

بررسی اثرات خواب آوری و شل کنندگی عضلانی عصاره آبی

برگ گیاه نوروزک در موش سفید کوچک

*دکتر حسین حسین زاده، دکتر احمد رضا حسن زاده مقدم

*پژوهشکده بوعلی و دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، بخش فارماکودینامی و سم شناسی

ص. پ. ۹۱۷۷۵-۱۳۶۵ hosseinzadehh@yahoo.com E-mail:

خلاصه

در این تحقیق اثرات خواب آوری و شل کنندگی عضلانی عصاره برگ گیاه نوروزک در موش بررسی شد. اساس روش خواب آوری، اندازه گیری میزان افزایش زمان خواب تیوپنتال، توسط عصاره بود. در تمامی مراحل آزمایش، از عصاره جوشانده آبی برگ گیاه استفاده گردید. ابتدا حداکثر دوز قابل تحمل عصاره به روش داخل صفاقی مشخص شد (۲/۹ گرم بر کیلوگرم). سپس عصاره با دوزهای ۰/۲۹، ۱/۱۵، ۱/۵۷، ۲، ۲/۸۷ گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به موش تزریق شد. یک ساعت پس از تزریق عصاره، تیوپنتال با غلظت ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل وریدی به موش تزریق و افزایش زمان خواب ایجاد شده توسط تیوپنتال ثبت گردید. نتایج نشان داد که عصاره در غلظت های ۱/۱۵ و ۱/۵۷ گرم بر کیلوگرم واجد اثرات خواب آوری است. از دیازپام با غلظت ۳ میلی گرم بر کیلوگرم به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. مقایسه اثر بین دیازپام و عصاره نشان داد که قدرت اثر دیازپام بیشتر از عصاره می باشد.

در این تحقیق اثر شل کننده عضلانی عصاره جوشانده آبی برگ گیاه نوروزک نیز مورد بررسی قرار گرفت. جهت این امر، از آزمون عدم گرفتن میله (Traction test) استفاده گردید. عصاره در دوزهای ۰/۲۹، ۰/۲۹، ۱/۱۵، ۲، ۲/۸۷ گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به موش تزریق شد. ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق عصاره، آزمون عدم گرفتن میله انجام گرفت. نتایج نشان داد که عصاره با دوز ۰/۲۹ گرم بر کیلوگرم بیشترین اثر شل کنندگی را دارد. این اثر عصاره به صورت وابسته به دوز نبود. از دیازپام با غلظت ۱ میلی گرم بر کیلوگرم به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. نتایج نشان داد که اثر شل کنندگی عصاره با دیازپام قابل مقایسه است. از مقایسه نتایج شل کنندگی و خواب آوری عصاره می توان حدس زد که احتمالاً مکانیسم اثر خواب آوری عصاره جدا از اثر شل کنندگی آن می باشد.

کلمات کلیدی: نوروزک، عضله اسکلتی، خواب، روش عدم گرفتن میله، روش اندازه گیری افزایش زمان خواب، تیوپنتال.

مقدمه

در بعضی از گونه های این تیره مانند *S. hematodes* اثرات خواب آوری (۵) مشاهده شده است. در این تحقیق با توجه به اثرات تضعیف CNS این گیاه و همچنین وجود اثرات خواب آوری در گونه های دیگر *Salvia*، اثرات شل کنندگی عضلانی و خواب آوری برگ این گیاه در موش کوچک مورد مطالعه قرار گرفت.

روش کار

جمع آوری و شناسایی گیاه نوروزک: برگ گیاه در اوایل ماه خرداد از روستای برون واقع در اطراف فردوس جمع آوری گردید. برگ های جمع شده توسط مرکز هرباریوم دانشگاه

تیره نعنای حاوی بیش از ۴۰۰۰ گونه می باشد که تعداد زیادی از آنها دارای اثرات بوده و در بیماری ها کاربرد دارند. نوروزک با نام علمی *Salvia leriifolia* گیاهی است پایا از خانواده نعنایان که بومی مناطقی از جنوب خراسان و قسمتی از افغانستان می باشد. اثرات مختلف فارماکولوژیکی دانه یا برگ این گیاه از جمله ضد تشنج (۷)، ضد درد و ضد التهاب (۱۱ و ۱)، ضد هیپوکسی (۳)، ضد هیپرگلیسمی (۹)، ضد زخم معده (۸)، اثر بر روی سندرم محرومیت مرفین (۱۰) و اثرات ضد میکروبی (۲) بر روی موش کوچک و بزرگ بررسی شده است.

بیشترین دوزی که در آن مرگ و میر مشاهده نشد (۱/۲ گرم بر کیلوگرم) را در ضریب افزایش ۱/۲۵ متوالیاً ضرب و دوزهای به دست آمده به گروههای ۴ تایی موش تجویز شد و مرگ و میر به مدت ۷۲ ساعت کنترل گردید. حجم تزریق برای تمامی موارد یکسان در نظر گرفته شد.

بررسی اثرات خواب آوری: افزایش زمان خواب ایجاد شده توسط تیوپنتال با دوز ۲۵ mg/kg وریدی (از طریق ورید دم) به عنوان خواب آور استفاده شد. در این روش گروههای حداقل ۱۰ تایی از موش سوری نر با وزن ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. عصاره ها، نرمال سالین و دیازپام به صورت داخل صفاقی به موش تزریق شد. ۶۰ دقیقه پس از تزریق، تیوپنتال تزریق شد.

پس از تزریق وریدی حیوان به پشت روی یک سطح نرم و گرمی (۳۷ درجه سانتی گراد) گذاشته شد. حیوان در این مرحله به صورت کاملاً آرام و با چشمان بسته (در یک حالت خواب کاملاً آشکار) به نظر می رسید. از دست دادن بازتاب righting از پایان تزریق وریدی تیوپنتال شروع شد (زمان صفر). زمانی که بازتاب رایتینگ برگشت به عنوان مدت زمان خواب ثبت گردید پایان آزمون (برگشت بازتاب righting) زمانی فرض شد که وقتی سه بار به صورت پیاپی حیوان را به پشت خواباندیم، توانست در کمتر از یک دقیقه برگشته و روی پنجه های خود بایستد، در بیشتر نمونه ها پس از ایستادن روی پنجه ها موش شروع به حرکت کرد (۱۹۰۶).

مطالعه اثر شل کنندگی عضلانی به روش عدم گرفتن میله (Traction test): برای انجام این آزمایش میله فلزی محکم، به طول ۴۰ سانتی متر و با قطری مناسب در حد ۲-۳ میلی متر (سیم جوش کاربرد که رویه آن جدا شده باشد) انتخاب شد به طوری که در حالت عادی موش کوچک توانایی گرفتن میله را داشت. این میله از دو طرف توسط گیره به پایه ها متصل شد. ارتفاع میله از سطح، کمتر از ۳۰ سانتی متر، نباید باشد. در غیر این صورت موشها تمایل به گرفتن میله را نداشته و به راحتی خود را رها می کردند. در این روش موشها را از طریق دو تا

فردوسی شناسایی شد (شماره شناسایی: ۱۲۸۳۵، شناسایی کننده: جوهرچی).

حیوانات آزمایشگاهی: موش های کوچک آزمایشگاهی (BALB/c) نر با وزن ۲۰-۳۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات از شرکت سرم سازی رازی تهیه شد و در بخش اتاق حیوانات بیمارستان قائم (عج) در شرایط دمایی ۲۵-۲۲ درجه سانتی گراد و در موقعیت نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و رطوبت مناسب قرار گرفت. حیوانات از نظر رژیم غذایی و آب محدودیت نداشتند.

تهیه نمونه های گیاهی: برگها در سایه و در مجاورت جریان هوای ملایم قرار داده شد. پس از خشک شدن برگها توسط آسیاب پودر گردید. پودر حاصله نیز دور از رطوبت و نور خورشید نگهداری شد.

روش عصاره گیری: عصاره گیری به روش جوشاندن صورت گرفت. مطابق این روش پس از به جوش آمدن ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر، ۱۵ گرم از پودر برگ گیاه کم کم (جهت جلوگیری از سر رفتن) به آب جوشان اضافه شد. سپس شعله را کمتر کرده و به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط حاصله هم زده شد. پس از ۱۵ دقیقه محتویات توسط قیف بوختر و با استفاده از کاغذ صافی های معمولی صاف شد. محلول صاف شده حاصل دوباره توسط قیف بوختر و کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. عصاره صاف شده حاصل به دستگاه حذف حلال منتقل گردید و با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد عمل حذف حلال صورت گرفت.

ارزیابی حداکثر دوز قابل تحمل عصاره جوشانده برگ: برای این منظور ابتدا دوز ۰/۳ گرم بر کیلوگرم وزن موش به عنوان دوز پایه انتخاب و از راه داخل صفاقی به چهار عدد موش تجویز شد. مرگ و میر حیوانات به مدت ۷۲ ساعت کنترل گردید. هیچگونه مرگ و میری مشاهده نشد. این دوز را در ضریب ۴ ضرب و سطوح دوز ۱/۲ و ۴/۸ گرم بر کیلوگرم وزن موش به گروههای چهارتایی موش تجویز شد. مرگ و میر حیوانات به مدت ۷۲ ساعت کنترل گردید.

آزمون تانن ها: ۰/۵ گرم از عصاره خشک شده در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید. بر محلول عصاره ۴-۳ میلی لیتر نرمال سالین اضافه شد. دو قطره کلورفریک ۵ درصد در یک لوله آزمایش به ۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید آنگاه چند قطره از محلول عصاره، به لوله آزمایش اضافه گردید و نتیجه ملاحظه شد (۴).

آزمون آنکالوئیدها: به ۰/۵ گرم از عصاره خشک شده ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱ درصد اضافه کرده، ۵ دقیقه جوشانده شد، سپس حجم را به میزان اولیه رسانده و محلول صاف شد. در دو لوله آزمایش در هر یک ۰/۵ میلی لیتر از محلول صاف شده ریخته و در یکی چند قطره معرف بایر و در دیگری چند قطره معرف بوشاردا ریخته و رنگ رسوب یادداشت شد (۴).

آزمون ساپونین ها: ۰/۵ گرم از عصاره خشک شده گیاه را در آب مقطر حل کرده، محلول حاصله به یک لوله آزمایش منتقل و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شد. ثابت ماندن کف به مدت نیم ساعت نشانه حضور ساپونین است (۴).

محاسبات آماری: جهت آنالیز داده ها از برنامه نرم افزاری Instat استفاده شد. روال کار برای داده های خواب آوری بدین صورت بود که ابتدا داده های خام به رایانه داده می شد و آزمون ANOVA یک طرفه روی آنها انجام می گرفت. چنانچه طبق آزمون Bartlet اختلاف معنی داری بین انحراف استانداردها وجود نداشت از آزمون Tukey-Kramer استفاده می شد. چنانچه اختلاف بین انحراف استانداردها معنی دار بود، داده های خام را معکوس کرده یا به مقیاس لگاریتمی تبدیل می شد. در این صورت اگر اختلاف از بین برود آزمون Tukey-Kramer انجام می شود. در غیر این صورت از آزمون غیر پارامتریک Dunn استفاده می شد. همچنین جهت آنالیز داده های غیر کمی مربوط به بررسی اثر شل کنندگی از آزمون فیشر (Fisher exact) دو طرفه استفاده گردید. برای رسم کلیه نمودارها از برنامه نرم افزاری SigmaPlot (Ver.5.01) استفاده گردید.

پای خود از میله آویزان کرده و اگر بتواند در مدت ۵ ثانیه برگشته و میله را با دست های خود بگیرد مشخص می شود که ماده تجویزی اثر شل کنندگی نداشته است (۱۸).

پاسخ اثر مثبت به شل کنندگی به صورت از دست دادن توانایی حیوان در گرفتن میله با دست ظاهر می شود. آزمایش فوق فقط بر روی موش هایی انجام شد که قبل از تزریق بتوانند میله را با دست های خود در مدت ۵ ثانیه بگیرند. این کار جهت افزایش دقت و صحت آزمایش انجام می گیرد. مطابق این روش عصاره یا ماده مورد آزمایش را از طریق داخل صفاقی به گروههای حداقل ۱۰ تایی موش تجویز کرده و در زمان های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه پس از تجویز آزمایش فوق را انجام داده و تعداد موشهایی که می افتند یا نمی توانند میله را در کمتر از ۵ ثانیه با دست بگیرند یادداشت شد. از دیازپام به عنوان ماده استاندارد با غلظتهای ۱ و ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد.

از عصاره با غلظت های ۰/۲۹، ۰/۱۵، ۰/۲۹ و ۲/۸۷ گرم بر کیلوگرم و همچنین از نرمال سالین به عنوان کنترل استفاده شد.

بررسی فیتوشیمی عصاره آبی برگ: به منظور آگاهی از نوع ترکیبات اساسی موجود در عصاره برگ نوروبک آزمایش های زیر انجام شد. این آزمایش های تشخیصی بر روی عصاره خشک شده نهایی انجام گرفت.

آزمون فلاونوئیدها: ۱ گرم از عصاره خشک شده با ۵۰ میلی لیتر متانول برای چند دقیقه جوشانده شد. مخلوط حاصله صاف گردید. عصاره الکلی حاصل با ۱۵ میلی لیتر اتردوپترول در یک دکانتور مخلوط شد. عمل استخراج با اتردوپترول سه بار تکرار شد و محلول استخراج شده تقریباً بی رنگ گردید. مقدار ۱ تا ۲ میلی لیتر از محلول در دو لوله آزمایش ریخته شد سپس به هر یک از لوله ها مقدار نیم میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ و ۲۰ میلی گرم براده منیزیم اضافه شد. رنگ حاصله در قسمت کف لوله پس از ده دقیقه ملاحظه گردید (۴).

شل کنندگی به ترتیب به میزان ۷۵٪، ۶۸/۹٪، ۴۵٪ و ۵۳/۶۳٪ در مقایسه با نرمال سالدین شد. همچنین عصاره با دوز ۰/۰۲۹ گرم بر کیلوگرم تنها ۱۰٪ اثر شل کنندگی را در مقایسه با نرمال سالدین افزایش داد که تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

دیازپام با دوزهای ۱ و ۰/۵ میلی گرم بسر کیلوگرم به ترتیب ۲۳/۳٪ و ۲۶/۸۴٪ شل کنندگی را در مقایسه با سالدین حاوی توین (جهت سوسپانسیون کردن دیازپام) افزایش داد که طبق آزمون فیشر اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت.

مطالعه اثر شل کنندگی عضلانی عصاره جوشانده برگ و دیازپام در زمان ۶۰ دقیقه پس از تزریق

نتایج حاصل در جدول ۲ آمده است. از عصاره با دوزهای ۰/۰۲۹، ۰/۰۲۹، ۰/۱۵، ۰/۲، ۲/۸۷ گرم بر کیلوگرم استفاده شد و به ترتیب باعث افزایش اثر شل کنندگی به میزان ۱۰٪، ۶۰٪، ۲۱/۵۸٪، ۳۵٪، ۴۴/۵٪ نسبت به نرمال سالدین گردید. نتایج حاصل از آنالیز داده ها با آزمون فیشر نشان داد که تنها عصاره با دوز ۰/۲۹ گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی داری با نرمال سالدین (کنترل منفی) دارد. بین دوزهای دیگر عصاره و نرمال سالدین اختلاف معنی داری مشاهده نشد. دیازپام با دوز ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم موجب افزایش اثر شل کنندگی به میزان ۲۶/۸۴٪ نسبت به نرمال سالدین حاوی توین شد که هیچ گونه اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود. همچنین دیازپام در دوز ۱ میلی گرم بسر کیلوگرم افزایش اثری به میزان ۴۵/۵۶٪ ایجاد کرد که اختلاف معنی داری با نرمال سالدین حاوی توین دارد.

مطالعه اثر شل کننده عضلانی عصاره جوشانده بوگ در زمان ۹۰ دقیقه پس از تزریق عصاره

نتایج حاصل در جدول ۲ آمده است. عصاره با دوز ۰/۰۲۹ گرم بر کیلوگرم افزایش اثری به میزان ۵۰٪ نسبت به نرمال سالدین ایجاد کرد. نتایج حاصل از آنالیز داده ها با آزمون فیشر نشان داد که اختلاف معنی داری بین عصاره (۲۹ گرم بر کیلوگرم) و نرمال سالدین وجود دارد.

نتایج

درصد بازیابی عصاره: از ۱۵ گرم پودر برگ گیاه نوروژک حدوداً ۲/۵ گرم عصاره خشک شده به دست آمد. درصد بازیابی عصاره تقریباً ۱۶/۶٪ بود.

ارزیابی حداکثر دوز قابل تحمل عصاره جوشانده برگ نوروژک

نتایج بررسی حداکثر دوز قابل تحمل در جدول ۱ ذکر شده است. طبق نتایج حداکثر دوز تحمل شده در حیوان ۲/۹ گرم بر کیلوگرم وزن موش می باشد.

جدول ۱. ارزیابی حداکثر دوز قابل تحمل عصاره جوشانده برگ گیاه نوروژک

تعداد حیوان	مرگ و میر	دوز (گرم بر کیلوگرم وزن موش)
۴	—	۰/۳
۴	—	۱/۲
۴	—	۱/۵
۴	—	۱/۸۷
۴	—	۲/۳۵
۴	—	۲/۹
۴	۳	۳/۶۶
۴	۴	۴/۸

مطالعه اثرات خواب آوری عصاره جوشانده برگ

همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده، عصاره با دوزهای ۱/۱۵، ۱/۵۷، ۱/۱۵ گرم بر کیلوگرم و همچنین دیازپام با دوز ۳ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی داری با نرمال سالدین ندارند. پس از تزریق داخل صفاقی عصاره با دوزهای ۰/۲، ۲/۸۷ گرم بر کیلوگرم به علت تنگ شدن شدید ورید دم امکان تزریق وریدی وجود نداشت.

مطالعه اثر شل کنندگی عضلانی عصاره جوشانده برگ و دیازپام در زمان ۳۰ دقیقه پس از تزریق عصاره

نتایج حاصل در جدول ۲ آمده است. عصاره با دوزهای ۰/۰۲۹، ۰/۱۵، ۰/۲ و ۲/۸۷ گرم بر کیلوگرم باعث افزایش اثر

اثرات خواب آوری و شل کنندگی عضلانی برگ گیاه نوروزک

جدول ۲. مطالعه اثر شل کنندگی عضلانی عصاره جوشانده آبی برگ نوروزک و دیازپام از راه داخل صفاقی در موش کوچک به روش عدم گرفتن میله (Traction Test) با زمان ختم آزمایش ۵ ثانیه

تعداد موش در هر گروه	۹۰	۶۰	۳۰	زمان پس از تجویز (دقیقه)
۱۰	٪۱۰	٪۱۰	٪۱۰	نرمال سالین ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم
۱۰	٪۱۰	٪۲۰	٪۲۰	عصاره ۰/۰۲۹ گرم بر کیلوگرم
۲۰	٪۶۰*	٪۷۰**	٪۸۵***	عصاره ۰/۲۹ گرم بر کیلوگرم
۱۹	٪۳۱/۵۸	٪۳۱/۵۸	٪۷۸/۹۵***	عصاره ۱/۱۵ گرم بر کیلوگرم
۲۰	٪۴۵	٪۴۵	٪۵۵*	عصاره ۲ گرم بر کیلوگرم
۱۱	٪۵۴/۵۴	٪۵۴/۵۴	٪۶۳/۶۳*	عصاره ۲/۸۷ گرم بر کیلوگرم
۱۹	٪۴۲/۱	٪۳۶/۸۴	٪۳۶/۸۴	دیازپام ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم
۱۹	٪۶۱/۱۱*	٪۵۵/۵۶*	٪۳۳/۳	دیازپام ۱ میلی گرم بر کیلوگرم

نتایج به صورت درصد عدم گرفتن میله بیان شده است.

آزمون فیشر دقیق (دو طرفه)، مقایسه با کنترل (سالین): *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001

از تزریق، عصاره اثر شل کنندگی را به میزان ٪۷۵ نسبت به نرمال سالین افزایش داد در حالیکه هالوپریدول اثر شل کنندگی را در این زمان به میزان ٪۵۰ در مقایسه به نرمال سالین افزایش داد که از نظر آماری معنی دار نبود.

نتایج آزمون های فیتوشیمی

آزمایش تشخیص فلاونوئیدها: رنگ انتهایی ایجاد شده در کف لوله نارنجی بسیار کم رنگ بود که نشان می داد در عصاره آبی خشک شده برگ نوروزک، مقدار بسیار کمی فلاونوئید موجود است. آزمایش تشخیص تانن ها: پس از اضافه نمودن کلروفریک رنگ سبز بسیار کدری ایجاد شد که نشان دهنده مقدار زیاد تانن موجود در عصاره آبی بود.

آزمایش تشخیص آلکالوئیدها: در انتهای آزمایش پس از اضافه نمودن معرف بوشاردا مایر رسوبی مشاهده نشد که نشان دهنده عدم وجود آلکالوئیدها در عصاره آبی بود.

آزمایش تشخیص ساپونین ها: پس از به هم زدن محلول، کف ایجاد شده به مدت نیم ساعت ثابت ماند که نشانه حضور ساپونین ها در عصاره آبی بود.

همچنین عصاره با دوزهای ۰/۰۲۹، ۱/۱۵، ۲، ۲/۸۷ گرم بر کیلوگرم به ترتیب افزایش اثری به میزان صفر، ٪۲۱/۵۸، ٪۳۵ و ٪۴۴/۵۴ در مقایسه با نرمال سالین نشان داد. با استفاده از آزمون فیشر بین دوزهای فوق از عصاره و نرمال سالین اختلاف معنی داری وجود نداشت. بین دیازپام با دوز ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم و نرمال سالین اختلاف معنی داری مشاهده نشد. دیازپام در این دوز تنها ٪۲۲/۱ اثر شل کنندگی را در مقایسه به نرمال سالین حاوی توئین افزایش داد. دیازپام در دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش اثری به میزان ٪۵۱/۱۱ ایجاد کرد. دیازپام در این دوز (۱ میلی گرم بر کیلوگرم) تفاوت معنی داری با نرمال سالین حاوی توئین نشان داد. همچنین نتایج حاصل از انجام آزمون شل کنندگی در گروههای ۶تایی نشان داد که بین نرمال سالین و نرمال سالین حاوی توئین تفاوت معنی داری وجود ندارد.

مقایسه اثر شل کنندگی هالوپریدول و عصاره در زمانهای مختلف پس از تزریق

نتایج حاصل در شکل ۱ آمده است. از عصاره با دوز ۰/۲۹ گرم بر کیلوگرم و هالوپریدول با دوز ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد. در زمان (حداکثر اثر) ۳۰ دقیقه پس

بحث

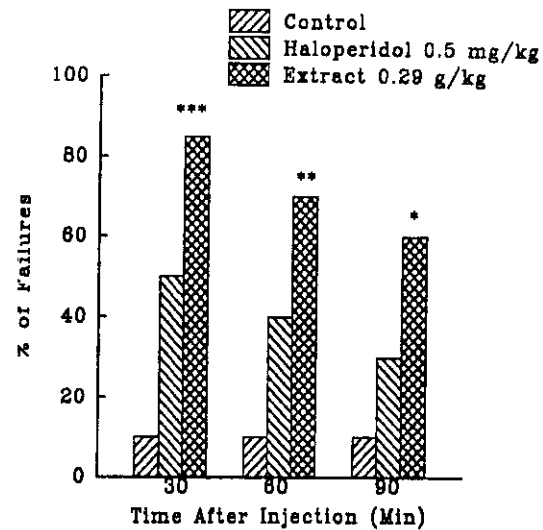
عصاره جوشانده آبی برگ گیاه نوروزک اثرات شل کنندگی در بعضی از دوزها و در زمان های مختلف نشان داد و همچنین بعضی از دوزهای دیگر عصاره اثرات خواب آوری معنی داری در موش نشان دادند.

اثرات شل کنندگی: تمامی دوزهای عصاره، ۳۰ دقیقه پس از تجویز بیشترین اثر خود را نشان می دهند. این پدیده ممکن است به این علت باشد که احتمالاً عامل شل کننده عضلانی موجود در عصاره در این زمان، بالاترین غلظت را در خون دارا می باشد.

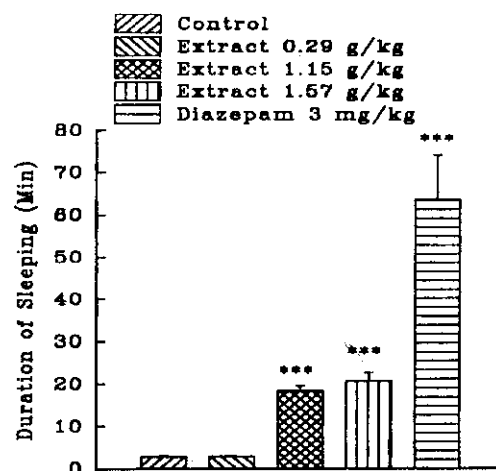
عصاره در دوز ۰/۲۹ گرم بر کیلوگرم در تمامی زمان های پس از تجویز اثر قابل توجهی داشته اما بقیه دوزهای عصاره در زمان های دیگر (۶۰ و ۹۰ دقیقه پس از تزریق) اثر قابل توجهی ندارند. این مشاهدات احتمالاً به این علت است که در عصاره غیر از مواد شل کننده، مواد دیگری نیز هستند که در نتیجه افزایش دوز مقدار آنها بیشتر افزایش یافته و اثر ترکیب موثره را به طریقی (مثل عمل کردن به عنوان آنتاگونیست فیزیولوژیک یا آنتاگونیست فارماکولوژیک) مهار می کنند. در دوزهای بالاتر از ۰/۲۹ گرم بر کیلوگرم غلظت ماده آنتاگونیزه کننده افزایش یافته و غلظت ماده موثره در آن کم می شود، این مواد آنتاگونیزه کننده می توانند اثر خود را به صورت کاهش شل کنندگی نشان دهند.

در آزمایش دیگری که انجام شد بین هالوپریدول با دوز ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم و عصاره با دوز ۰/۲۹ گرم بر کیلوگرم (که بیشترین اثر را در آزمایش های قبلی داشت) مقایسه ای انجام گرفت. اثر بسیار زیادی که عصاره در آزمون عدم گرفتن میله (Traction Test) از خود نشان می دهد احتمالاً نتیجه تاثیر کم عصاره بر روی سیستم دوپامینی مغز می باشد (۱۰).

دیازپام در هر دو دوز استفاده شده در آزمایش، اثرش ۶۰ دقیقه پس از تزریق شروع شده و تا ۹۰ دقیقه ادامه می یابد. دوز ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم از دیازپام به عنوان شاهد



شکل ۱. مطالعه اثر شل کنندگی عضلانی عصاره جوشانده آبی برگ نوروزک و هالوپریدول از راه داخل صفاقی در موش کوچک به روش عدم گرفتن میله (Traction test) در زمانهای مختلف پس از تزریق، زمان ختم عمل ۵ ثانیه. آزمون فیشر، مقایسه با کنترل (سالین): n=۱۰-۲۰، *** P<0.001; ** P<0.01; *P<0.05



شکل ۲. مطالعه اثر خواب آوری عصاره جوشانده برگ نوروزک و دیازپام از راه داخل صفاقی در موش کوچک) مقدار خواب ایجاد شده توسط تجویز وریدی تیوپتال بر حسب دقیقه که یک ساعت پس از تزریق داخل صفاقی عصاره ها و دیازپام اندازه گیری و رسم شده است. نتایج به صورت میانگین + خطای معیار زمان خواب رسم شده است. جهت سطح اختلاف آماری از آزمون Dunn استفاده گردید (Kruskal wallis) مقایسه با کنترل (سالین): n=۱۲-۳۱، *** P<0.001

با اثر آگونستی روی گیرنده های آدنوزینی باعث ایجاد خواب گردد.

طی آزمایشات فیتوشیمیایی که بر روی عصاره نوروزک انجام گرفت مشخص شد که محتوی مقدار زیادی ساپونین می باشد. از طرفی، طی بررسی های انجام شده، مشخص گردیده است که ساپونین ها دارای اثرات آرام بخش (Sedative) نیز می باشند (۱۲). بنابراین احتمال دارد ساپونین های موجود در عصاره باعث ایجاد خواب گردند.

به نظر می رسد که اثرات خواب آوری عصاره گیاه به صورت وابسته به دوز افزایش می یابد. هرچند به دلیل عدم امکان تزریق دوزهای بالائی توان به صراحت این فرضیه را بیان کرد.

تنگ شدن شدید عروقی که به دنبال تزریق غلظت های بالای عصاره ایجاد می شود می تواند به علت های ذیل باشد:

الف - اثر کاهش دهنده فشار خون: مطالعاتی که بر روی *S. miltiorrhiza* انجام گرفته، نشان داد که این گیاه حاوی ماده ای به نام Lithospermic acid B می باشد که کاهش دهنده فشار خون می باشد. همچنین مطالعات دیگری که بر روی گیاه *S. officinalis* انجام گرفت مشخص نمود که این گیاه نیز، اثر کاهش دهنده فشار خون دارد (۱۴ و ۱۷).

این احتمال وجود دارد که عصاره گیاه نوروزک نیز فشار خون را کاهش بدهد و بدن به طور جبرانی در جهت مقابله با این کاهش عروق محیطی را تنگ کرده تا در نتیجه فشار خون را افزایش دهد.

ب- ایجاد اثرات دوگانه بر روی عروق: طی بررسی هایی که بر روی *S. miltiorrhiza* انجام گرفته مشخص شده است که این گیاه محتوی موادی به نام Tanshinons هستند. این ترکیبات در عروق کرونری در تمامی غلظت های استفاده شده، خاصیت متسع کنندگی دارند ولی در عروق کلیوی، مزانتر و فورال در غلظت کم متسع کننده و در غلظت زیاد متقبض کننده هستند (۱۴ و ۱۶).

مثبت برای آزمون شل‌کنندگی مناسب نمی باشد زیرا تمامی زمانها هیچ گونه اختلاف معنی داری با کنترل منفی (نرمال سالین) نداشت. در این آزمایش از دیازپام با دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید (۱۹). دوز دیازپام نسبت به عصاره بسیار کمتر می باشد که نشان دهنده قدرت اثر بسیار زیاد دیازپام در مقایسه با عصاره است. اگرچه کارایی دیازپام در زمان های ۶۰ و ۹۰ دقیقه تفاوت معنی داری با نرمال سالین دارد.

بررسی اثر خواب آوری عصاره

همانطور که در نمودار ۴ نشان داده شده، عصاره در دوزهای ۱/۱۵ و ۱/۵۷ گرم بر کیلوگرم، احتمالاً حاوی ترکیبات خواب آور در غلظت مناسب است.

مکانیسم های احتمالی

اثر روی گیرنده های بنزودیازپینی: بنزودیازپین ها، همانطور که گفته شد با اثر بر روی گیرنده های گابا سبب تقویت اثر گابا شده و در نتیجه سبب ایجاد خواب می شوند. مطالعاتی که بر روی ریشه گیاه *S. miltiorrhiza* انجام گرفت مشخص کرد که ریشه این گیاه حاوی ماده ای به نام Miltirone است (۱۳). این ماده طی بررسی های انجام شده، یک آگونست نسبی گیرنده های بنزودیازپینی است. این ماده همچنین فاقد اثر شل‌کنندگی عضلانی است.

عصاره نوروزک نیز احتمال دارد به علت داشتن یک چنین ماده ای یا مواد مشابه دیگر، بر روی گیرنده های بنزودیازپینی اثر کرده و سبب ایجاد خواب شود.

اثر بر روی گیرنده آدنوزین: مطالعاتی که بر روی نوروزک انجام گرفته مشخص کرد که این گیاه بر روی گیرنده آدنوزین اثر کرده، به طوری که اثر عصاره توسط آمینوفیلین مهار می شود (۱۰). همچنین مشخص شده که سیستم های آدنوزینی در ایجاد خواب دخیل هستند. به عنوان مثال کافئین موجود در قهوه، گیرنده های آدنوزینی را مهار کرده و باعث حالت هوشیاری و بیداری می گردد. در نتیجه احتمال دارد که عصاره

۲. باغی، نرگس. بررسی اثرات ضد میکربی گیاه نوروزک، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده داروسازی، مشهد، پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی، ۱۳۷۴، ۹۱.
۳. حسین زاده، حسین و این شهیدی، محسن. اثرات عصاره های آبی و الکلی دانه و برگ گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia* Benth.) بر مدت زمان زنده ماندن موش های در معرض هیپوکسی. مجله علوم پایه پزشکی ایران، ۱۳۷۸، جلد ۲، ۷۵-۸۲.
۴. صمصام شریعت، هادی. عصاره گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش های شناسایی و ارزشیابی آنها، انتشارات هانی، اصفهان، ۱۳۷۱، ۲۴۲-۱۷۴.
5. Akbar S., 1984, A study of central nervous system depressant activity of *salvia haematodes*, Int. J. Crude. Drug. Res., 78(10): 78342.
6. Christina V., Mariet T., and Lapolla J., 1982, Cocaine potentiates ketamin-induced loss of righting reflex and sleeping time in mice: Role of catecholamines, J. Pharm. Exp. Ther., 222:122-125.
7. Hosseinzadeh H. and Arabsanavi J., 2001, Anticonvulsant effect of *Salvia leriifolia* Benth. seed and leaf extracts in mice, Iran. J. Basic Med. Sci., 3:163-170.
8. Hosseinzadeh H., Haddad Khodaparast M. H. and Hosseini E., 2000, Anti-ulcer effect of *Salvia leriifolia* benth. leaf extracts in mice, Pharm. Pharmacol. Lett., 2: 63-64.
9. Hosseinzadeh H., Haddadkhodaparast M. H. and Shokoozadeh H., 1998, Antihyperglycemic effect of *Salvia leriifolia* Benth. leaf and seed extract in mice, Iran. J. Med. Sci., 23, 74-80.
10. Hosseinzadeh H. and Lari P., 2000, Effect of *Salvia leriifolia* extract on morphine dependence in mice, Phytotherapy Res., 14, 384-387.
11. Hosseinzadeh H. and Yavari M., 1999, Anti-inflammatory effects of *Salvia leriifolia* Benth. leaf extract in mice and rats, Pharm. Pharmacol. Lett., 9: 60-61.
12. Hussain M. M., Sokomba E. N., and Shok M., 1991, Pharmacological effects of *Gardenia erubescens* in mice, rats and cats, Int. J. Pharmacogn, 29: 94-100.
13. Lee C. M., Wong H. N., Chui K. Y., Choang, T. F., Hon P. M. and Chang, H. M., 1991, Miltrione, a central benzodiazepine receptor partial agonist from a chinese medicinal herb *Salvia militorrhiza*, Neurosci. Lett., 127, 237-241.
14. Lei Xun L. and George C.Y., 1986, Cardiovascular pharmacology of *Panax notoginseng* and *Salvia miltiorrhiza*, Am. J. Chin. Med., 14:145-152.

ج- سروتونین: وجود ترکیباتی مانند سروتونین نیز در عصاره گیاه محتمل می باشد. زیرا همانطور که در کلیات گفته شد، سروتونین در مکانیسم های ایجاد خواب دخالت می کند. از طرفی مشخص شده است که سروتونین به صورت وابسته به دوز باعث تنگ شدن عروق می گردد. مکانیسم این اثر سروتونین، تحریک جابه جایی کلسیم داخل سلولی می باشد. بنابراین احتمال دارد که ترکیبات سروتونینی موجود در عصاره از طرفی باعث افزایش خواب شده و از طرفی موجب تنگ شدن عروق گردد (۲۱).

در مجموع این مطالعه نشان داد که عصاره جوشانده آبی برگ نوروزک دارای اثر خواب آوری است و این اثر خود را تقریباً به صورت وابسته به دوز نشان می دهد. همچنین مشخص شد که عصاره دارای اثر شل کننده عضلانی است و این اثر به صورت غیر وابسته به دوز می باشد و اثرات آن با دبا زپام به عنوان کنترل مثبت قابل مقایسه است.

با توجه به اینکه دوزی از عصاره که حداکثر اثر شل کنندگی را ایجاد می کند، فاقد اثرات خواب آوری است این احتمال وجود دارد که مکانیسم اثرات شل کنندگی و خواب آوری عصاره جدا از هم باشند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که در تامین قسمتی از بودجه این تحقیق دخیل بوده اند، تشکر و قدردانی می شود.

منابع

۱. آرش، علیرضا. بررسی سمیت حاد، اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره دانه نوروزک بر موش سفید کوچک و بزرگ، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده داروسازی، مشهد، پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی، ۱۳۷۵، ۱۶۸-۱۶۷.

- extracts on the central nervous system, *Planta Med.*, 38:398-403.
19. Vogel H.G. and Vogel W. H., *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assay*, Springer, Berlin, 1997, 267.
 20. Wagner D.R., *Circadian rhythm sleep disorders*, In: Thorpy M. J. (ed), *Handbook of sleep disorders*, Marcel Dekker, New York, 1990, 493.
 21. Wehr T. A., 1992, A brain-Warning function for REM sleep, *Neurosci. Biohav. Rev.*, 16: 379-97.
 15. Li C. P., Yung Kh., and Chiu K. W., 1990, Hypotensive action of *Salvia miltiorrhiza* cell culture extract, *Am. J. Chin. Med.*, 18:157-66.
 16. Nierenberg A. A., Alder L. A. and Peselow E., 1994, Trazodone for antidepressant associated insomnia, *Am. J. Psychiat.*, 151:1069-1072.
 17. Todorov S., 1984, Experimental pharmacologia study of 3 species from genus *Salvia*, *Acta. Physiol. Pharmacol. Bulg.*, 10:13-26.
 18. Villar R., Laguna, M. R., Calleja J. M. and cadavid I., 1992, Effect of *Skeletonema statum*