/۰±۱۸/۷	۲٤۸/۱±۱۱/۳	٤۲/۰±٥/۱	٤/۷±۱/۱***	٤/٤±۰/۸	۰/٦±۰/٤***
تیموکینون	۰/٥ mg/kg	٤۰/۰±٤/۹*	۲۰۱/٦±۱۳/٦	۲٤۱/۳ ± ۸/۷	٤۱/٤±٥/۹	۲/٥±۰/۷***	۳/۳±۰/٥	۰/٤±۰/۱***
تیموکینون	۱ mg/kg	۳٥/۰±٦/٥**	۱٥۳/۱±۱۳/۱	۱۸۸/۱±۹/۲***	۱۹/۲±۲/۹***	۲/۸±۰/۹***	۲/٥±۰/٦	۰/۲±۰/۱***
تیموکینون	۲ mg/kg	۲۷/۷±۷/٤***	۱٥٤/۳±۲۳/۱*	۱۸۱/٤±۱٥/۲***	٤/۱±۱/۲***	۰/۷±۰/۰ ***	۲/۰±۰/٦	۰/٥±۰/۱***

تیموکینون و دیازپام ۳۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش تجویز شدند. نتایج به صورت میانگین ± میانگین خطای استاندارد برای ۱۰ موش گزارش شده‌اند. کنترل: نرمال سالین + توییین ۸۰ (۰/۸ درصد)

حرکت محیطی (Peripheral locomotion): تعداد دفعاتی که حیوان طی ۱۰ دقیقه از خانه‌های اطراف (مجاور دیوارهای جعبه) عبور می‌کند. حرکت مرکزی (Central locomotion): تعداد دفعاتی که حیوان طی ۱۰ دقیقه از خانه مرکزی و ۸ خانهٔ اطراف آن عبور می‌کند.

کل حرکت (Total locomotion): تعداد دفعاتی که حیوان طی ۱۰ دقیقه از خانه‌های جعبه عبور می‌کند.

Leaning : ایستادن بر روی دو پا و تکیه دادن به دیوار با دست‌ها

Rearing: ایستادن بر روی دو پا بدون تکیه دادن به دیوار

Grooming: رفتاری است شامل تمیز کردن سر و صورت و گوش‌ها با دست یا لیسیدن خود

Defection: دفع مدفوع

***p<۰/۰٥، **p<۰/۰۱، ***p<۰/۰۰۱ (مقایسه با گروه کنترل، آزمون Tukey Kramer)**

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

ملکرد گاما آمینوبوتیریک اسید در نرون‌های حرکتی فوقانی و قشر حرکتی مغز می‌باشد. البته برخلاف دیازپام، تیموکینون در مقادیری که موجب کاهش تون عضلانی شده است، فاقد اثرات خواب‌آوری می‌باشد (جدول شماره ۱) و این ممکن است به وجود اختلاف در جایگاه عمل این دو اثر مربوط شود. به‌طورکلی، بنزودیازپین‌ها موجب افزایش میزان مهار کورتکس حرکتی می‌شوند ولی جایگاه عمل آنها برای ایجاد تغییرات نوروفیزیولوژیکی در کورتکس حرکتی با جایگاه عمل آنها برای ایجاد اختلال هوشیاری متفاوت است [۱۳]. بر همین اساس ممکن است تیموکینون دارای جایگاه‌های عمل متفاوت برای ایجاد اثرات تضعیفی بر فعالیت حرکتی و هوشیاری بوده و یا حتی با دوزهای مختلف قادر به تاثیر بر این جایگاه‌ها باشد. دانه‌های گیاه سنجد نیز از جمله مواردی است که بدون ایجاد اثرات خواب‌آوری، باعث شلی‌عضلات اسکلتی می‌شود. مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که فلاونوییدهای موجود دراین گیاه دارای اثرات آگونیستی نسبی بر روی گیرنده‌های بنزودیازپینی بوده و به همین دلیل اثرات مرکزی متمایزی ایجاد می‌کنند [۷].

یکی دیگر از دلایلی که تاثیر تیموکینون بر گیرنده‌های گابا را مدلل می‌کند، کاهش شاخص‌های رفتاری موش‌ها می‌باشد. همان‌طور که در جدول شماره ٤ مشاهده می‌شود، تیموکینون توانسته است رفتارهای مربوط به حرکت شامل Leaning و Rearing را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد و این می‌تواند نتیجهٔ همان تاثیر مهاری تیموکینون بر کورتکس حرکتی و نرون‌های مسیرهای حرکتی در نخاع ناشی از تحریک گیرنده‌های $GABA_A$ باشد. در این بین گیرنده‌های $GABA_B$ نیز همانند $GABA_A$ می‌توانند دخالت داشته باشند، چرا که آگونیست‌های $GABA_B$ (مانند باکلوفن) قادر هستند سبب تضعیف رفتاری (Behavioral depression) گردند [۳]. البته تاثیر تیموکینون بر گیرنده‌های $GABA_B$ غیرمحتمل می‌باشد زیرا تیموکینون بدون ایجاد اثرات خواب‌آوری توانسته است موجب شلی عضلانی گردد و این در حالی است که تحریک گیرنده‌های $GABA_B$ (همان‌طور که درمورد باکلوفن مشاهده می‌شود) علاوه بر شلی‌عضلات اسکلتی موجب اثرات خواب‌آوری نیز می‌شود. انجام مطالعات کامل درخصوص تاثیر تیموکینون بر گیرنده‌های $GABA_B$ ضرورت دارد.

در مجموع می‌توان چنین نتیجه گرفت که تیموکینون با تاثیر بر گیرنده‌های گابا در سیستم اعصاب مرکزی و تسهیل عملکرد مهاری آن در مسیرهای حرکتی مغز و نخاع موجب اثرات شلی‌عضلانی، از بین رفتن هماهنگی و تعادل در حرکات و کاهش شاخص‌های حرکتی و رفتاری در موش می‌شود بدون آنکه اثر خواب‌آوری در آنها ایجاد کند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه بر اساس طرح پژوهشی تایید شده توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد صورت گرفته است. بدین‌وسیله از این معاونت قدردانی می‌شود.

منابع

www.SID.ir

Archive of SID

۱. پرورده سیاوش، فاتحی‌حسن‌آباد محمد، حسین‌زاده حسین. بررسی اثر ضدتشنجی تیموکینون، ماده موثر سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)در موش. *فصلنامه گیاهان دارویی*. ۱۳۸۱، شماره پنجم، صفحات ۵۰-۴۳.

2. Abdel-Fattah AFM, Matsumoto K, Watanabe H. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 2000; 400: 89-97.

3. Carai MAM, Colombo G, Brunetti G, Melis S, Vacca G, Mastinu S, Pistuddi AM, Solinas C, Cignarella G, Minardi G, Gessa GL. Role of $GABA_B$ receptors in the sedative/hypnotic effect of γ-Hydroxybutric acid. *Eur. J. Pharmacol.* 2001; 428:315-21.

4. Dandiya PC, Collumbine H. Studies on *Acorus calamus* (III): Some Pharmacological actions of the volatile oil. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1959; 125: 353-59.

5. Dunham NW, Miya TS. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *J. Am. Pharm. Assoc.* 1957; 46: 208-9.

6. Hassan M, El-Dakhakhny M. Effect of some *Nigella sativa* Constituents on chemical carcinogenesis in hamster cheek pouch. *J. Egypt Soci. Pharmacol. Exp. Ther.* 1992; 11: 675-77.

7. Hosseinzadeh H, Ramezani M, Namjo N. Muscle relaxant activity of *Elaeagnus angostifolia* L. fruit seeds in mice. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 84: 275-78.

8. Houghton PI, Zarka R, Delas Heras B, Hoult RS. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med.* 1995; 61: 33-6.

9. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 8th ed. McGraw-Hill. New York. 2001, pp: 457-59.

10. Khanna T, Zaidi FA, Dandiya PC. CNS and analgesic studies on *Nigella sativa. Fitoterapia*. 1993; 64: 407-10.

11. Mahfouz M, Abdel-Meguid R, El-Dakhakhny M. Effectivenss of "*Nigella*" in Asthma. *Alexandria Med.* 1960; 6: 543-47.

12. Nogueria E, Vassilieff VS. Hypnotic, anticonvulsant and muscle relaxant effects of *Rubus brasiliensis*. Involvement of $GABA_A$-System. *J. Ethnopharmacol* 2000; 70: 275-80.

13. Palmieri MG, Iani C, Sealise A, Desiato MT, Loberti M, Telera S, Caramia MD. The effect of benzodiazepines and flumazenil on motor cortical excitability in the human brain. *Brain Res.* 1999; 815: 192-99.

14. Pardon MC, Perez-Diaz F, Joubert C, Cohen-Salmon C. Age-dependent effects of a chronic ultramild stress procedure on open-field behaviour in B6D2F1 female mice. *Physiol Behav*. 2000; 70: 7-13.

15. Riaz M, Syed M, Chaudhary FM. Chemistry of the medicinal plants of the genus *Nigella*. *Hamdard Medicus.* 1996; 39: 40-45.

16. Rudzic AD, Hester JB, Tang AH, Stow RN, Friis W. The benzodiazepines. *Neuroscience.* 1999; 3: 591-96.

17. Worthen DR, Ghosheh OA, Crooks PA. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of black seed, *Nigella sativa* L. *Anticancer Res*. 1998; 18: 1527-32.

www.SID.ir