

مقایسه اثر عصاره آبی و هیدروالکلی گل بابونه (*Matricaria recutita* L.) بر علائم قطع مصرف مرفین در حضور و غیاب تاموکسیفن

مهناز کسمتی^{۱*}، احمد زند مقدم^۲، اشرف هوشمندنیا^۳ و زهرا عباسی^۴

*۱- نویسنده مسئول، دانشیار، بخش زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، پست الکترونیک: kesmatim@scu.ac.ir amahnazkessmati@yahoo.com

۲- استاد، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

۳- مربی آموزشیار، بخش زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۴- کارشناس ارشد، بخش زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۸

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۷

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۸۶

چکیده

مطالعات نشان داده که گیاه بابونه (*Matricaria recutita* L.) دارای ترکیبهای فیتواستروژنی است. فیتواستروژنها به‌عنوان آگونیست ضعیف و یا آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی عمل می‌کنند. از سوی دیگر نشان داده شده که هورمونهای جنسی در وابستگی به مواد مخدر مؤثر هستند. در این تحقیق اثر تجویز حاد عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه بابونه بر علائم قطع مصرف مرفین در حضور و غیاب آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی در حیوان معتاد مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. برای این منظور از موش نر بالغ با میانگین وزنی 24.0 ± 3.0 استفاده شد. جهت معتاد نمودن موشها از مرفین و برای قطع مصرف مرفین از نالوکسان استفاده شد و رفتارهای ایستادن روی دو پا، پرش و تیمار ناشی از قطع مرفین مورد ارزیابی قرار گرفت. برای بررسی اثر ترکیبهای فیتواستروژنیک هر دو نوع عصاره بابونه از داروی تاموکسیفن (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی و از کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC) برای بررسی میزان ترکیبها با خاصیت فیتواستروژنی در دو نوع عصاره فوق استفاده شد. نتایج نشان داد: (۱) عصاره هیدروالکلی بابونه به میزان ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌دار رفتار روی دو پا ایستادن و تیمار شد، در حالی‌که عصاره آبی فقط رفتار روی دو پا ایستادن را کاهش داد. بنابراین عصاره هیدروالکلی تسکین بهتری نسبت به عصاره آبی بر رفتارهای ناشی از قطع مرفین داشت. (۲) تاموکسیفن از کاهش رفتار روی دو پا ایستادن ناشی از هر دو عصاره بابونه ممانعت کرده و اثر افزایشی بر رفتار تیمار داشت. (۳) مصرف تاموکسیفن به‌تنهایی اثر افزایشی بر رفتار پرش و تیمار اعمال کرده ولی اثر عکس بر رفتار روی دو پا ایستادن نشان داد. (۴) ترکیبهای فیتواستروژنیک آبی‌ژنین و کرایزین هم در عصاره آبی و هیدروالکلی به کمک کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا مشاهده شد، ولی میزان استخراج هر دو در عصاره هیدروالکلی بیشتر بود. بنابراین به نظر می‌رسد که ترکیبهای فیتواستروژنیک عصاره، در ایجاد اثر تسکینی بابونه در برخی علائم قطع مصرف مرفین سهیم بوده و احتمالاً این عمل را از طریق گیرنده‌های سیستمهای نوروشیمیایی مربوط به پدیده وابستگی در سیستم عصبی مرکزی انجام می‌دهند.

واژه‌های کلیدی: *Matricaria recutita* L.، فیتواستروژن، تاموکسیفن، قطع مصرف مرفین.

مقدمه

پدیده اعتیاد تابعی از فرایندهای مختلف سلولی است که در نتیجه مصرف مداوم داروی مخدر ایجاد می‌شود. سیستم عصبی فرد معتاد دچار تغییرات زیادی می‌شود و نتیجه این تغییرات اختلالات رفتاری پایدار است (Koob & Bloom, 1988; Nestler, 2001). به علت مکانیسم پیچیده و تأثیرات پایدار مواد مخدر بر سلولهای بدن، بیشتر درمانهای موجود برای ترک معتادان کافی نبوده و خطر برگشت به سمت مواد مخدر وجود دارد.

تحقیقات اخیر نشان داده که عصاره هیدروالکلی گل بابونه باعث کاهش چشمگیر علائم ناشی از قطع مصرف مرفین در مدل‌های حیوانی معتاد شده و با مواد تولیدی مغز در هنگام وابستگی به مواد مخدر مقابله می‌کند (کسمتی و همکاران، ۱۳۸۵؛ Goma et al., 2003).

برخی گزارشها حکایت از آن دارد که اجزایی شبیه بنزودیازپین‌ها در عصاره بابونه مسئول اثر آرام‌بخشی و یا تسکینی آن می‌باشد (Nemecz, 2000). از سوی دیگر مشخص شده که در این گیاه ترکیبهای فیتواستروژنی نیز یافت می‌شود که بعضاً دارای خاصیت تسکینی هستند (Avallone et al., 2000).

فیتواستروژنها ترکیبهایی هستند که در بسیاری از گیاهان وجود دارند و از خود خواص استروژنی و در بعضی موارد ضد استروژنی نشان می‌دهند (Brieholt et al., 2000). عملکرد این مواد شیمیایی گیاهی در پیوند با گیرنده‌های استروژن در سلولهای بدن انسان آن‌چنان شبیه هورمونهای طبیعی است که باید آن را یکی از طرفندهای تکامل بشر در بهره‌گیری از طبیعت دانست (Tamaya et al., 2005; McDermott et al., 1995). از سوی دیگر، در تحقیقات اخیر نشان داده شده که استروژنها در میزان

وابستگی به مواد مخدر نقش دارند (کسمتی و نماینده، ۱۳۸۵). همچنین نشان داده شده استروژن و پروژسترون پاسخهای فیزیولوژیکی تجویز پپتیدهای اوبیوئیدی را سرکوب می‌نمایند (Sinchak & Micevych, 2001; Weiland, 1992).

در رابطه با سایر پدیده‌های فیزیولوژیک رنج‌آور مشخص شده استروژنها باعث کاهش میزان سردرد، اضطراب و بیخوابی می‌شوند (Tropp et al., 2005; Limouzin-lamothe & Mairon, 1994). از نظر مکانیسم عمل تسکینی استروئیدهای تخمدانی گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد هورمونهای تخمدانی مستقیماً روی گیرنده گابا اثر می‌کند و استروژن ممکن است حساسیت گیرنده را به‌طور مستقیم تحت تأثیر قرار دهد یا از طریق فعال کردن ناقلین شیمیایی دیگر روی سیستم گابا اثر کند (Laconi et al., 2001).

با توجه به وجود برخی ترکیبهای فیتواستروژنیک در این گیاه و دخالت استروژنها در وابستگی به مواد مخدر، میزان تأثیر احتمالی این ترکیبها در وابستگی به مواد مخدر مشخص نمی‌باشد. بنابراین این مطالعه جهت بررسی مکانیسم اثر و مقایسه تجویز حاد دو نوع عصاره آبی و هیدروالکلی گل بابونه بر میزان وابستگی مزمن به مرفین با بررسی اثر تسکینی آنها بر علائم ناشی از قطع مصرف مرفین توسط نالوکسان در حضور آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی طراحی شده است. نتایج این تحقیق روشن می‌سازد که چه نوع عصاره بهترین تأثیر را دارد و آیا می‌توان از این گیاه با داشتن مواد فیتواستروژنیک به‌عنوان یک داروی مؤثر جهت کاهش علائم آزاددهنده سندرم ترک در انسان استفاده کرد؟

مواد و روشها

مرفین ۱۰ میلی‌گرم در روز چهارم، مرفین ۲۰ میلی‌گرم در روز پنجم و مرفین ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز ششم استفاده شد. در روز هفتم که آخرین تزریق مرفین بود حیوانات یک تک دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند (Dluzen, 2000).

روش القاء سندرم قطع مرفین

حیوانات به‌طور داخل صفاقی ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم نالوکسان (آنتاگونیست گیرنده‌های موآپیوئیدی) بوضوح حاد چهار ساعت بعد از آخرین تزریق مرفین در روز هفتم دریافت کردند. بلافاصله بعد از تزریق نالوکسان ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم، حیوانات در استوانه شیشه‌ای با قطر ۲۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر برای مشاهده علائم قطع شامل رفتارهای ایستادن روی دو پا، پرش و تیمار به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند (Dluzen, 2000).

روش تهیه عصاره آبی گل بابونه

سرشاخه‌های گلدار بابونه ابتدا در آسیاب برقی در حد ملایم پودر شد. پودر بدست آمده به نسبت وزنی-حجمی یک صدم با آب مقطر (یک گرم بابونه با ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر) مخلوط شد. بعد در حمام آب گرم و زیر نقطه جوش به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه خیسانده و پس از صاف کردن محلول مورد نظر با کاغذ صافی، محلول مجدداً در حمام آب گرم (زیر نقطه جوش) قرار گرفت تا آب اضافی آن تبخیر شود و نهایتاً عصاره عسلی شکل بدست آمد. عصاره را بر روی شیشه ریخته و در هوای اتاق قرار داده شد تا آب آن تبخیر شود. پودر بدست آمده جمع‌آوری و برای تزریق به حیوان، ۲۵ میلی‌گرم از آن، در ۱۰ سی‌سی سالین حل شد و براساس وزن حیوان از محلول بدست آمده استفاده شد (Khalil, 2004).

در این تحقیق از موشهای صحرایی نر بالغ نژاد ویستار خریداری شده از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز با وزن تقریبی 240 ± 30 گرم در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با آب و مواد غذایی کافی و در گروههای زیر استفاده شد:

۱) گروه کنترل (دریافت‌کننده سالین)، (۲) گروه دریافت‌کننده عصاره آبی بابونه (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، (۳) گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی بابونه (۲۵ میلی‌گرم)، (۴) گروه دریافت‌کننده سالین + عصاره آبی بابونه (۲۵ میلی‌گرم)، (۵) گروه دریافت‌کننده تاموکسیفن (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) + عصاره آبی گل بابونه (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، (۶) گروه دریافت‌کننده تاموکسیفن (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) + عصاره هیدروالکلی گل بابونه (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، (۷) گروه دریافت‌کننده تاموکسیفن (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم).

تعداد موشها در گروههای فوق ۷ سر موش بوده است. سرگلهای بابونه نیز در فصل بهار از بهبهان تهیه شدند. سولفات مرفین تهیه شده از شرکت تماد-ایران، نالوکسان هیدروکلرید ساخت شرکت تولید دارو (ویال ۰/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و تاموکسیفن ساخت شرکت ایران هورمون بودند.

روش القاء وابستگی به مرفین

مرفین به‌طور مزمن و زیرپوستی روزی دو بار به مدت هفت روز تزریق شد. دوز مرفین برای روز اول و دوم ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که این دوزها برای روزهای بعد دو برابر شد (بدین ترتیب که مرفین ۲/۵ میلی‌گرم در روزهای اول و دوم، مرفین ۵ میلی‌گرم در روز سوم،

محیط ۳ مولار اسیدکلریدریک در متانول به مدت یک ساعت refluxe شدند. بعد حلالها (متانول و اسیدکلریدریک) به کمک دستگاه گردنده تبخیر در خلأ (Rotary vacuum evaporator) تبخیر شده و نمونه‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر متانول حل شدند. پس از سانتریفوژ کردن و عبور از صافی ۰/۴۵ میکرون مقدار ۲۰ میکرولیتر به دستگاه HPLC تزریق شد (Safaei & Haghi, 2004)؛ دستگاه (Iwashina *et al.*, 2006). نتایج بدست آمده بر روی کاغذ رسم شدند.

محاسبات آماری

محاسبات آماری توسط نرم‌افزار SPSS انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند. روشهای آماری بکار رفته در این تحقیق شامل آزمون t برای مقایسه دو گروه و آنالیز واریانس یک طرفه و Post Hoc LSD برای چند گروه بود. در تمامی موارد $P < 0.05$ به‌عنوان مرز معنی‌دار بودن تفاوتها در نظر گرفته شد. همه داده‌ها به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار از میانگین در نمودارها ارائه شده‌اند.

نتایج

اثر عصاره آبی بابونه بر علائم قطع مصرف مرفین (ایستادن روی دو پا، پرش و تیمار)

شکل ۱، اثر عصاره آبی بابونه را با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به سالین بر سه رفتار ناشی از قطع مصرف مرفین (ایستادن، پرش و تیمار) نشان می‌دهد. همچنان که ملاحظه می‌شود عصاره یاد شده باعث کاهش معنی‌دار رفتار ایستادن ($P < 0.001$) شده ولی بر رفتارهای تیمار و پرش اثر معنی‌داری اعمال نکرده است.

روش تهیه عصاره هیدروالکلی گل بابونه

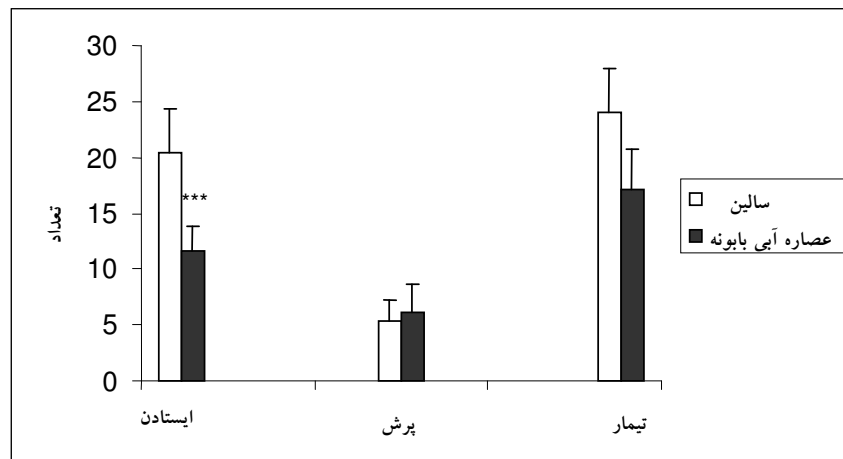
ابتدا ۲۰ گرم از پودر سرشاخه‌های گلدار بابونه درون ارلن درب‌دار ریخته شد و ۲۰۰ میلی‌گرم الکل اتیلیک ۷۰ درجه به آن اضافه شد. بعد از ۴۸ ساعت محتویات داخل ظرف به‌وسیله کاغذ صافی و قیف شیشه‌ای صاف شد. بعد محلول را در دستگاه روتاری در دمای ۷۵ درجه با دور متوسط قرار داده و بعد از خروج حلال مایع غلیظ روی شیشه‌ای پهن شد تا خشک شود. عصاره خشک جمع‌آوری و از پودر حاصل به‌عنوان عصاره بابونه استفاده شد. دوز مورد استفاده عصاره بابونه ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تجویز به‌صورت حاد بوده است (Gomaa *et al.*, 2003).

روش کار در دستگاه HPLC

در این تحقیق از دستگاه HPLC (CE 1000, Cecil (instrument (UK) استفاده شد. ۰/۱ گرم از عصاره‌های (هیدروالکلی و آبی) خشک شده (بدون آب) را در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول حل کرده و پس از سانتریفوژ و صاف کردن با فیلتر ۰/۴۵ میکرونی ۲۰ میکرولیتر آن به دستگاه تزریق شد. طول موج مورد استفاده در دتکتور ۲۷۸ نانومتر بوده و فاز متحرک شامل دو حلال A (اسید استیک ۱٪) و حلال B (استونیتریل) بودند که از غشاء ۰/۴۵ میکرون گذشته بودند. در شروع آنالیز از ۹۰٪ حلال A و ۱۰٪ حلال B استفاده شد که طی ۳۰ دقیقه میزان حلال A به تدریج به ۴۰٪ و حلال B به ۶۰٪ رسید. سرعت جریان فاز متحرک ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

هیدرولیز نمونه

به‌منظور اطلاع از فرم‌های آزاد و یا گلیکوزیدی آبی‌ژنین و همچنین سایر فلاونوئیدهای موجود نمونه‌ها در



شکل ۱- اثر عصاره آبی بابونه (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر علائم قطع مصرف مرفین (ایستادن، پرش و تیمار)

در موش نر بالغ (n=۷)، Mean±SEM

آزمونهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه و Post Hoc LSD و آزمون t در رفتار ایستادن، اختلافی با $P < 0.001$ *** را بین دو گروه دریافت کننده عصاره آبی بابونه و سالین نشان داده است.

عصاره بر علائم حاصل از قطع مرفین نشان نداده است. اگرچه با توجه به نتایج شکل ۱ و ۲ (مقایسه عصاره‌ها با گروه کنترل) و مطابق شکل ۳، عصاره هیدروالکلی به طور نسبی اثر تسکینی بهتری را در رابطه با رفتارهای قطع مصرف مرفین نسبت به عصاره آبی نشان می‌دهد.

اثر تاموکسیفن بر رفتارهای قطع مصرف مرفین (ایستادن روی دو پا، پرش و تیمار)

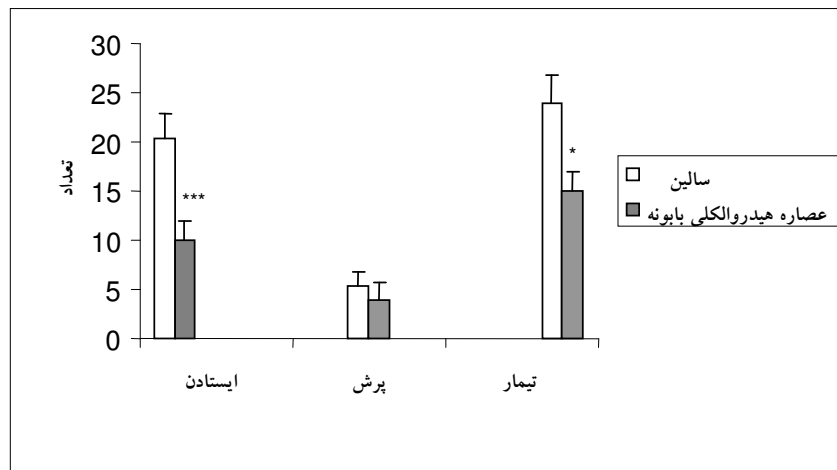
شکل ۴، اثر تاموکسیفن به میزان ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم را بر علائم قطع مرفین نشان می‌دهد. همچنان که ملاحظه می‌شود تاموکسیفن بر رفتار ایستادن اثر کاهشی معنی دار ($P < 0.01$) و بر رفتار پرش و تیمار اثر افزایشی معنی داری به ترتیب با $P < 0.01$ و $P < 0.001$ نشان می‌دهد.

اثر عصاره هیدروالکلی بابونه بر علائم قطع مصرف مرفین (ایستادن روی دو پا، پرش و تیمار)

شکل ۲، اثر عصاره هیدروالکلی بابونه را با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به سالین بر سه رفتار ناشی از قطع مصرف مرفین (ایستادن، پرش و تیمار) نشان می‌دهد. آزمونهای آماری نشان داده است که عصاره یاد شده باعث کاهش معنی دار تعداد رفتار ایستادن ($P < 0.001$) و تیمار ($P < 0.05$) نسبت به حالت کنترل شده، در حالی که بر رفتار پرش اثر معنی داری اعمال نکرده است.

مقایسه اثر عصاره آبی و الکی بابونه بر علائم قطع مرفین (ایستادن روی دو پا، پرش و تیمار)

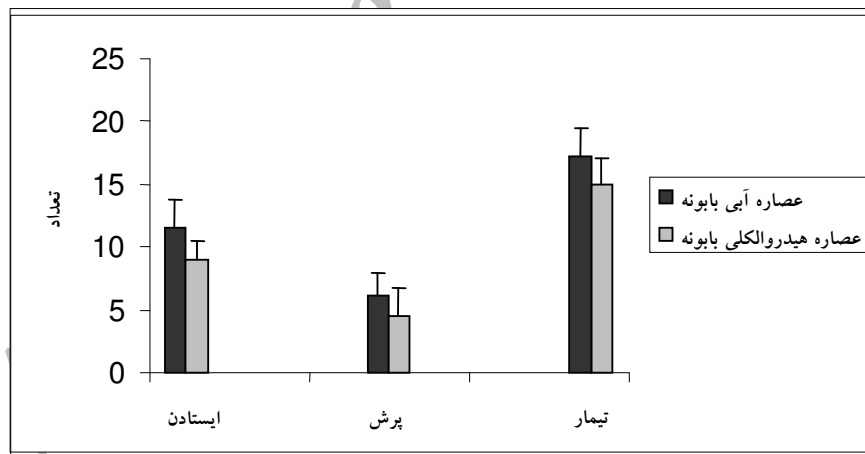
شکل ۳، اثر عصاره آبی و هیدروالکلی گل بابونه (هر دو به میزان ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) را بر علائم قطع مرفین (ایستادن، پرش و تیمار) نشان می‌دهد. همچنان که مشاهده می‌شود آزمونهای آماری اختلافی را بین این دو



شکل ۲- اثر عصاره هیدروالکلی بابونه (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر علائم قطع مصرف مرفین

(ایستادن، پرش و تیمار) در موش نر بالغ (n=7)، Mean±SEM

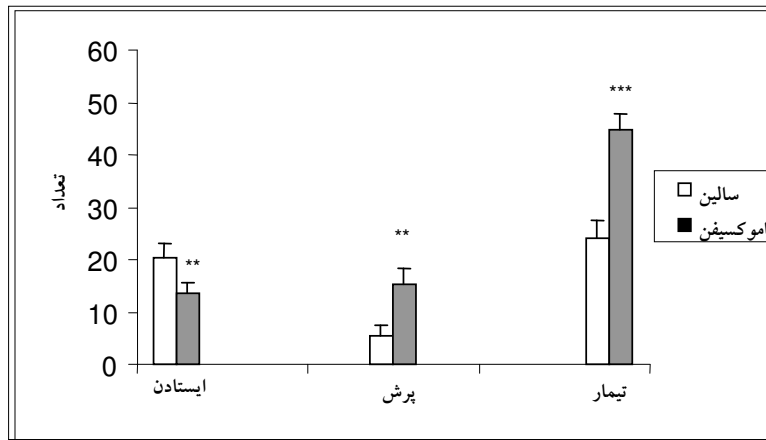
آزمونهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه و Post Hoc LSD و آزمون t در رفتار ایستادن با $P < 0.001^{***}$ و در رفتار تیمار با $P < 0.05^*$ اختلافهایی را بین دو گروه دریافت کننده عصاره هیدروالکلی بابونه و سالین نشان داده است.



شکل ۳- مقایسه اثر عصاره آبی و هیدروالکلی بابونه (هر دو، ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر علائم

قطع مصرف مرفین (ایستادن، پرش و تیمار) در موش نر بالغ (n=7)، Mean±SEM

اختلاف معنی داری بین دو گروه فوق در سه رفتار ایستادن، پرش و تیمار مشاهده نشد.



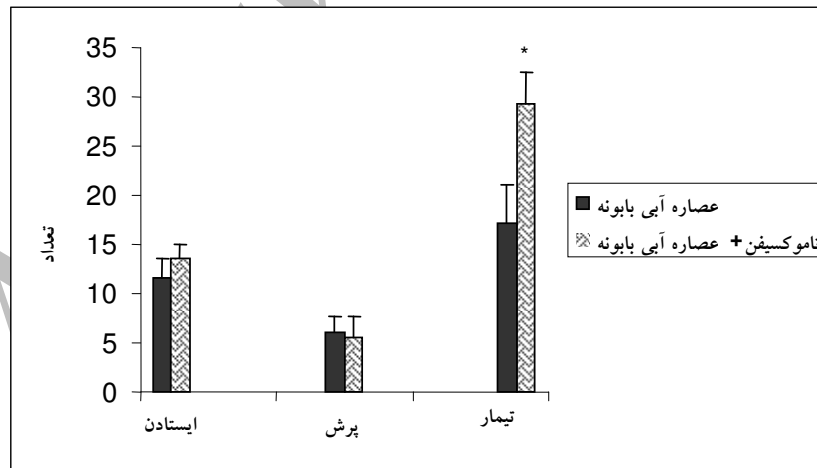
شکل ۴- اثر تاموکسیفن (۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر علائم قطع مصرف مرفین (ایستادن، پرش و تیمار)

در موش نر بالغ (n=7)، Mean±SEM

آزمونهای آماری آنالیز واریانس یک طرفه و Post Hoc LSD در رفتارهای ایستادن و پرش با $P < 0.01$ و در رفتار تیمار با $P < 0.001$ تفاوت‌های معنی‌داری را بین دو گروه دریافت‌کننده تاموکسیفن و سالمین نشان داده است.

نشان می‌دهد. آزمون آنالیز واریانس و پس‌آزمون LSD و آزمون t اختلاف معنی‌داری را با $P < 0.05$ در رفتار تیمار در دو گروه زیر نشان می‌دهد.

اثر عصاره آبی بابونه بر علائم قطع مرفین (ایستادن روی دو پا، پرش و تیمار) در حضور تاموکسیفن شکل ۵، اثر عصاره آبی بابونه را بر علائم قطع مرفین در حضور و غیاب تاموکسیفن (۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم)



شکل ۵- اثر عصاره آبی بابونه (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر علائم قطع مرفین (ایستادن، پرش و تیمار) در حضور و غیاب

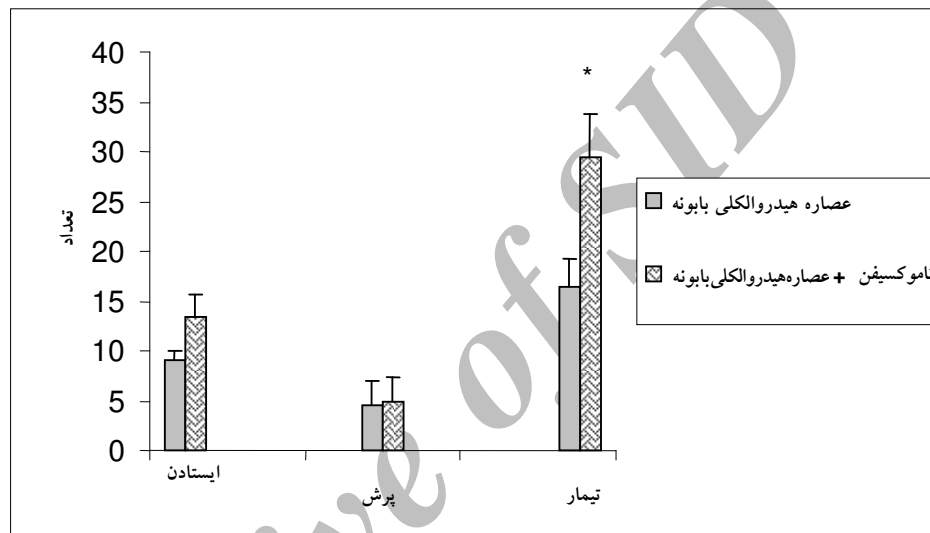
تاموکسیفن (۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) (n=7)، Mean±SEM

مقایسه اثر عصاره آبی و هیدروالکلی گل بابونه...

آزمونهای آنالیز واریانس یک طرفه و Post Hoc LSD و آزمون t در رفتار تیمار با $P < 0.05$ بین دو گروه دریافت کننده عصاره آبی بابونه و تاموکسیفن + عصاره آبی بابونه اختلاف معنی داری را نشان داده است.

که عصاره هیدروالکلی مشابه عصاره آبی، اختلاف معنی داری را با $P < 0.05$ در رفتار تیمار دو گروه نشان می دهد.

اثر عصاره هیدروالکلی بابونه بر علائم قطع مصرف مرفین (ایستادن، پرش و تیمار) در حضور تاموکسیفن
شکل ۶، اثر عصاره هیدروالکلی بابونه را بر علائم قطع مرفین در حضور و غیاب تاموکسیفن (۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) نشان می دهد. آزمونهای آماری مشخص می کند



شکل ۶- اثر عصاره هیدروالکلی بابونه (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر علائم قطع مرفین (ایستادن، پرش و تیمار) در حضور و

غیاب تاموکسیفن (۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) (Mean±SEM, (n=7)

آزمونهای آنالیز واریانس یک طرفه و Post Hoc LSD و آزمون t در رفتار تیمار با $P < 0.05$ بین دو گروه دریافت کننده عصاره هیدروالکلی بابونه و تاموکسیفن + عصاره هیدروالکلی بابونه اختلاف معنی داری را نشان داده است.

بدین ترتیب می توان نتیجه گیری کرد که غلظت فلاونوئیدهای فوق در عصاره هیدروالکلی بیش از دو برابر عصاره آبی است.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره آبی و هیدروالکلی بابونه در دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم باعث

نتایج آنالیز عصاره های بابونه با HPLC

نتایج حاصل از تعیین نسبت درصد پیک فلاونوئیدهای آپی ژنین گلوکورونید، آپی ژنین و کرایزین در عصاره آبی به هیدروالکلی در طیف های HPLC نشان می دهد که نسبت آپی ژنین گلوکورونید عصاره آبی به هیدروالکلی ۴۷٪، نسبت آپی ژنین عصاره آبی به هیدروالکلی به طور مشابه ۴۷٪ و نسبت کرایزین آبی هیدروالکلی ۴۵٪ است.

فلاونوئیدهای موجود در بابونه که در طیف HPLC عصاره هیدروالکلی نسبت به آبی بدست آمد مؤید یافته‌های رفتاری فوق می‌باشد. زیرا یکی از اعمال فلاونوئیدها اثر تسکینی آنها می‌باشد (Griebel et al., 1999؛ Viola et al., 1995؛ Wolfman et al., 1994) که مؤید نتایج این تحقیق می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی اثر بابونه در حضور آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی مانند تاموکسیفن نشان داد که تاموکسیفن بعضاً اثر ممانعتی و یا تحریکی بر رفتارهای ناشی از قطع مرفین داشته، درحالی که وقتی این دارو به تنهایی مصرف شود اثر دوگانه بر علائم قطع مرفین دارد. با توجه به آنتاگونیزه کردن برخی رفتارها توسط تاموکسیفن، به نظر می‌رسد این عمل احتمالاً ناشی از ممانعت از اثر ترکیبهای فیتواستروژنیک باشد که در هر دو عصاره موجود بوده و بر گیرنده‌های استروژنی مؤثر می‌باشند و احتمالاً برای تحت تأثیر قرار دادن سایر رفتارها به مقادیر بیشتری از تاموکسیفن نیاز بوده است.

به‌هرحال شواهدی وجود دارد که حاکی از وجود خواص استروژنی و پروژسترونی ضعیف برای گیاه بابونه است. در مطالعه یاد شده نشان داده شده که آپی‌ژنین موجود در بابونه دارای فعالیت استروژنی و پروژسترونی ضعیفی می‌باشد (Rosenberg Zand et al., 2001). همچنین گزارشهای دیگری وجود دارد که نشان می‌دهد آپی‌ژنین و کرایزین موجود در بابونه اثر مهارکنندگی بر آنزیم آروماتاز دارد (Pelissero et al., 1996). همچنین فعالیت فیتواستروژنی، آنتی‌اکسیدانی و ضد اضطرابی (Avallone et al., 2000؛ Lund & Lephart, 2001) برای این ترکیبها مطرح شده است که اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد اضطرابی ترکیبهای

کاهش برخی علائم قطع مصرف مرفین شده و در مقام مقایسه عصاره هیدروالکلی بابونه اثر تسکینی بهتری را در دوز مذکور نسبت به گروه کنترل اعمال نمود. مشابه این تحقیق، Gomaa و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که تجویز عصاره هیدروالکلی بابونه از گونه *Matricaria chamomilla* در همین دوز وابستگی به مرفین را کاهش می‌دهد. در این تحقیق مشخص شد که استعمال حاد عصاره متانولی بابونه در موشهای وابسته به مرفین، رفتارهای ناشی از قطع مصرف مرفین شامل دندان قروچه، لرزش بدن، ادرار و افتادگی پلک را کاهش می‌دهد (Gomaa et al., 2003). ضمناً در مطالعه دیگری نشان داده شده که استفاده مزمن عصاره بابونه با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، هم‌زمان با هر تزریق مرفین طی چهار روز باعث کاهش معنی‌دار رفتار پرش به هنگام قطع مصرف مرفین با نالوکسان در موش سوری نر می‌شود (هنروان و همکاران، ۱۳۸۳).

در تحقیقی دیگر مشخص شد که مصرف حاد و مزمن عصاره متانولی بابونه نه تنها باعث کاهش علامت پرش ناشی از قطع مصرف مرفین می‌شود، بلکه موجب کاهش بیان فاکتور رونویسی c-fos در مغز موش سوری نر می‌شود که این امر نشان‌دهنده اثر مرکزی بابونه در سطح سلولی مولکولی می‌باشد (کسمتی و همکاران، ۱۳۸۵). به‌نظر می‌رسد این نوع بابونه اثر تسکینی خود را بر علائمی مانند پرش که در این مطالعه بی‌تأثیر بوده است در موشهای بزرگ و بیستار در دوز بالاتری اعمال می‌نماید. بنابراین با توجه به اثر تسکینی بیشتر عصاره هیدروالکلی نسبت به عصاره آبی، به‌نظر می‌رسد که در عصاره‌گیری با استفاده از الکل، ترکیبهای تسکین‌دهنده بیشتری استخراج می‌شود. استخراج مقادیر بیشتری از

تفسیر برخی رفتارها به تنهایی میسر نمی‌باشد. از سوی دیگر، با توجه به نقش دوگانه تاموکسیفن مانند کاهش غیر قابل انتظار در خصوص تجویز آن به تنهایی بر رفتار ایستادن و ضمناً ممانعت کاهش این رفتار در حضور عصاره‌های بابونه و نیز افزایش رفتار تیمار، به نظر می‌رسد خواص این دارو به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی در آینده باید بیشتر مورد مطالعه و بررسی محققان قرار گیرد.

پس به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی، پیشنهاد می‌شود که ترکیب‌های فیتواستروژنیک در ایجاد اثر تسکینی بابونه در برخی علائم قطع مصرف مرفین سهیم بوده و احتمالاً این عمل را از طریق گیرنده‌های سیستم‌های نوروشیمیایی مربوط به پدیده وابستگی در سیستم عصبی مرکزی انجام می‌دهد.

منابع مورد استفاده

- کسمتی، م.، گله‌داری، ح. و مساح، ا.، ۱۳۸۵. بررسی تجویز مزمن عصاره بابونه بر بیان c-fos هنگام قطع مصرف مرفین در موش سوری نر بالغ. فصلنامه پزشکی یاخته، ۸(۴): ۲۵۱-۲۴۶.
- کسمتی، م. و نماینده، ح.ر.، ۱۳۸۵. اثر استرادیول بر سندرم قطع مرفین در موش سفید کوچک اوارکتومی شده وابسته به مرفین. مجله غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران، ۸(۱): ۹۶-۹۱.
- هنروان، ف.، کسمتی، م.، اسماعیلی، م.، جعفری، ح.، جهانی هاشمی، ح. و عباسی، ا.، ۱۳۸۳. بررسی تأثیر عصاره بابونه بر علائم قطع مصرف مرفین در موش‌های سوری نر. ویژه‌نامه سومین همایش سراسری اعتیاد، ۹-۷ بهمن: ۱۲۱.
- Avallone, R., Zanolli, P., Puia, G., Klein Schnitz, M., Schreier, P. and Baraldi, M., 2000. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *Matricaria chamomilla*. *Biochemical Pharmacology*, 59(11):1387-1394.
- Brienholt, V., Hossaini, A., Svendsen, G.W., Brouwer, C. and Nielsen, E., 2000. Estrogenic activity of flavonoids in mice. The importance of estrogen receptor distribution, metabolism and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, 38(7): 555-564.

فیتواستروژنی بابونه می‌تواند مؤیدی بر اثر تسکینی بابونه در عوارض ناشی از قطع مرفین باشد.

با توجه به اثر تسکینی بابونه و نقش مهاری تاموکسیفن، در این رابطه دو مکانیسم احتمالی را می‌توان مطرح نمود:

۱- با توجه به شواهد فوق و با عنایت به خاصیت ویژه فیتواستروژنها در برابر مقادیر متفاوت استروژن‌های طبیعی که گاهی اثر کاهشی و مواردی به‌صورت افزایشی بروز می‌نماید (Avallone *et al.*, 2000)؛ به‌نظر می‌رسد نقش ترکیب‌های فیتواستروژنیک عصاره‌های آبی و هیدروالکلی بابونه در موش‌های نر با توجه به مقادیر اندک هورمون‌های استروژنی در آنها، تقویت شده و مانند استروژن‌های طبیعی در کاهش وابستگی به مرفین نقش مؤثری ایفاء می‌نمایند (Sinchak & Micevych, 2001) و در صورتی که از این عمل استروژنی با تجویز آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی جلوگیری نماییم از اثر تسکینی بابونه کاسته خواهد شد.

۲- از آنجایی که نشان داده شده هورمون‌های تخمدانی مانند استروژنها قادر به فعال کردن گیرنده‌های گابا-A می‌باشند (Laconi *et al.*, 2001; Veliz *et al.*, 2000) و از سوی دیگر گیرنده‌های گابا-A اثر مهاری بر بسیاری از فرایندهای عصبی اعمال می‌کنند، پس به‌نظر می‌رسد که ترکیب‌های فیتواستروژنیک بابونه مشابه استروژنها با تحت تأثیر قرار دادن گیرنده‌های گابا اثر تسکینی خود را اعمال می‌کنند (Laconi *et al.*, 2001). از آنجایی که گیرنده‌های گابا-A بدلیل داشتن جایگاه‌های متفاوت دارای پیچیدگی خاصی هستند و از سوی دیگر ترکیب‌های متنوعی در بابونه وجود دارد، بنابراین مجزا نمودن برخی از خواص ترکیب‌های بابونه و عدم توجه به خواص ترکیب‌های دیگر

- Pelissero, C., Lenczowski, M.J.P., Chinzi, D., Davail-cuisset, B., Sumpter, J.P. and Fostier, A., 1996. Effects of flavonoids on aromatase activity, an invitro study. *Steroid Biochemical Molecular Biology*, 57(3/4):215-223.
- Rosenberg Zand, R.S., Jenkins, D.J. and Diamandis, E.P., 2001. Effects of natural products and nutraceuticals on steroid hormone-regulated gene expression. *Clinical Chim Acta*, 312: 213-219.
- Safaei, A. and Haghi, G., 2004. Identification and quantitative determination of flavonoids in the aerial parts of *Teucrium polium* by HPLC. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2: 90-93.
- Sinchak, K. and Micevych, P.E., 2001. Progesterone blockade of estrogen activation of μ -opioid receptors regulates reproductive behavior. *Journal of Neuroscience*, 21(15): 5723-5729.
- Tamaya, T., 2005. Phytoestrogens and reproductive biology. *Reproductive Medicine and Biology*, 4: 225-229.
- Tropp, J., Figueiredo, C.M. and Markus, E.J., 2005. Stability of hippocampal place cell activity across the rat estrous cycle. *Hippocampus*, 15(2): 154-165.
- Veliz, D., Butron, G.S., Benavides, M.S., Duss Aubat, N. and Mora, S., 2000. Gender, estrous cycle, ovariectomy and ovarian hormones influence the effects of diazepam on avoidance conditioning in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 66: 887-892.
- Viola, H., Wasowski, I.C., Levi de Stein, M., Wolfman, C., Silveira, R., Dajas, F., Medina, J.H. and Paladini, A.C., 1995. Apigenin, a component of *Matricaria recutita* flowers, is a central benzodiazepine receptors-ligand with anxiolytic effects. *Planta Medica*, 61(3): 213-216.
- Weiland, N.G., 1992. Glutamic acid decarboxylase messenger ribonucleic acid is regulated by estradiol and progesterone in the hippocampus. *Endocrinology*, 131: 2697-2701.
- Wolfman, C., Viola, H., Paladini, A., Dajas, F. and Medina, J.H., 1994. Possible anxiolytic effects of crysine, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora caerulea*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 47(1): 1-4.
- Zanolini, P., Avallone, R. and Brandi, M., 2000. Behavioral characterization of the flavonoids apigenin and chrysin. *Journal of Fitoterapia*, 71: 117-123.
- Dluzen, D.E., 2000. Neuroprotective effects of estrogen upon the nigrostriatal dopaminergic system. *Journal of Neurocytology*, 29(5-6): 387-399.
- Gomaa, A., Hashem, T., Mohamed, M. and Ashry, E., 2003. *Matricaria chamomilla* extract inhibits both development of morphine dependence and expression of abstinence syndrome in rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, 92: 50-55.
- Griebel, G., Perrault, G., Tan, S., Schoemaker, H. and Sanger, D.J., 1999. Pharmacological studies on synthetic flavonoids: comparison with diazepam. *Neuropharmacology*, 38(7): 965-977.
- Iwashina, T., Benitez, E.R. and Takahashi, R., 2006. Analysis of flavonoids in pubescence of soybean near-isogenic lines for pubescence color loci. *Journal of heredity*, 97(5): 438-443.
- Khalil, E.A.M., 2004. Antidiabetic effect of an aqueous extract of pomegranate (*Punica granatum L.*) peels in normal and alloxan diabetic rats. *The egyptian Journal of Hospital Medicine*, 16: 92-99.
- Koob, G.F. and Bloom, F.F., 1988. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science*, 242: 715-725.
- Laconi, M.R., Casteller, G., Gargiulo, P.A., Bregonzio, C. and Cabrera, R.J., 2001. The anxiolytic effect of allopregnanolone is associated with gonadal hormonal status in female rats. *European Journal of Pharmacology*, 417: 111-116.
- Limouzin-lamothe, M.A. and Mairon, N., 1994. Quality of life after the menopause: influence of hormonal replacement therapy. *American Journal Obstetric Gynecology*, 170: 618-624.
- Lund, T.D. and Lephart, E.D., 2001. Dietary soy phytoestrogens produce anxiolytic effects in the elevated plus-maze. *Brain Research*, 913: 180-184.
- McDermott, J.L., Liu, B. and Dluzen, D.E., 1995. Tamoxifen treatment of ovariectomized mice alters dopamine release from striatal tissue fragments superfused in vitro. *Brain Research*, 6: 698(1-2): 248-252.
- Nemezc, G., 2000. Herbal Pharmacy: chamomile, This widely available herb has diverse therapeutic uses, including antiphlogistic, sedative and antimicrobial effects. *U.S. Pharmacist*, 23: 115-123.
- Nestler, E.J., 2001. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Neurosciences*, 2: 119-128.

Comparison between *Matricaria recutita* L. aqueous and hydroalcoholic extract on morphine withdrawal signs in the presence and absence of Tamoxifen

M. Kesmati^{1*}, A. Zande Moghadam², A. Hoshmand Nia³ and Z. Abasizadeh³

1*- Corresponding author, Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran,

E-mail: mahnazkessmati@yahoo.com, kesmatim@scu.ac.ir

2- Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Iran

3- Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

Received: February 2008

Revised: February 2009

Accepted: May 2009

Abstract

Various studies indicated that the phytoestrogenic components exist in the *Matricaria recutita* L. Phytoestrogens act as a weak agonist and/or antagonist of estrogen receptors. On the other hand, it has been showed that the sex hormones affect dependency of narcotic drugs. In the present study the effect of aqueous and hydroalcoholic extract of *Matricaria recutita* on morphine withdrawal signs in presence and/or absence of estrogen receptor antagonist were investigated. Male adult wistar rats weighing 240 ± 30 gram classified in groups of seven were used. Morphine and naloxone were applied for dependence and withdrawal syndrome induction, respectively. Rearing, jumping and grooming were evaluated. Tamoxifen (0.5 mg/kg) as an estrogen antagonist was applied. High performance liquid chromatography (HPLC) was used for comparison between phytoestrogenic components of both extracts. Results showed that: 1) Hydroalcoholic extract of *Matricaria recutita* decreased rearing and grooming significantly but aqueous extract attenuated only rearing, therefore hydroalcoholic extract of *MR* had more sedative effect than the aqueous extract. 2) Tamoxifen prevented the *MR* induced rearing decline, but increased grooming sign in presence of both extract. 3) Tamoxifen increased jumping and grooming behaviors but decreased rearing sign. 4) HPLC showed the presence of apigenine and chrysin (phytoestrogenic components) in aqueous and hydroalcoholic extract of *MR* but the extraction amount of them was more in hydroalcoholic than the aqueous extract. It seems the phytoestrogenic components of both *MR* extracts induce sedative effect on some of morphine withdrawal behaviors and probably by interaction with some neurochemical systems of dependence phenomena in central nervous system.

Key Words: *Matricaria recutita* L., phytoestrogen, tamoxifen, morphine withdrawal syndrome.