بررسي اثر عصاره تام ريزوم **Nardostachys jatamansi** در ايجاد تحمل ناشي از مورفين در موش سوري و تاثير توام آن با كتامين

بهلول حبيبي[۱]، مريم حقير مددي[۱]، سولماز اثني اعشري[۲]، عباس دل آذر*[۱و۲]

[۱] دانشكده داروسازي دانشگاه علوم پزشكي تبريز، [۲] مركز تحقيقات كاربردي دارويي دانشگاه علوم پزشكي تبريز

تاريخ دريافت: ۸٤/۷/۱۱ ، تاريخ پذيرش: ۸۵/۱۱/۱۱

Study of effect of Nardostachys Jatamansi DC rhizomes extract on tolerance induced by morphine in mice and the effectiveness of its coadministration with ketamine

Habibi Asl B.[1], Hagheermadadi M. [1], Asnaashari S. [2], Delazar A. [3*]

[1] School of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, [2] Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences,

[3] School of Pharmacy and Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences

Received: 2005/10/3 , Accepted: 2007/1/31

Objectives: Nardostachys Jatamansi DC has been used in traditional medicines of various countries because of seadative, anticonvulsion and analgesic properties. **Methods:** In this study, first, the rhizome of N. Jatamansi was extracted by hydromethanolic (70%) solvent and then, the presence of valporoates, in total extract, was revealed by GC-MS analysis of its n-Hexane fraction. For studying the effectiveness of N. Jatamansi total extract (NJTE) and its co-administration with ketamine (Ket.) in morphine induced tolerance, different groups of mice received morphine (30mg/kg,ip) , morphine (30mg/kg,ip) + Ket. (25, 50, 75 mg/kg,ip), morphine (30 mg/kg,ip) + NJTE (10,20,30 mg/kg,ip) or morphine (30mg/kg,ip) + Ket. (25 mg/kg,ip) + NJTE (10mg/kg, ip) for four days. Pretreatment was done 30 min before daily morphine administration. Tolerance was assessed by administration of morphine (9mg/kg, ip) and using hot-plate test on fifth day. **Results:** The GC-MS analysis of the n-hexan fraction of total extract led to the identification and quantification of fifteen compounds, the main components were 9-Aristolen-1-alpha-ol (31.1%), Valerenal (31%) and Valerenic acid (26.5%). Pharmacological results showed that Ket. inhibited the development of morphine induced tolerance in the dose dependent manner although the maximum inhibition was observed at the dose of 20 mg/kg of NJTE. Co-administration of both drugs revealed synergistic effect. **Conclusion:** NJTE, Ket. and co-administration of both drugs significantly inhibited the development of morphine induced tolerance.

Key words: *Morphine, Ketamin, Nardostachy Jatamansi, Tolerance, GC-MS.*

زمينه و هدف: گياه سنبل الطيب در طب سنتي بسياري از كشورها بواسطه اثرات آرام بخشي، ضد تشنجي و ضد دردي بكار رفته است. **روشها:** در اين مطالعه ابتدا ريزوم گياه سنبل‌الطيب Nardostachys jatamansi توسط متانل ۷۰% عصاره گيري و سپس به منظور تائيد حضور والپروائها در عصاره تام، فراكسيون n-هگزان آن تهيه و مورد بررسي فيتوشيميايي بوسيله دستگاه GC-MS قرار گرفت. به منظور مطالعه تاثير عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب به تنهايي و يا توام با كتامين در ايجاد تحمل به مورفين، گروههاي مختلف موشهاي سوري نر، مورفين (۳۰mg/kg,ip)، مورفين (۳۰mg/kg,ip)+ كتامين (۷۵ mg/kg,ip و۵۰ و۲۵)، مورفين (۳۰mg/kg,ip) + عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب (۳۰mg/kg,ip و ۲۰ و ۱۰) و مورفين (۳۰mg/kg,ip) + كتامين (۲۵mg/kg,ip) + عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب (۱۰mg/kg,ip) را به مدت ٤ روز متوالي دريافت كردند. در گروههاي درماني تجويز دارو هر روز نيم ساعت قبل از تجويز مورفين صورت گرفت. در روز پنجم نيم ساعت بعد از تجويز مورفين (۹mg/kg,ip) تست تحمل مورفين بوسيله روش هات پليت صورت پذيرفت. **يافته ها:** نتايج آناليز فيتوشيميايي نشان داد كه كه فراكسيون n-هگزاني عصاره تام حاوي بيش از ۱۵ جزء مي باشد كه از عمده ترين آنها ميتوان به تركيبات 9-Aristolen-1-alpha.-ol (۳۱,۱ درصد)، Valerenic acid (۲۶,۵ درصد) و Valerenal (۱۳ درصد) اشاره نمود. بررسيهاي فارماكولوژيكي نشان داد كه كتامين بصورت وابسته به دوز و عصاره تام ريزوم سنبل الطيب با بيشترين پاسخ در دوز ۲۰ mg/kg ميزان تحمل به مورفين را به طور معني داري كاهش ميدهند. در تجويز توام ايندو دارو اثرات سينرژيستي مشاهده گرديد. **نتـــيجه گيري:** عصاره تام ريزوم سنبل الطيب، كتامين و تجويز توام آنها تحمل بـــه مورفين را به طور معني داري كاهش مي دهند.

واژه هاي كليدي: *مورفين، كتامين، سنبل‌الطيب، تحمل، گاز كروماتوگرافي- طيف سنجي جرمي.*

*نويسنده مسئول: دكتر عباس دل آذر، دانشيار، دانشكده داروسازي و مركز تحقيقات كاربردي دارويي دانشگاه علوم پزشكي تبريز، تلفن: ۳۳۷۲۲۵۳-۰۴۱۱، نمابر: ۳۳۴۴۷۹۸-۰٤۱۱

**Corresponding Author: Dr Ábbas Delazar, Associate Professor, School of Pharmacy and Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tel: 0411-3372253; Fax: 0411-3344798; E-mail: delazara@tbzmed.ac.ir*

۱- مقدمه

از جمله مسائل مطرح در پزشكي علاوه بر تشخيص بيماري, علت‌شناسي و پاتولوژي آن, سركوب يا كنترل درد احتمالي توام با بيماري مي باشد. استفاده از داروهاي اوپيوئيدي به عنوان تسكين‌دهنده درد تاريخچه طولاني در امور پزشكي دارد و با وجود پيشرفتهاي زيادي كه در زمينه ساخت داروهاي جديد ضد درد صورت گرفته است, داروهاي اوپيوئيدي از جمله مورفين يكي از موثرترين اقلام دارويي جهت تسكين دردهاي متوسط تا شديد در بيماران, خصوصاً بيماران سرطاني مي‌باشد.

با توجه به اينكه مصرف طولاني‌مدت اوپيوئيدها سبب ايجاد تحمل (نسبت به اثرات ضد دردي) و وابستگي به آنها مي‌شود، بنابراين كارآيي درماني آنها محدود شده و استفاده مزمن ازآين داروها در بيماران با چالش جدي روبرو مي شود.

مكانيسم‌هايي كه طي آنها تحمل و وابستگي پيش مي‌آيند بسيار پيچيده است. به نظر مي‌رسد تحمل و وابستگي نتيجه تغييرات نوروني داخل سلولي مي‌باشد كه اين تغييرات با مصرف طولاني به وقوع مي‌پيوندند (۱).

مطالعات اخير نشان داده‌اند كه مصرف مزمن مورفين سبب تغييرات زيادي در سطح سلولي و مولكولي مي‌شود كه اين تغييرات تحمل و وابستگي به مورفين را تا حدود زيادي توجيه مي‌كنند, برخي از اين تغييرات عبارتند از: Down-regulation گيرنده هاي اوپيوئيدي (۵-۲)، جدا شدن گيرنده‌هاي اوپيوئيدي از G پروتئين (۷-۶)، Up-regulation مسير CAMP (۱۰-۸)، اثرات سيستمهاي وابسته به پروتئين كيناز مانند فعال شدن پروتئين كيناز (Pkc) (۱۲-۱۱)، فعال شدن رسپتورهاي اسيدهاي آمينه تحريكي و باز شدن كانالهاي كلسيمي اين گيرنده‌ها كه اين خود سبب افزايش كلسيم داخل سلول مي‌شود (۱۳) و افزايش فعاليت گيرنده هاي NMDA (۱۵-۱۳).

از طرفي ديگر گياهان دارويي بخش مهمي از طب سنتي بسياري از كشورها را تشكيل ميدهند و در رويكردهاي جديد درماني نيز داراي ارزش و جايگاه ويژه‌اي مي‌باشند. در اين مطالعه اقدام به شناخت هرچه بيشتر تركيبات, اثرات و مكانيسم ضد دردي ناشي از عصاره سنبل‌الطيب گرديده است. اين گياه بواسطه داراي بودن اثرات ضد تشنجي,آرام بخشي، ضد هيستريا و رفع طپش قلب شناخته شده است (۱۶).

طبق مطالعات اخير انجام گرفته بر روي ايسكمي مغزي, اين گياه به عنوان آگونيست گيرنده‌هاي گاماآمينوبوتيريك اسيد (GABA) شناخته شده است (۱۷). احتمال مي‌رود عصاره اين گياه با مهار كاتابوليسم گابا سبب افزايش مقدار گاماآمينوبوتيريك اسيد و تحريك گيرنده‌هاي GABA مي گردد. داروي كتامين به عنوان آنتاگونيست و داروي بيهوشي داخل وريدي در كاهش تحمل اثرگذار است (۱۸ و ۱۹).

۲- مواد و روشها

۲-۱: مواد

n- هگزان, دي كلرومتان, اتانول, متانول، كلريد سديم ۰/۹ درصد, دي متيل سولفوكساييد ساخت كارخانه مرك آلمان و مورفين سولفات, كتامين هيدروكلرايد, ساخت كارخانه Sigma.

۲-۲: وسايل و دستگاهها

دستگاه GC-MS-QP5050A ساخت كارخانه Shimadzu، روتاري اواپوراتور ساخت كارخانه Heidolph آلمان.

۲-۳: حيوانات مورد آزمايش

در اين مطالعه از موشهاي سوري نر در محدوده وزني ۳۰-۲۰g جهت انجام كارهاي آزمايشگاهي استفاده شده است. موشها در گروههاي ۹ تايي به تفكيك داخل قفسه هاي حيوانات نگهداري شده و ۱۲ ساعت در روشنايي و ۱۲ ساعت در تاريكي قرار گرفتند. در اين مطالعه غذا و آب به مقدار كافي در اختيار حيوانات قرار گرفت.

۲-٤: تهيه عصاره تام از ريزوم **Nardostachys jatamansi**

ريزوم خشك شده گياه، از بازار محلي خريداري گرديد و توسط بخش گياه شناسي دانشكده داروسازي مورد شناسايي قرار گرفت. سپس مقدار كافي از آن آسياب و ۱۰۰ گرم از پودر حاصل پس از توزين بوسيله روش ماسراسيون و با حلال متانل ۷۰ درصد استخراج گرديد. عمل استخراج تا بي رنگ شدن حلال ، به دفعات مكرر ادامه يافت. سپس عصاره هيدرومتانولي حاصله توسط دستگاه اواپوراتور كاملا خشك گرديد. درصد عصاره تام بدست آمده ۸/۶۵ محاسبه گرديد. عصاره هيدرومتانلي خشك شده به منظور بررسيهاي فارماكولوژيك و نيز فيتوشيميايي در يخچال نگهداري گرديد.

به منظور مطالعات فيتوشيميايي ابتدا ۲ گرم از عصاره تام خشك در آب مقطر سوسپانسيونه شد و با مجاورت با حلال n- هگزان اقدام به تهيه فراكسيون مربوطه ازآن گرديد.

۲-۵: بررسي فيتوشيميايي فراكسيون **n-** هگزاني عصاره تام بدست آمده از سنبل‌الطيب توسط **GC-MS**

به منظور بررسي مواد متشكله فراكسيون ليپوفيلي، عصاره تام با n- هگزان مجاور گرديده و سپس فاز n-هگزاني به روش گاز كروماتوگرافي– اسپكتروسكوپي جرمي (GC-MS) تحت آناليز فيتوشيميايي واقع گرديد. حجم يك ميكرو ليتر از محلول ۱ در صد فراكسيون n- هگزاني به دستگاه GC-MS تحت شرايط گاز حامل هليوم، ستون DB5، سرعت جريان حلال ۰,۹ ميلي ليتر در دقيقه و دماي انژكتور ۲۲۰ درجه سانتي گراد، تزريق گرديد.

برنامه دماي ستون جهت جدا سازي اجزاء عصاره n-هگزاني سنبل الطيب به شرح زير ميباشد. دماي اوليه ستون ۵۰ درجه سانتي گراد به مدت ۳ دقيقه و سپس افزايش ۴ درجه سانتي گراد به ازاي هر دقيقه تا دماي ۲۵۰ درجه سانتي گراد و نهايتا ۱۷

دقيقه در دماي ٢٥٠ درجه نگهداشته شد همچنين split ratio ١ به ٤٥ تنظيم گرديد..

يونيزاسيون در اطاقك يونيزاسيون به روش پرتو الكتروني با پناسيل ٧٠ الكترون ولت صورت پذيرفت و Cut off گاز حامل نيز ٦ دقيقه تنظيم گرديد.

٢-٦: تست HOT-Plate

براي ارزيابي تاثير رژيم‌هاي دارويي مختلف در ايجاد بي‌دردي ابتدا، دماي دستگاه HOT-Plate در $55 \pm 2^{o}C$ تثبيت گرديد و سپس حيوانات روي سطح دستگاه HOT-Plate قرار شدند. موشها به محض احساس درد شروع به ليسيدن دستهاي خود نمودند. ليسيدن دستها با تعيين زمان تاخير در پاسخ‌دهي (latency time) بعنوان معيار در نظر گرفته شد. در صورت پاسخ ندادن به حرارت بعد از گذشت ٤٥ ثانيه آزمايش متوقف مي‌شد.

٢-٧: روش ايجاد تحمل (tolerance)

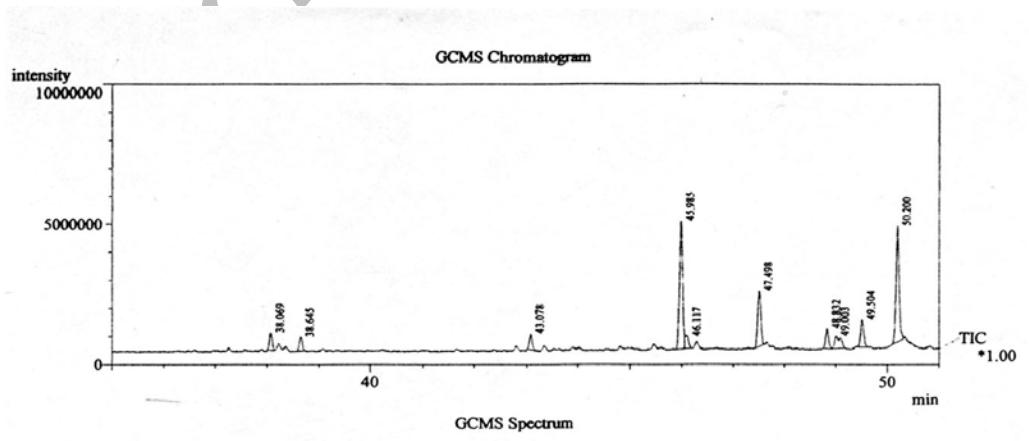
گروههاي ٩ تايي موش سوري بطور تصادفي در محدوده وزني ٢٠-٣٠ گرم انتخاب شدند. مورفين ٣٠ ميلي گرم به ازاي كيلوگرم به صورت داخل صفاقي در گروه كنترل (مورفين+ سالين) يا (مورفين+DMSO) و گروههاي درماني (مورفين+كتامين)، (مورفين+ عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب)، (مورفين+ كتامين+ عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب) روزي يكبار به مدت ٤ روز تزريق شد در گروههاي درماني تزريق دارو نيم ساعت قبل از تزريق مورفين صورت مي‌گرفت. اثرات ضد دردي مورفين با تزريق ٩ ميلي گرم به ازاي كيلوگرم بعد از ٢٤ ساعت از آخرين دوز مورفين (روز پنجم) در هر يك از گروههاي كنترل و تست با استفاده HOT-Plate از اندازه‌گيري شد.

٢-٨: آناليز آماري

نتايج بصورت $Mean \pm SE$ براي گروههاي ٩ تايي بيان شده است. به منظور مقايسه نتايج گروههاي مختلف و تعيين اختلاف معني دار بين آنها از آزمون آماري واريانس يک طرفه (ANOVA) استفاده شد. با لحاظ كردن $P<0.05$ اختلاف معني دار تلقي گرديد.

٣- نتايج

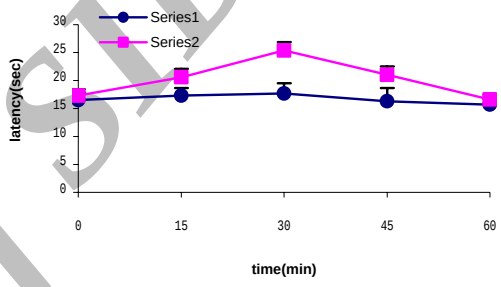
كروماتوگرام حاصل از گاز كروماتوگرافي فراكسيون n- هگزاني در شكل ١ نمايش داده شده است با مقايسه داده‌هاي طيف‌هاي جرمي تركيبات جدا شده با اطلاعات موجود در بانك‌هاي اطلاعاتي (Wily 229، Nist 107، Nist 21) هر يك از تركيبات مورد شناسايي قرار گرفتند. بيش از ١٥ تركيب شناسايي شد كه عمده ترين آن ها عبارتند از 9-Aristolen-1-alpha.-ol (٣١,١ درصد) (Rt=٤٦)، Valerenic Acid (٢٦,٥ درصد) (Rt=٥٠,٢) وValerenal (١٣ درصد) (Rt=٤٨) ميباشند.



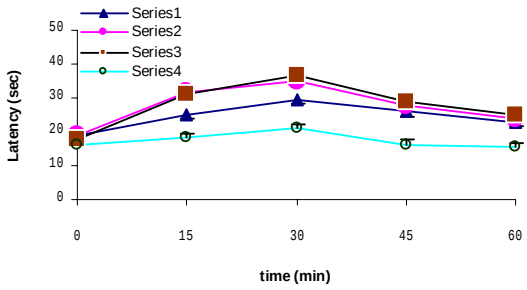
شكل ١: كروماتوگرام حاصل از تزريق فراكسيون ليپوفيلي عصاره تام ريزوم سنبل الطيب به دستگاه GC-MS

٣-١: ايجاد تحمل نسبت به اثرات ضد دردي مورفين

جهت ايجاد تحمل، در گروههاي ٩ تايي از موشهاي سوري نر، حيوانها روزانه مورفين (٣٠ mg/kg, ip)+ سالين (١٠ml/kg , ip) به مدت ٤ روز متوالي دريافت كردند. اثرات بي‌دردي ناشي از تزريق تست دوز مورفين (٩ mg/kg,ip) ٢٤ ساعت بعد از آخرين دوز مورفين (٣٠mg/kg,ip) در هر گروه بررسي شد. اثر ضد دردي ناشي از تست دوز (٩ mg/kg,ip) در گروه دريافت كننده چهار روز نرمال سالين (١٠ml/kg,ip) به تنهايي (تحمل نيافته) با گروه قبلي مقايسه شد. در مقايسه بين اين دو گروه (گروه تحمل يافته و گروه تحمل نيافته) اختلاف معني داري مشاهده مي‌شود (p<٠/٠١)(نمودار شماره ١).



نمودار ١: بي‌دردي ناشي از تست دوز مورفين (٩mg/kg,ip) در حيوانات تحمل‌يافته (•) و تحمل‌نيافته (■). هر نقطه بيانگر mean±SE مربوط به ٩ موش سوري است (**P<٠/٠١).



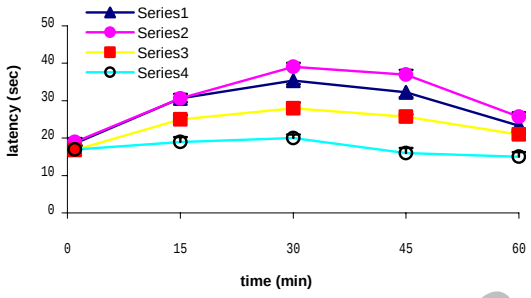
نمودار ٢: اثرات دوزهاي مختلفي از كتامين (٧٥ mg/kg و ٥٠ و ٢٥) بر تحمل نسبت به اثرات ضددردي مورفين با استفاده از تست Hot-Plate, هر نقطه بيانگر mean±SE براي ٩ موش سوري مي‌باشد (P <٠/٠٥ * و P<٠/٠١** و P<٠/٠٠١ ***).

٣-٢: اثرات رژيم درماني كتامين بر تحمل ناشي از دريافت مزمن مورفين

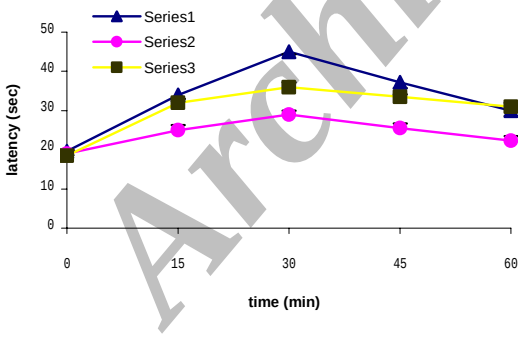
همانگونه كه در نمودار شماره (٢) آمده است، تزريق دوزهاي مختلفي از كتامين (٧٥ و٥٠ و ٢٥ ml/kg , ip) ٣٠ دقيقه قبل از تجويزروزانه مورفين به مدت ٤ روز، تحمل به اثرات ضد دردي مورفين را بطور چشمگير و معني‌داري كاهش داده است (p<٠/٠٠١). نتايج در اين مطالعه وابسته به دوز بوده و با افزايش دوز پاسخها بيشتر بوده است.

٣-٣: اثرات عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب بر تحمل ناشي از دريافت مزمن مورفين

همانـــــطوري كه در نمودار (٣) نشان داده شده است، تـــــزريق دوزهاي مختلفي از عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب (٣٠ و٢٠ و١٠ mg/kg,ip) ٣٠ دقيقه قبل از تجويز روزانه مورفين به مدت چهار روز، تحمل به اثرات ضد دردي مورفين را بطور چشمگيري كاهش داده است (p<٠/٠٠١). بهترين پاسخ در دوز ٢٠mg/kg مشاهده شده است. نتايج در دوز (١٠mg/kg) به علت پايين بودن مقدار عصاره كمتر است و در دوز بالا (٣٠mg/kg) احتمالا به علت درگير شدن مكانيسم ها يا گيرنده هاي ديگري در اثر برخي تركيبات موجود در عصاره، پاسخ بهتري مشاهده نشده است.



نمودار ٣: اثرات دوزهاي مختلفي از عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب (٣٠mg/kg,ip و ٢٠ و ١٠) در تحمل ناشي از مصرف مورفين با استفاده از تست Hot-Plate. هر نقطه بيانگر mean±SE بـــراي ٩ موش سوري مي‌بـاشد (P<٠/٠٥* و P<٠/٠١** و P<٠/٠٠١***).



نمودار ٤: تاثير تزريق توام كتامين (٢٥mg/kg,ip) + عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب (١٠ mg/kg,ip) در تحمل ناشي از دريافت مزمن مورفين. هر نقطه نشانگر mean±SE براي ٩ موش سوري مي‌باشد. (P<٠/٠٥ * و P< ٠/٠١ **).

٣-٤: اثرات رژيم درماني توام كتامين و عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب بر تحمل ناشي از مصرف مزمن مورفين

با توجه به نمودار (٤)، تزريق توام كتامين (٢٥ mg/kg , ip) و عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب (١٠ mg/kg) ٣٠ دقيقه قبل از تجويز مورفين، تحمل به اثرات ضد دردي مورفين بطور چشمگير كاهش مي‌يابد (P<٠/٠١).

٤- بحث

بر اساس تحقيقات گزارش شده تركيبات مختلفي از گياه سنبل الطيب جدا سازي و شناسايي شده است. در اين مطالعه نيز اقدام به بررسي فراكسيون n- هگزاني سنبل الطيب بـه روش GC-MS بـــــــه منظور تـــائيد حضور تركيبات موثر در آن گرديد. از تركيبـــات عمده شناسايي شده مي تـــوان بـــــه تركيبات 9- Aristolen-1-alpha.-ol (٣١ درصد)، Valerenal (١٣ درصد)، Valerenic acid (٢٦ درصد) اشاره نـــمود همچنين فراكسيون n-هگزاني حاوي تركيب استري Valerenyl acetate، تـركيبات سزكوئي تـــــرپني Isoleden، Spathulenol، Azulene، 4,5 dehydro Isolongifolene و تركيبات غير ترپني 4,6,8 triene Megastigma،dihydroionone و 1,3-diisopropenyl- 6- methyl Cyclohexene مي‌باشد. حضور تركيبات Valerenic acid ، Valerenyl acetate و Valerenal در گياه با اثرات فارماكولوژيكي آن مرتبط مي باشد (٢٠). ساير تركيبات موجود در اين فراكسيون كه توسط گاز كروماتوگرافي جداسازي گرديده و داده‌هاي جرمي براي آنها ساختمان هاي شيميايي فوق الذكر را پيشنهاد مي‌نمايد تاكنون در اين گياه گزارش نشده است و از اينرو براي اطمينان يافتن از صحت ساختار شيميايي آنها نيازمند بررسي ديگر داده‌هاي طيفي آنها از قبيل NMR مي‌باشد. همچنين به منظور تعيين ارتباط اثر اين تركيبات با اثرات مشاهده شده مطالعات ديگري مورد نياز ميباشد. در ارتباط با جنبه‌هاي فارماكولوژيكي همانگونه كه قبلااشاره گرديد، مطالعات مختلفي نشان داده‌اند كه آنتاگونيستهاي گيرنده هاي NMDA نقش موثري در مهار پيدايش تحمل به اثرات مورفين دارند. در مطالعه حاضر كتامين به عنوان يك آنتاگونيست گيرنده NMDA استفاده شد، كه نتايج حاصل تاييدي بر كارهاي انجام گرفته پيشين در اين زمينه مي‌باشد. همانطور كه در نمودار (٢) نشان داده شده است، كتامين بطور معني‌دار به صورت وابسته به دوز توانسته تحمل به مورفين را كاهش دهد. در مطالعه حاضر سه دوز از كتامين مورد آزمايش قرار گرفت و نشان داده شد كه يك رابطه دوز- رسپانس در اين زمينه وجود دارد و افزايش دوز كتامين اثـــــرات بيشتري را بدنبال دارد.

در بخش ديـــگري از مطالعه اثرات عصاره تام ريـــزوم سنبل‌الطيب (Nardostachys jatamansi) كه در طب سنتي به عنوان آرام بخش و ضد درد و ضد تشنج بكار ميرود، مورد بررسي قرار گرفت.

نـتايج نشان داده كه طي پروسه تحمل در بيـــن دوزهاي بـــكار رفته، دوز (٢٠ mg/kg) پاسخ هاي معنـــي‌دارتري نسبت به ساير دوزهاي عصاره به همراه داشت ($p<0/001$).

در اين تحقيق براي بدست آوردن دوز مناسب طبق دوزهاي پيشنهادي در مقالات مختلف دوز (٥٠ mg/kg , ip) تزريق شد كه اين مقدار تزريق در روز دوم موجب مرگ ٤ عدد از موشهاي سوري نر، گرديد. به تدريج با كاهش دوز و تست گروههاي مختلف، از دوز(٣٠ mg/kg) و پايين تر پاسخهاي بهتري مشاهده شد. ولي بهترين و بيشترين پاسخ در دوز (٢٠ mg/kg,ip) بدست آمد. در دوز (٣٠mg/kg) هم احتمال مي‌رود مسيرها يا مكانسيمهاي متفاوتي توسط مواد شيميايي موجود در عصاره گياه فعال مي‌شوند كه در برابر اثرات تحمل به بي دردي ناشي از مورفين تاثير كاهنده‌اي دارد.

در بخش ديگري از مطالعه تزريق توام كتامين (٢٥ mg/kg,ip) و عصاره سنبل‌الطيب (١٠ mg/kg,ip) انجام شد كه تقويت اثرات در پروسه تحمل مشاهده گرديد و اين نشانگر وجود اثرات تقويت كنندگي يا سينرژيستي دو دارو است. طبق مطالعات و بررسي‌هاي مختلف قبلي محققان، بر روي اثر عصاره گياه سنبل‌الطيب بر ايسكمي مغزي در حيوانات آزمايشگاهي مكانيسم تقويت گابا يا افزايش غلظت گاماآمينوبوتيريك اسيد پيشنهاد گرديد (١٧). اين مكانيسم احتمالي تقويت عملكرد GABA، به نظر مي‌رسد كه بخشي از مكانيسم كاهش تحمل مورفين توسط عصاره مذبور باشد. بنابراين اثرات تقويت‌كنندگي كتامين و عصاره سنبل‌الطيب با توجه به مكانيسم اثر دو دارو منطقي به نظر مي‌رسد، به عبارتي چون دو داروي مذكور هر كدام با مكانيسم جداگانه (قبلاً توضيح داده شده است) بر تحمل و در واقع اثرات سلولي و مولكولي مصرف مزمن مورفين تاثير گذاشته‌اند، بنابراين تحمل را نسبت به مصرف كتامين يا عصاره سنبل‌الطيب به تنهايي به طور معني‌دارتري كاهش داده‌اند، به خصوص مصرف توام عصاره و كتامين تاثير خيلي بيشتري از كتامين به تنهايي داشت ($p<0/01$) ولي با عصاره تفاوت چنداني نشان نداد چون اثري كه عصاره در كاهش تحمل به مورفين داشت، نسبت به كتامين قابل توجه بود.

به طور كلي امروزه، تحقيقات و بررسي‌ها در مورد گياهاني كه در طب سنتي استفاده درماني داشته‌اند به طور چشمگيـــري افزايش يافته است.

گيـــاه سنبل‌الطيب (Nardostachys jatamansi) هم با وجود كاربردهاي سنتي وسيع، تا حدي ناشناخته مانده است ولي با توجه به گسترش تحقيقات در آينده ساير اثرات درماني آن بهتر شناخته خواهد شد. در ايـــــن مطالعه تلاشي درزمينه آشكار ساختن بخش ديگري از اثرات دارويي اين گياه انجام گرديد و نتـــايج قابل قبولي بدست آمده است.

٥- نتيجه گيري

تزريق كتامين و عصاره تام ريزوم سنبل‌الطيب حاوي تركيبات والپرواتها به تنهايي يا به صورت توام، تحمل به مورفين را به

طور معني داري کاهش مي‌دهند. اثرات کتامين وابسته به دوز و بيشترين اثر عصاره سنبل الطيب با دوز mg/Kg ٢٠ مشاهده گرديد. در تجويز توام کتامين وعصاره سنبل الطيب اثر سينرژيستي مشاهده گرديد.

6- References:

1. Jing – Gen L., K.J.S. Protein kinases modulate the cellular adaptions associated with opioid toleranc and dependence. Brain Reaserch Review, 2000, 38: 1-19.
2. Liu J.G., Liao X.P., Gong Z.H., Qin B.Y. The difference between methadone and morphine in regulation of μ - opioid receptors underlies the antagonistic effect of methadone on morphine-mediated cellular actions. Eur. J. pharmacol, 1999, 373: 233-239.
3. Liu J.G., Gong Z.H., Qin B.Y. Effects of opioid receptor agonists on cAMP second messenger system, Zhongguo Yao Li Xue Bao, 1999, 20 (5): 452- 456.
4. Dingledine R.R., Valetion R.J., Kling M.E., Chang K.J. Down-regulation of delta but not mu opioid receptors in the hippocampal slice associated with loss of physiological response. Life Sci., 1983, 33: 333-336.
5. Tao P.L., Law P.Y. Loh H.H. Decrease in delta and mu opioid receptor binding capacity in rat brain after chronic etorphine treatment. J. Pharmacol. Exp. Ther, 1987, 240: 809-816.
6. Pippig S., Andexinger S., Lohse M.J. Equestration and recycling of–adrenergic receptorpermit receptor resensitization. Mol. Pharmacol, 1995: 47, 66-676.
7. Yu S.S., Lefkpwitz R.J., Hausdorff W.P. Adrenergic receptor sequestration: a potential mechanism of receptor resensitization. J. Biol. Chem, 1993, 268: 337-341.
8. Nestler E.J., Aghajaniain G.K. Molecular and cellular basis of addiction. Science, 1997, 278: 58-63.
9. Alreja M., Aghajanian G.K. Opiates suppress a resting outward potassium current in locus coeruleus neurons. J. Neurosci, 1993, 13: 3525-3532.
10. Katzung B.G. Basic and clinical pharmacology, 8th edition, Mcgraw-Hill, New York, 2001, 512 – 532.
11. Chakrabart L., wang W.J., Tang R.A., Gintzler. Chronic morphine augments adenylyl cyclase phosphorylation: relevance to altered signaling during tolerance dependent. Mo. Pharmacol, 1998, 54: 949- 953.
12. Charkrabarti S., Rivera M., Yan S.Z., Tang W.J., Gintzler A.R. Chronic morphine augments – opioid receptor – trancfected Chinese hamster ovary cells following chronic opioid treatment. J. Biol. Chem., 1995, 270: 29732- 29738.
13. Nestler, Eric J. Molecular Naropharmacology, 4th edition, Mc Graw – Hill, New York, 2001, 355 – 380.
14. Mercadante S., Arcuri E., Tirelli W., Casuccio A. Analgesic effect of intravenous ketamine in cancer patients on morphine therapy: a randomized, controlled, double-blind, crossover, double-dose study. J Pain Symptom Manage., 2000, 20 (4): 246-252.
15. Shio- Lan C., Chang – Chin C., Chih – Shung W., Chin – Chen W., and Pao L. Study the effect andd mechanism of dextromethorphan on preventing the development of morphin tolerance and dependence in rats. J. Med. Sci., 2002, 22 (4): 171 – 176.
16. Zargari A. Medicinal Plants, Tehran University Publication, 1996, vol. 2, 763-764.
17. Salim S., Ahmad M., Zafar K.S., Ahmad A.S., Islam F. Protectivc effect of Nardostachys jatamansi in rat cerebral ischemia. Pharmacol Biochem Behav., 2003, 74 (2): 481-486.
18. Rai L.K., Prasad P., Sharma E. Conservation threats to some important medicinal plants of the Sikkim Himalaya. Biol. Conserv., 2000, 93 (1): 27-33.
19. Habibi Asl B., Hassanzadeh K. Effects of ketamin and midazolam on morphin induced dependence and tolerance in mice. Daru, 2004, 12 (3): 101- 105.
20. Evans W.C., Trease and Evans Pharmacognosy, 15th Edition, W.B. SAUNDERS, 2002, 316-18.