بررسی اثر ضدتشنجی تیموکینون، ماده موثر سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.)، به روش تزریق داخل بطنی

سیاوش پرورده[1]، مرجان نصیری‌اصل[1]، سیدمحمدتقی منصوری[1]، حسین حسین‌زاده[2*]

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

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

*آدرس مکاتبه: مشهد، دانشکده داروسازی، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵ – ۱۳٦۵، تلفن: ٦٦ – ۸۸۲۳۲۵۵ (۰۵۱۱) نمابر: ۸۸۲۳۲۵۱ (۰۵۱۱)

پست الکترونیک: hosseinzadehh@yahoo.com

of SID

تاریخ تصویب: ۸۳/۹/۲۱

چکیده

مقدمه: تیموکینون ماده موثر اصلی دانه سیاه‌دانه ترکیب موثری با اثر فارماکولوژیکی متعدد می‌باشد.

هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضدتشنجی تیموکینون، ماده موثر موجود در دانه‌های گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) با تزریق داخل بطنی بود.

روش تحقیق: در این مطالعه، اثرات ضدتشنجی تیموکینون، ماده موثر موجود در دانه‌های گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) با استفاده از آزمون تشنجی پنتیلن تترازول مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش، تیموکینون به صورت تزریق داخل بطنی (بطن چپ مغز) مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا به کمک دستگاه استرئوتاکس یک کانول راهنما در داخل بطن چپ مغز موش صحرایی کار گذاشته شد. سپس با استفاده از میکروسرنگ هامیلتون، دوزهای مختلف تیموکینون (۵۰-۴۰۰ µmol) از طریق کانول راهنما به داخل بطن چپ مغز تزریق شد. پس از درمان حیوانات با دارو و کنترلها، یک دوز ۹۰ mg/Kg پنتیلن تترازول به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد.

یافته‌ها: در آزمون پنتیلن تترازول، تزریق داخل مغزی تیموکینون با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومول موجب تاخیر در زمان شروع تشنج و کاهش مدت تشنج تونیک- کلونیک شد. درصد محافظت از مرگ و میر با دوزهای مذکور به ترتیب ۴۵ و ۵۰ درصد محافظت از تشنج با همان دوزها به ترتیب ۱۴/۳ و ۳۳/۳ به دست آمد. در آزمون پنتیلن تترازول، فلومازنیل (۱ nmol) موجب کاهش اثرات ضدتشنجی تیموکینون گردید. همچنین نالوکسان توانست با دوز ۱۰ µmol اثرات ضدتشنجی تیموکینون را از بین ببرد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تیموکینون می‌تواند در تشنج تونیک - کلونیک، کارآیی داشته باشد.

گل‌واژگان: تیموکینون، سیاه‌دانه، ضدتشنجی، پنتیلن تترازول، استرئوتاکس، گیاهان دارویی

www.SID.ir

مقدمه

سیاه‌دانه[1] گیاهی است از خانواده آلاله[2] که در طب سنتی در درمان بیماری‌های مختلفی از جمله گوارشی، تنفسی و کلیوی به کار می‌رود [۱،۲] و همچنین آزمایش‌های متعددی به منظور شناخت اثرات فارماکولوژیکی این گیاه صورت گرفته است. به عنوان مثال در برخی مطالعات نشان داده شده است که عصاره و اسانس سیاه‌دانه دارای اثرات شل‌کنندگی بر روی عضلات صاف از جمله عروق خونی، روده کوچک، تراشه و رحم می‌باشد [۳،٤،٥،٦،۷،۸،۹،۱۰،۱۱]. پیشنهاد شده است که احتمالاً بخشی از این اثرات از طریق مهار کانال‌های کلسیمی اعمال می‌شوند [۸،۹]. با این وجود، اثرات سیاه‌دانه و ماده موثر آن، تیموکینون، بر سیستم عصبی کمتر مورد توجه و بررسی قرار گرفته است. تیموکینون در اسانس سیاه‌دانه ۵۷–۲۸ درصد آن را شامل می شود [۱۲]. فقط در دو مطالعهٔ انجام شده یکی بر روی اسانس گیاه و دیگری بر روی تیموکینون، به ترتیب اثرات آرامبخشی همراه با تضعیف سیستم اعصاب مرکزی در موش صحرایی با مکانیسمی نامعلوم و اثرات ضددردی با مکانیسم تاثیر بر سیستم اوپیوییدی گزارش شده است [۷،۱۳]. از آنجا که تیموکینون مهمترین ماده موثر موجود در اسانس سیاه‌دانه می‌باشد، این فرضیه تقویت می‌گردد که اثرات فارماکولوژیکی مشاهده شده از اسانس سیاه‌دانه ناشی از وجود تیموکینون می‌باشد [۱٤،۱٥].

در مطالعات قبلی نشان دادیم که تجویز تیموکینون به صورت داخل صفاقی دارای اثرات ضدتشنجی و شلی عضلانی بوده و موجب کاهش فعالیت حرکتی و ایجاد اختلال در سیستم تعادلی و حرکتی موش می‌شود. همچنین با استفاده از آنتاگونیست رقابتی گیرنده‌های اوپیوییدی (نالوکسان) و بنزودیازپینی (فلومازنیل) نشان دادیم که اثرات ضدتشنجی تیموکینون به طور عمده از طریق تحریک گیرنده‌های اوپیوییدی و به طور نسبی با واسطهٔ گیرنده‌های بنزودیازپینی اعمال می‌شود [۱٦]. از آنجا که تجویز تیموکینون به صورت داخل صفاقی، توأم با جذب آهسته از ناحیهٔ صفاق به درون گردش خون بوده و عبور تدریجی آن از سد خونی– مغزی، اثربخشی آن را در سیستم اعصاب مرکزی تحت‌الشعاع قرار می‌دهد، بر آن شدیم تا با تزریق مستقیم تیموکینون به داخل بطن، به بررسی دقیق تر اثرات آن بر سیستم اعصاب مرکزی بپردازیم. برای این منظور با استفاده از دستگاه استرئوتاکس، یک کانول راهنما در داخل بطن چپ مغز موش صحرایی کار گذاشته و سپس به کمک میکروسرنگ هامیلتون، تیموکینون و سایر مواد را به داخل مغز تزریق کردیم. به این ترتیب پس از درمان حیوانات، اثرات ضد تشنجی تیموکینون را با استفاده از مدل پنتیلن تترازول مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

حیوان

موش‌های صحرایی نر از نژاد Wistar با محدوده وزنی ۳۱۰–۲۷۰ گرم که از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی موسسه رازی مشهد تهیه شده بودند، مورد استفاده 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.

مواد

در این مطالعه، پودر تیموکینون (Aldrich)، پودر پنتیلن تترازول (Sigma)، آمپول دیازپام (تولید دارو) و آمپول فلومازنیل (Roche) مورد استفاده قرار گرفتند. کلیه داروها در محلول سالین ایزوتونیک حل شدند. فقط در مورد تیموکینون جهت انحلال بهتر، از ۸۰ Tween نیز استفاده شد (۰/۸ درصد حجمی/حجمی).

کلیهٔ تزریقات به صورت داخل بطنی یا intracerebroventricular (i.c.v.) به داخل بطن چپ مغز انجام شد به طوری‌که حجم تزریق حداکثر برابر با ۵ میکرولیتر بود. فقط در مورد پنتیلن تترازول، از تزریق داخل صفاقی استفاده شد.

[1] *Nigella sativa* L.
[2] Ranunculaceae

Archive of SID
www.SID.ir

جراحی حیوانات به منظور کانول گذاری در داخل بطن چپ مغز

ابتدا حیوانات را با استفاده از کتامین (۶۰ mg/Kg)/ زایلازین (۶ mg/Kg) بیهوش کرده و سپس در دستگاه استرئوتاکس (TSE Systems, Germany) قرار دادیم. پس از ایجاد یک برش طولی در پوست سر و کنار زدن لایه‌های زیرین پوست، سطح استخوان را آشکار کرده و نقطهٔ Bregma را مشخص نمودیم. سپس با استفاده از دستگاه استرئوتاکس و به کمک اطلس مغز موش محل قرارگیری کانول را براساس مختصات زیر نشانه گذاری کردیم: ۰/۹ میلی‌متر از برگما به عقب، و ۱/۶ میلی‌متر به سمت چپ [۱۷]. در ادامه، سطح جمجمه را به کمک یک میخ مته (به قطر ۱ میلی‌متر) سوراخ کرده و یک کانول از جنس استیل زنگ نزن به طول ۹ میلی‌متر، در عمق ۲/۴ میلی‌متری از سطح جمجمه (۱ میلی‌متر بالاتر از محل تزریق) کار گذاشتیم. سپس با قرار دادن یک پیچ کوچک در داخل جمجمه و درنزدیکی کانول، و با استفاده از سیمان دندانپزشکی کانول را در داخل جمجمه محکم کردیم. پس از یک هفته، حیوانات برای انجام تزریق i.c.v. آماده شدند. برای تزریق داخل بطنی از یک سرنگ هامیلتون به حجم ۲۵ µl متصل به سرسوزن تزریق استفاده کردیم. سوزن تزریق با استفاده از کانول راهنما، به داخل بطن چپ مغز هدایت شده و عمل تزریق به آهستگی و طی ۱ دقیقه صورت گرفت. پس از انجام عمل تزریق، آزمایش‌های ضدتشنجی آغاز شدند.

آزمون تشنجی پنتیلن تترازول

برای این منظور ۸ گروه و هر گروه شامل ۱۰ حیوان انتخاب شدند:

– چهار گروه تیموکینون با دوزهای مختلف دریافت نمودند. با این ترتیب که دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومول تیموکینون به صورت i.c.v. نیم ساعت قبل از تجویز پنتیلن تترازول (۹۰ mg/kg) به موش‌ها تزریق شد.

– به یک گروه از حیوانات به عنوان کنترل مثبت، دیازپام با دوز ۱۰µmol تزریق شد.

– دو گروه به عنوان گروه نرمال سالین و کنترل توین ۸۰، انتخاب شد و یک گروه نیز به عنوان کنترل sham به کار رفت.

به منظور بررسی فعالیت تیموکینون بر گیرنده‌های بنزودیازپینی ۷ گروه در نظر گرفته شد:

– دو گروه جهت تیموکینون و تیموکینون همرا با فلومازنیل انتخاب شدند: به یک گروه از حیوانات، ۱۵ دقیقه قبل از تجویز تیموکینون (۲۰۰ µmol)، فلومازنیل با دوز ۱ nmol تزریق شد (۴۵ دقیقه قبل از تزریق پنتیلن تترازول). یک گروه نیز تیموکینون (۲۰۰ µmol) به تنهایی دریافت نمود.

– دو گروه جهت دیازپام و دیازپام همرا با فلومازنیل انتخاب شدند: به یک گروه از موش‌ها، ۱۵ دقیقه قبل از تجویز دیازپام (۱۰µmol)، فلومازنیل با دوز ۱ nmol تزریق شد (۴۵ دقیقه قبل از تزریق پنتیلن تترازول) و یک گروه نیز دیازپام (۱۰ µmol) به تنهایی دریافت نمود.

– دو گروه به عنوان گروه نرمال‌سالین و کنترل توین ۸۰ انتخاب شدند. و سرانجام گروه آخر فقط فلومازنیل (۱ nmol) دریافت نمود.

همچنین، به منظور بررسی فعالیت تیموکینون بر گیرنده‌های اوپیوییدی ۵ گروه حیوان در نظر گرفته شد:

– دو گروه جهت تیموکینون و تیموکینون همرا با نالوکسان انتخاب شدند: به یک گروه از حیوانات، ۱۵ دقیقه قبل از تجویز تیموکینون (۲۰۰ µmol)، نالوکسان با دوز ۱۰ میکرومول تزریق شد (۴۵ دقیقه قبل از تزریق پنتیلن تترازول) و یک گروه نیز تیموکینون (۲۰۰ µmol) به تنهایی دریافت نمود.

– دو گروه به عنوان گروه نرمال سالین و کنترل توین ۸۰ انتخاب شدند. و سرانجام گروه آخر فقط نالوکسان (۱۰µmol) دریافت نمود.

پس از تزریق پنتیلن تترازول به صورت داخل صفاقی، زمان شروع تشنج تونیک- کلونیک، مدت زمان تشنج، درصد محافظت از تشنج و درصد محافظت از مرگ و میر گزارش شد.

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین برای هر گروه آزمایش گزارش شد. سپس به منظور بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف بین میانگین بیش از دو گروه، از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و به دنبال آن، آزمون Tukey-Kramer استفاده شد. نتایجی که دارای ارزش p کوچکتر از ۰/۰۵ بود، به عنوان نتایج معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در آزمون پنتیلن تترازول، تزریق داخل مغزی تیموکینون با دوزهای ۲۰۰ و ٤۰۰ میکرومول نیم ساعت قبل از تزریق پنتیلن تترازول توانست زمان شروع تشنج تونیک- کلونیک را طولانی کند. همچنین تزریق همان دوزهای تیموکینون به داخل بطن مغز، موجب کاهش مدت زمان تشنج گردید (جدول شماره ۱). در آزمون پنتیلن تترازول، تزریق فلومازنیل (۱ nmol) به صورت .i.c.v، پانزده دقیقه قبل از تجویز تیموکینون (۲۰۰ µmol) توانست اثر تیموکینون را در طولانی کردن زمان شروع تشنج آنتاگونیزه نماید، به طوری که هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل و گروه تیموکینون (۲۰۰ µmol، نیم ساعت قبل از تزریق پنتیلن تترازول) + فلومازنیل (۱ nmol، پانزده دقیقه قبل از تزریق تیموکینون) وجود نداشته است. علاوه براین، فلومازنیل توانست اثر تیموکینون در کاهش مدت زمان تشنج تونیک- کلونیک را مهار کند به طوری که بین گروه دریافت کننده تیموکینون (۲۰۰ µmol، نیم ساعت قبل از تزریق پنتیلن تترازول) و گروه تیموکینون (۲۰۰ µmol، نیم ساعت قبل از تزریق پنتیلن تترازول) + فلومازنیل (۱ nmol، پانزده دقیقه قبل از تزریق تیموکینون) اختلافی معنی‌دار مشاهده می‌شود (جدول شماره ۲). در این آزمون، دیازپام توانست زمان شروع تشنج را طولانی کرده و مدت زمان تشنج را کوتاه کند (جدول شماره ۱). همچنین تزریق فلومازنیل (۱ nmol) پانزده دقیقه قبل از تزریق دیازپام به خوبی توانست اثرات ضد تشنجی دیازپام را آنتاگونیزه کند (جدول شماره ۲).

در آزمون پنتیلن تترازول، دوزهای۲۰۰ و ٤۰۰ میکرومول تیموکینون توانست به ترتیب به میزان ٤۵ و ۵۰ درصد در برابر مرگ و میر محافظت به عمل آورد. درصد محافظت از تشنج با دوزهای ۲۰۰ و ٤۰۰ میکرومول تیموکینون در این آزمون، ۱٤/۳ و ۳۳/۳ بوده است (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- اثرات تیموکینون بر زمان شروع تشنج، مدت زمان تشنج، محافظت در برابر مرگ و میر و محافظت در برابر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول در موش صحرایی.

درمان (دوز µmol)	زمان شروع تشنج (ثانیه)	مدت زمان تشنج (ثانیه)	درصد محافظت در برابر تشنج	درصد محافظت در برابر مرگ و میر
نرمال سالین (۵ µl)	۱۳۳/٦ ± ۱۲/۸	٦۵/۷ ± ۵/٦	۰	۰
کنترل (۵ µl)	۱۳۰/۵ ± ۱۰/٤	٦۷/۲ ± ٤/۱	۰	۰
Sham	۱۲۹/۲ ± ۱/٦	۵۵/۱ ± ۲/۹	۰	۰
دیازپام (۱۰)	۲۲۳/۹ ± ۳۳/۵*	٤۸/۹ ± ۲/۵*	۳۰/۰	٦۰
تیموکینون (۵۰)	۱۱۷/۵ ± ٦/۷	۵٦/۵ ± ۲/۸	۰	۳۰
تیموکینون (۱۰۰)	۱۵۹/۱ ± ۲۹/۱	۵۸/٤ ± ٤/٤	۱۰/۰	٤۰
تیموکینون (۲۰۰)	۲۹۰/٦ ± ۳۷/۹*	٤۷/٦ ± ۱/٦*	۱٤/۳	٤۵
تیموکینون (٤۰۰)	۲۸٦/٦ ± ٤۷/۱*	٤۲/۱ ± ۱/۳***	۳۳/۳	۵۰

داروها و کنترل به صورت تزریق داخل بطن مغزی، ۳۰ دقیقه قبل از پنتیلن تترازول (.mg/Kg, i.p ۹۰) تجویز شدند. کنترل: نرمال سالین+ توین ۸۰ (۰/۸ درصد حجمی- حجمی). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین برای ۱۰ موش صحرایی گزارش شده‌اند؛ p <۰/۰۰۱ *** و p <۰/۰۵ *، آزمون Tukey-Kramer

Archive of SID
www.SID.ir

در این آزمایش، تزریق نالوکسان (۱۰ µmol) به صورت i.c.v.، پانزده دقیقه قبل از تجویز تیموکینون (۲۰۰ µmol) توانست اثر تیموکینون را در طولانی کردن زمان شروع تشنج آنتاگونیزه نماید، به طوری که هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل و گروه تیموکینون (۲۰۰ µmol، نیم ساعت قبل از تزریق پنتیلن تترازول) + نالوکسان (۱۰ µmol، پانزده دقیقه قبل از تزریق تیموکینون) وجود نداشته است. علاوه براین، نالوکسان توانست اثر تیموکینون در کاهش مدت زمان تشنج تونیک- کلونیک را مهار کند به طوری که بین گروه دریافت‌کننده تیموکینون (۲۰۰ µmol، نیم ساعت قبل از تزریق پنتیلن تترازول) و گروه تیموکینون (۲۰۰ µmol، نیم ساعت قبل از تزریق پنتیلن تترازول) + نالوکسان (۱۰ µmol، پانزده دقیقه قبل از تزریق تیموکینون) اختلافی معنی‌دار مشاهده می‌شود (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۲ – اثر فلومازنیل بر فعالیت ضدتشنجی تیموکینون و دیازپام در آزمون پنتیلن تترازول در موش صحرایی

درمان (دوز µmol)	زمان شروع تشنج (ثانیه)	مدت زمان تشنج (ثانیه)	درصد محافظت در برابر مرگ و میر
نرمال سالین (۵ µl)	۱۰۴/۲ ± ۶/۵	۴۴/۳ ± ۶/۳	۰
کنترل (۵ µl)	۱۰۶/۶ ± ۱۱/۱	۴۶/۴ ± ۱/۶	۰
دیازپام (۱۰)	۱۸۸/۹ ± ۱۳/۵***	۳۰/۱ ± ۴/۱**	۷۵/۰
دیازپام (۱۰)+ فلومازنیل (۱ nmol)	۱۱۶/۵ ± ۱۴/۹	۴۸/۱ ± ۲/۸	۱۰/۰
تیموکینون (۲۰۰)	۱۶۰/۵ ± ۱۱/۲*	۳۶/۳ ± ۱/۱*	۴۵/۰
تیموکینون (۲۰۰)+ فلومازنیل (۱ nmol)	۱۰۴/۶ ± ۱۳/۷	۴۹/۲ ± ۳/۱	۱۴/۳
فلومازنیل (۱ nmol)	۱۰۱/۲ ± ۱۴/۸	۴۵/۷ ± ۶/۳	۰

نرمال سالین، کنترل، دیازپام و تیموکینون به صورت تزریق داخل بطن مغزی، ۳۰ دقیقه قبل از پنتیلن تترازول (۹۰ mg/Kg, i.p.) تجویز شدند. فلومازنیل ۱۵ دقیقه قبل از دارو و کنترل‌ها تجویز شد. کنترل: نرمال سالین+ توین ۸۰ (۰/۸ درصد حجمی- حجمی). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین برای ۱۰ موش صحرایی گزارش شده‌اند؛ $p < ۰/۰۰۱$ ***، $p < ۰/۰۱$ ** و $p < ۰/۰۵$ *، آزمون Tukey-Kramer

جدول شماره ۳ – اثر نالوکسان بر فعالیت ضدتشنجی تیموکینون در آزمون پنتیلن تترازول در موش‌صحرایی

درمان (دوز µmol)	زمان شروع تشنج (ثانیه)	مدت زمان تشنج (ثانیه)	درصد محافظت در برابر مرگ و میر
نرمال سالین (۵ µl)	۱۳۳/۶ ± ۱۲/۸	۶۵/۷ ± ۵/۶	۰
کنترل (۵ µl)	۱۳۰/۵ ± ۱۰/۴	۶۷/۲ ± ۴/۱	۰
تیموکینون (۲۰۰)	۲۹۰/۶ ± ۳۷/۹*	۴۷/۶ ± ۱/۶*	۴۵
تیموکینون (۲۰۰)+ نالوکسان (۱۰)	۱۲۳/۸ ± ۱۵/۹	۵۱/۴ ± ۲/۹	۰
نالوکسان (۱۰)	۱۰۰/۸ ± ۱۰/۱	۵۲/۸ ± ۳/۱	۰

نرمال سالین، کنترل و تیموکینون به صورت تزریق داخل بطن مغزی، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق پنتیلن تترازول (۹۰ mg/Kg, i.p.) تجویز شدند. نالوکسان ۱۵ دقیقه قبل از دارو و کنترل‌ها به صورت i.c.v. تجویز شد. کنترل: نرمال سالین+ توین ۸۰ (۰/۸ درصد حجمی- حجمی). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین برای ۱۰ موش صحرایی گزارش شده‌اند؛ $p < ۰/۰۵$ *، آزمون Tukey-Kramer

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

براساس نتایج این مطالعه، تزریق داخل بطنی تیموکینون در مدل تشنجی پنتیلن تترازول، اثر ضدتشنجی دارد. این اثر ضدتشنجی با تجویز آنتاگونیست‌های گیرنده‌های بنزودیازپینی و اوپیوییدی، مهار شد. بر این اساس احتمالاً اثرات ضدتشنجی تیموکینون از طریق گیرنده‌های اوپیوییدی و یا بنزودیازپینی اعمال می‌شود.

در مطالعهٔ قبلی نشان دادیم که تزریق داخل صفاقی تیوکینون در مدل تشنجی پنتیلن تترازول اثرات ضد تشنجی از خود نشان می‌دهد، در حالی‌که در مدل تشنجی الکتروشوک فاقد این اثر می‌باشد. همچنین نشان دادیم که تجویز داخل صفاقی تیموکینون یک ساعت قبل از تزریق پنتیلن تترازول، در مقایسه با زمانی که نیم ساعت قبل از آن تجویز شود، اثرات ضدتشنجی بهتری از خود نشان می‌دهد. براین اساس به نظر می‌رسد بهترین زمان شروع فعالیت ضدتشنجی تیموکینون، ۶۰ دقیقه پس از تجویز دارو باشد که احتمالاً ناشی از جذب آهسته از ناحیهٔ صفاق به درون گردش خون و عبور تدریجی تیموکینون از سد خونی- مغزی می‌باشد [۱۶]. به منظور حذف اثر بازدارندگی سد خونی- مغزی، تیموکینون به صورت i.c.v. مستقیماً داخل بطن مغزی تزریق شد. به این ترتیب توانستیم اثر خالص تیموکینون را در مدل تشنج شیمیایی مذکور بدون دخالت اثر متابولیسم سیستمیک و عبور از سد خونی- مغزی مورد مطالعه قرار دهیم.

همان‌طور که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، تجویز داخل بطنی فلومازنیل، به عنوان آنتاگونیست رقابتی گیرنده‌های بنزودیازپینی توانست اثر تیموکینون را در به تاخیر انداختن زمان شروع تشنج و کاهش مدت زمان تشنج مهار کند [۱۸]. بنابراین به نظر می‌رسد لااقل بخشی از مکانیسم فعالیت ضدتشنجی تیموکینون از طریق تحریک گیرنده‌های بنزودیازپینی در سیستم اعصاب مرکزی باشد.

همان‌طور که قبلاً اشاره شد، تحقیقات نشان داده است که تیموکینون اثرات ضد دردی موثری داشته و این اثرات را از طریق تحریک گیرنده‌های اوپیوییدی در سیستم اعصاب مرکزی اعمال می کند [۱۹]. همین تحقیقات نشان می‌دهد که نالوکسان اثرات ضددردی تیموکینون را در فاز اول آزمون ضددردی فرمالین از بین می‌برد. علاوه بر این، Norbinaltorphimine به عنوان آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های κ به طور موثرتری اثرات ضددردی تیموکینون را معکوس کرده است. بر اساس این نتایج پیشنهاد شد که تیموکینون اثرات ضد دردی خود را از طریق تحریک گیرنده‌های اوپیوییدی κ اعمال می‌کند [۱۹].

اخیراً Yajima و همکارانش گزارش کردند که آگونیست‌های انتخابی گیرنده‌های اوپیوییدی κ به صورت وابسته به دوز موجب مهار تشنج ایجاد شده توسط بیکوکولین می‌شود [۲۰]. آنها اثبات کردند که تحریک گیرنده‌های اوپیوییدی κ اثرات ضدتشنجی ایجاد می کند. اکنون به خوبی روشن شده است که آگونیست‌های گیرنده‌های اوپیوییدی κ عمدتاً بر کانال‌های Ca^{2+} تاثیر گذاشته و موجب مهار ورود کلسیم به داخل سلول‌های عصبی می‌شود [۲۱،۲۲]. اگر چه مکانیسم اثرات ضدتشنجی آگونیست‌های گیرنده‌های اوپیوییدی κ به طور کامل شناخته نشده است، ولی احتمالاً مهار ورود کلسیم به داخل نورون‌ها از طریق تحریک گیرنده‌های κ پس سیناپسی می‌تواند تحریکات شدید عصبی را در سیستم اعصاب مرکزی مهار کند.

براین اساس و با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، می‌توان این نظریه را مطرح نمود که تیموکینون اثرات ضدتشنجی خود را احتمالاً با تحریک گیرنده‌های κ در سیستم اعصاب مرکزی اعمال می‌کند. برای بررسی این نظریه، از نالوکسان به عنوان آنتاگونیست انتخابی گیرنده‌های اوپیوییدی استفاده کردیم. همان‌طور که در بخش نتایج اعلام شد، نالوکسان اثرات ضدتشنجی تیموکینون را به طور کامل مهار کرده است به طوری‌که تشنج ایجاد شده در حیوانات درمان شده با نالوکسان هیچ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشته است.

در مجموع، مطالعهٔ ما نشان داد که تجویز داخل مغزی تیموکینون، تشنج ایجاد شده توسط پنتیلن تترازول را مهار کرده و احتمالاً این اثر را از طریق افزایش تون سیستم گابارژیک و با واسطهٔ گیرنده‌های اوپیوییدی اعمال می‌کند. البته نتیجه‌گیری نهایی در این خصوص مستلزم مطالعات دقیق تر بر روی گیرنده‌های κ و $GABA_A$ با استفاده از آنتاگونیست‌های اختصاصی هر یک از این گیرنده‌ها می‌باشد.

Archive of SID
www.SID.ir

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که در تامین بودجه این تحقیق دخیل بوده‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Mahfouz M, Abdel-Meguid R, El-Dakhakimy M. Effectiveness of '*Nigella*' in Asthma. *Alexandria Med. J.* 1960; 6: 543–47.

2. Riaz M, Syed M, Chaudhary FM. Chemistry of the medicinal plants of the genus *Nigella*. *Hamdard Medicus* 1996; 39: 40–5.

3. Aqel-Mahmoud B The relaxing effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on vascular smooth muscle. *Dirasat Series B Pure Appl. Sci.* 1993; 19: 91-100.

4. El-Tahir KEH, Al-Tahir AY, Ageel AM. Pharmacological studies on sesame and *Nigella sativa* fixed oil: Effects on the sensitivities of the adrenoceptors, baroreceprors, platelets and the uterus of the rat. *Saudi Pharmac. J.* 1999; 7: 205-15.

5. El-Tahir KEH, Ashour MMS, Al-Harbi MM. The cardiovascular actions of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in rats: Elucidation of the mechanism of action. *Gen. Pharmacol.* 1993; 24: 1123-31.

6. Zaoui A, Cherrah Y, Lacaille-Dubois MA. Diuretic and hypotensive effects of *Nigella sativa* on the spontaneously hypertensive rat. *Therapie* 2000; 55: 379-82.

7. Aqel-Mahmoud B. Effects of *Nigella sativa* seeds on intestinal smooth muscle. *Int. J. Pharmacol.* 1993; 31: 55-60.

8. Gilani AH, Aziz N, Khurram IM. Bronchodilator, Spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses. *J. Pak. Med. Assoc.* 2001; 51: 115-20.

9. Aqel-Mahmoud B. The calcium antagonistic effect of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds. *Dirasat Series B Pure Appl. Sci.* 1993;19: 119-33.

10. Boskabadi MH, Shahabi M. Bronchodilatory and anticholinergic effects of *Nigella sativa* on isolated guinea pig tracheal chains. *Ir. J. Med. Sci.* 1997; 22: 127-33.

11. Aqel M, Shaheen R. Effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on the uterine smooth muscle of rat and guinea pig. *J. Ethnopharmacol.* 1996; 52: 23-6.

12. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and Toxicological Properties of *Nigella sativa*. *Phytother. Res.* 2003; 17:299–305.

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

14. D'Antuono LF, Moretti A, Lovato FSA. Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. *Indust. Crops. Prod.* 2002; 15: 59-69.

15. Ghosheh OA, Houdi AA, Crooks PA. High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the Black seed (*Nigella sativa* L.). *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1999; 19: 757-62.

16. Hosseinzadeh H, Parvardeh S. Anticonvulsant effects of thymoquinone, the major constituent of *Nigella sativa* seeds, in mice. *Phytomedicine* 2004; 11: 56-64.

17. Paxions G, Watson C. *The Rat Brain*. Academic Press, San Diego, p: 22.

18. Brogden RN, Goa KL. Flumazenil: a preliminary review of its benzodiazepine antagonist properties, intrinsic activity and therapeutic use. *Drugs* 1988; 35: 448-67.

Archive of SID

www.SID.ir

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

20. Yajima Y, Naritaa M, Takahashi-Nakano Y, Misawa M, Nagase H, Mizoguchi H, Tseng LF, Suzuki T. Effects of differential modulation of μ-, δ- and κ-opioid systems on bicuculline-induced convulsions in the mouse. *Brain Res.* 2000; 862: 120-26.

21. Werz RL, Macdonald MA. Dynorphin reduces voltage-dependent calcium conductance of mouse dorsal root ganglion neurons. *Neuropept.* 1984; 5: 253–6.

22. Werz MA, Macdonald RL. Dynorphin and neoendorphin peptides decrease dorsal root ganglion neuron calcium-dependent action potential duration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1985; 234: 49–56.

Archive of SID

www.SID.ir