بررسی اثر عصاره و فراکسیون‌های اندام های هوایی گیاه مهرخوش (*Zhumeria majdae*) بر روی تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین در موش

*دکتر حسین حسین‌زاده، **دکتر محمد رمضانی، ***دکتر آزاده شیرزاد

* استادگروه فارماکودینامی و سم‌شناسی دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

** دانشیارگروه بیوتکنولوژی و فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

***داروساز

تاریخ دریافت مقاله: ۸۳/۵/۱۴ ، تاریخ پذیرش مقاله: ۸۴/۱/۲۵

چکیده

هدف: در این مطالعه اثرات عصاره تام و فراکسیونهای اندام های هوایی گیاه مهر خوش (*Zhumeria majdae*) در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: به منظور ایجاد تحمل نسبت به مرفین، موش‌ها روزانه تحت دوبار تزریق زیرجلدی مرفین ۲۰ mg/kg به مدت ۴ روز قرار گرفتند و همزمان به صورت داخل صفاقی عصاره دریافت داشتند. عصاره در دوزهای ۰/۱۴ g/kg، ۰/۲۸ g/kg و ۰/۵۶ g/kg تزریق شد. برای بررسی اثر عصاره و فراکسیون‌ها در جلوگیری از ایجاد تحمل به اثرضددردی مرفین از آزمون پرش دم استفاده شد که این آزمون در روزهای قبل و بعد از این دوره چهار روزه پس از تزریق یک دوز مرفین ۱۰ mg/kg انجام شد. از گیاه مهرخوش عصاره متانولی به روش سوکسله استخراج گردید و از آن دو فراکسیون آبی‌متانولی (۹:۱) و اتردوپترولی تهیه شد

نتایج: فراکسیون آبی‌متانولی (۹:۱) و اتردوپترولی قادر بودند جلوی ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین را بگیرند. در مرحله بعد از عصاره تام الکلی، فراکسیون آبی ـ متانولی (۳:۲) و فراکسیون کلروفرمی تهیه شد که فراکسیون آبی ـ متانولی کاملاً توانست از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین پیشگیری نماید اما در مورد فراکسیون کلروفرمی چنین نتیجه‌ای به دست نیامد. فراکسیون‌های آبی ــ متانولی، اتردوپترولی و کلروفرمی در دوزهای ۰/۱۴ g/kg، ۰/۲۸ g/kg و ۰/۵۶ g/kg تزریق شدند. بنابراین از فراکسیون آبی ـ متانولی (۳:۲) برای تهیه فراکسیون به روش MPLC (کروماتوگرافی مایع با فشار متوسط) استفاده شد. با توجه به R_f فراکسیونها، فراکسیونهای مشابه مخلوط شده و ۳ فراکسیون A، B و C حاصل شد که هر سه آنها در دوز ۰/۱۴ g/kg در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضددردی مرفین مؤثر بودند.

نتیجه گیری: در نهایت با توجه به نتایج حاصل مشخص شد که عصاره و فراکسیون‌های حاصل از گیاه مهرخوش قادرند تحمل نسبت به اثرضد دردی مرفین را مهار نمایند.

کلمات کلیدی: تحمل، مرفین، فراکسیون، مهرخوش.

مقدمه

تسکین و کنترل درد چالش مهم پزشکان می باشد. در دردهای شدید لزوم تجویز مواد اوپیوئیدی مطرح می باشد، ولی تجویز مکرر این داروها از جمله مرفین سبب کاهش تدریجی اثر این مواد یا به عبارتی تحمل می‌شود. یافتن ترکیباتی جهت کاهش تحمل می تواند باعث افزایش کارایی و وسعت مصرف فراورده های اوپیوئیدی در تسکین درد شود. گیرنده‌های گلوتامات در ایجاد تحمل نقش داشته (۱۰) و آنتاگونیستهای این گیرنده‌ها مانند MK-801، کتامین و دکسترومتورفان می‌توانند تحمل یا سندروم محرومیت را تقلیل دهند (۱۱، ۲۵، ۲۷). تجویز مهارکننده‌های سنتز نیتریک اکساید از توسعه تحمل حاد بعد از تزریق داخل بطنی مرفین در موش جلوگیری می‌کنند (۵). گیاه مهرخوش (*Zhumeria majdae*) تنها گونه این جنس به نام زومریا ماژده، در نواحی جنوبی ایران (حوالی بندرعباس) می‌روید. نمونه هرباریومی این گونه را برای اولین بار خانم Zhumer Majdae نروژی در سال ۱۹۶۶ میلادی در جنوب ایران جمع آوری نمود و در نهایت Rechinger و Wendelbo این گیاه را به عنوان جنسی جدید قلمداد نموده و به افتخار جمع آوری کننده آن، Zhumeria Majdae نامیدند. وجه تسمیه نام بومی آن خواص درمانی و بوی خوش آن بود (۴-۲).

برگ مهرخوش حاوی ۲ درصد اسانس فرار می‌باشد که درصد بالایی از اسانس مهرخوش را مخلوطی از کامفر و

نویسنده مسئول: دکتر حسین حسین زاده، تلفن: ۶۶- ۳۲۵۵ ۸۸۲-۰۵۱۱، نمابر: ۸۸۲۳۲۵۱-۰۵۱۱، E.mail: hosseinzadehh@mums.ac.ir!

Archive of SID

www.SID.ir

لینالول تشکیل داده و دلیل خاصیت ضدنفخ و بادشکنی آن به علت وجود لینالول می‌باشد. از قسمت‌های مختلف گیاه، نوعی تری‌ترپن به فرمول $(C_{30}H_{40}O_3)$ و دو فلاونوئید به نام‌های Desmethoxycetauredine و Cirsimartine استخراج و تعیین فرمول مولکولی شده است (۲). برگ و سرشاخه‌های گیاه مهرخوش به علت دارا بودن ترکیبات فرار به عنوان ضد نفخ و بادشکن در کودکان و در تسکین دل درد و قاعدگی دردناک به کار می‌رود. همچنین این گیاه دارای اثر ضد میکروبی و ضدعفونی کننده می‌باشد که به دلیل وجود کامفر و لینالول موجود در آن است. بر اساس مطالعات انجام شده گیاه مهرخوش دارای اثرات ضدالتهابی نیز می‌باشد (۱، ۲ ، ۱۴).

اثرات ضد دردی عصاره آبی و الکلی گیاه در روش صفحه داغ توسط نالوکسان مهار شده است (۱۴). لینالول موجود در این گیاه اثرات آنتاگونیستی بر روی گیرنده های گلوتامات نشان داده است (۸). با توجه به این موارد اثرات عصاره متانولی و فراکسیونهای آن بر روی تحمل به مرفین در موش در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

حیوان: موش سفید نر با وزن ۳۰-۲۵، از پژوهشکده بوعلی تهیه و در اتاق مخصوص نگهداری حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شد.

جمع‌آوری گیاه و خشک کردن: این گیاه توسط اداره امور دام و منابع طبیعی استان هرمزگان در اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۱ جمع‌آوری گردید و توسط آقای نجفی و سلطانی شناسایی شد (شماره هرباریومی ۳ـ۲۶۱۳ ـ۱۵۳، دانشکده داروسازی).

روش عصاره‌گیری به روش سوکسله و تهیه عصاره تام: مقدار ۱۵۰ گرم از پودرگیاه خشک را وزن کرده و به منظور تهیه عصاره تام متانولی، به مدت ۱۲ ساعت در دستگاه سوکسله داخل کارتوش ریخته و عصاره‌گیری انجام شد. پس از ۱۲ ساعت دستگاه سوکسله را خاموش نموده و پس از سرد شدن، عصاره صاف گردید. عصاره حاصل جهت حذف حلال به دستگاه حذف حلال منتقل گردید و حدود ۸۰ درصد متانول در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و در فشار کم (۳۳۷ mbar) حذف شد. عصاره تغلیظ شده به داخل پلیت‌های از قبل توزین شده منتقل گردید و باقی مانده حلال در پلیت و روی بن‌ماری (دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد) تبخیر شد.

جداسازی فراکسیون‌های اتردوپترولی و آبی ـ متانولی: عصاره تام را بعد از حذف حلال و قبل از تبخیر کامل حلال در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب ـ متانول به نسبت (۹:۱) حل نموده و با اتردوپترول در داخل قیف دکانتور، هر بار با ۵۰ میلی‌لیتر اتردوپترول تا زمان بی‌رنگ شدن فاز اتری استخراج شد. سپس هر یک از فازها جهت حذف حلال، به دستگاه حذف حلال منتقل شد و پس از تبخیر حلال مورد آزمایش قرار گرفت. فاز اتردوپترولی به رنگ زرد و فاز آبی ـ متانولی به رنگ سبز تیره بود.

جداسازی فراکسیون‌های کلروفرمی و آبی ـ متانولی: عصاره تام حاصل از سوکسله ۱۵۰ گرم گیاه در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب ـ متانول به نسبت (۳:۲) حل و به قیف دکانتور منتقل و هم حجم آن کلروفرم اضافه شد. پس از هم زدن درب دکانتور را برداشته و اجازه داده شد تا فازها از هم جدا شوند. فاز آبی ـ متانولی در بالا و به رنگ قهوه‌ای روشن و فاز کلروفرمی به رنگ سبز تیره در پایین ظاهر شد. عمل استخراج تا بی‌رنگ شدن فاز کلروفرومی ادامه یافت. سپس این دو فاز جداگانه به دستگاه حذف حلال منتقل شده و قسمت اعظم حلال در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد حذف و باقی‌مانده داخل پلیت و روی بن‌ماری با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد حذف گردید.

کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) فراکسیون آبی ـ متانولی: به دلیل پاسخ بهتر و واضح‌تر فراکسیون آبی ـ متانولی در آزمایش انجام شده روی حیوان، از آن برای مراحل بعدی جداسازی استفاده شد. جهت انتخاب سیستم حلال مناسب برای انجام کروماتوگرافی مایع با فشار متوسط (MPLC) کمی عصاره آبی ـ متانولی را در کمی متانول حل نموده و به عنوان نمونه ذخیره برای انجام TLC با سیستم‌های حلال با نسبتهای متفاوت کلرفرم و متانول به کار رفت.

کروماتوگرافی مایع با فشار متوسط (MPLC) فراکسیون آبی ـ متانولی: جهت جداسازی اجزای فراکسیون آبی ـ متانولی از روش کروماتوگرافی مایع با فشار متوسط (MPLC) استفاده گردید. ابتدا ستون MPLC با ابعاد (۲/۶×۴۸ cm) با سیلیکاژل ۶۰ با قطر ذرات (μm ۴۰ـ۱۵) پر شد. ستون را با متانول خالص شستشو داده و سپس حدود ۲ گرم از فراکسیون آبی ـ متانولی را در حداقل مقدار متانول حدود ۶ میلی‌لیتر حل

Archive of SID
www.SID.ir

و تقریباً ۱ گرم از فراکسیون توسط پی‌پت پاستور از بالا داخل ستون ریخته شد. با توجه به R_f فراکسیونها، فراکسیونهای مشابه مخلوط شده و ۳ فراکسیون A (فراکسیون ۱۳-۱)، B (فراکسیون ۲۱-۱۴) و C (فراکسیون ۵۸-۲۲) حاصل شد.

آزمون فلاونوییدها: مقدار ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از فراکسیون آبی الکلی را در دو لوله آزمایش ریخته و سپس به آن مقدار ml ۰/۵ اسید کلریدریک غلیظ اضافه شد. به یکی از دو لوله mg ۲۰ براده منیزیم اضافه کرده، رنگ حاصله در قسمت کف لوله پس از ده دقیقه ملاحظه شد. سپس لوله حاوی براده منیزیم سرد شده و با حجم مساوی آب و ml ۱ الکل آمیلیک شده و به شدت تکان داده شد. سپس لوله را کنار گذاشته و رنگ حاصل پس از جدا شدن فازها مشاهده گردید (۲۴).

آزمون ترپنوییدها: روی صفحه TLC آماده، یک تا دو قطره از فراکسیون آبی متانولی گذاشته، پس از خشک شدن، معرف لیبرمن بوشاردا روی آن اسپری شد. رنگ قهوه‌ای حاصله نشان دهنده وجود ترپنویید است (معرف لیبرمن بوشاردا: g ۲ یدید پتاسیم + g ۲ ید که با آب به حجم ml ۱۰۰ رسانده می‌شود) (۲۴).

روش ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین در موش(۷): برای ایجاد تحمل گروه‌هایی شامل ۶ حیوان استفاده شد که جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاه ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش، به اتاق آزمایش منتقل گردیدند و در یک سیکل نوری ۱۲ ساعته نگهداری شدند.

در این آزمایش ابتدا تمام گروه‌ها به جز گروه کنترل (نرمال سالین) در روز اول یک تک دوز مرفین mg/kg ۱۰ به صورت زیرجلدی دریافت داشتند و پس از ۳۰ دقیقه آزمون پرش دم انجام شد. ابتدا حیوان در محفظه مخصوص قرار داده شد و دم موش به طور ثابت در منطقه شکاف گذاشته و اشعه به یک سوم اولیه دم حیوان تابانیده شد. شدت اشعه ۷۰٪ و حداکثر زمان تابش اشعه (cut-off) ۱۰ ثانیه در نظر گرفته شد و این آزمون قبل از تزریق هر ماده‌ای انجام و حیواناتی که در این زمان پاسخ موردنظر را ندادند، حذف گردیدند. از روز بعد (روزهای دوم، سوم، چهارم و پنجم) حیوانات دو بار در روز در ساعت ۹ صبح و ۴:۳۰ بعدازظهر یک دوز مرفین mg/kg ۲۰ به صورت زیر جلدی، و عصاره به صورت داخل صفاقی به مدت ۴ روز دریافت می کردند. با توجه به LD_{50} و حداکثر دوز قابل تحمل به دست آمده از مطالعات قبلی (g/kg ۴/۱۷، g/kg ۲/۸)، عصاره در دوزهای g/kg ۰/۱۴، g/kg۰/۲۸ و g/kg۰/۵۶ تهیه و با حجم ۰/۳ میلی‌لیتر تزریق شد. پس از پایان این دوره چهار روزه مجدداً تک دوز مرفین mg/kg ۱۰ در روز ششم به تمام گروه‌ها به جز گروه نرمال سالین به صورت زیر جلدی تزریق و آزمون پرش دم جهت ارزیابی اثر عصاره انجام شد.

ضمنا برای تأیید این که عصاره به روش آزمون پرش دم اثر ضد دردی نشان نمی‌دهد، یک گروه از حیوانات در تمام طول مدت آزمایش فقط بالاترین دوز عصاره را دریافت می‌کردند. جهت بررسی فراکسیون‌های حاصل از روش کروماتوگرافی مایع با فشار متوسط (MPLC) به دلیل خلوص بالا و مقدار کم ماده موجود فقط پایین‌ترین دوز (g/kg ۰/۱۴) روی حیوانات بررسی شد.

محاسبات آماری: با استفاده از برنامه کامپیوتری Instant، اعداد خام مربوط به هر گروه آزمایشی به صورت ستونی وارد و آزمون آنالیز ANOVA برای مشخص شدن انحراف استاندارد انجام شد. سپس آزمون Tukey-Kramer برای مقایسه گروه‌ها انجام گردید تا اختلاف بین گروه‌ها مشخص شود. اختلاف با $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از آزمایشات فیتوشیمیایی

نتایج نشان می‌دهد که فراکسیون آبی ـ متانولی حاوی فلاونویید و ترپنوئید می‌باشد.

بازده عصاره ها و فراکسیونها

بازده عصاره متانولی ۲۳ در صد (w/w) بود. از عصاره آبی - متانولی (۲ به ۳) با کلرفرم دو فراکسیون آبی- الکلی ۳۱ درصد و فراکسیون کلرفرمی ۶۸ درصد حاصل شد و همچنین از عصاره آبی- متانولی (۱ به ۹) با اتردوپترول دو فراکسیون آبی- الکلی ۸۵/۷ درصد و فراکسیون اتردو پترولی ۱۴/۳ درصد حاصل شد.

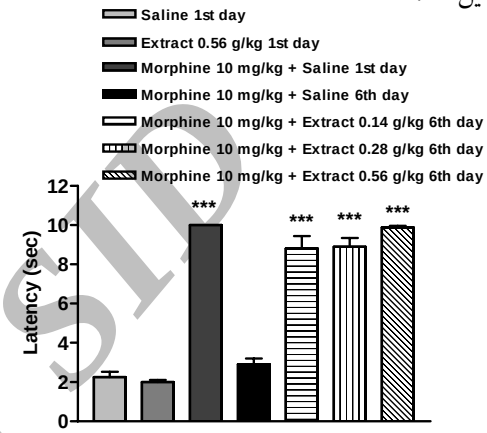
اثر عصاره و فراکسیونها بر روی تحمل

عصاره ها و فراکسیونها با دوز های به کار رفته اثر ضد دردی در روش پرش دم نشان ندادند. مرفین با دوز mg/kg ۱۰ باعث افزایش آستانه درد شد. اثر ضد دردی مرفین پس از ۱۲ تزریق عملا از بین رفته و در روز ششم تحمل به وجود آمد. عصاره‌های متانولی (شکل ۱)، اتر دوپترولی (شکل ۲) و آبی- متانولی (۱ به ۹)

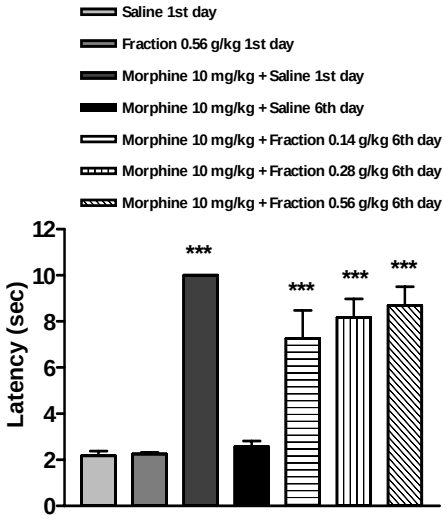
Archive of SID

www.SID.ir

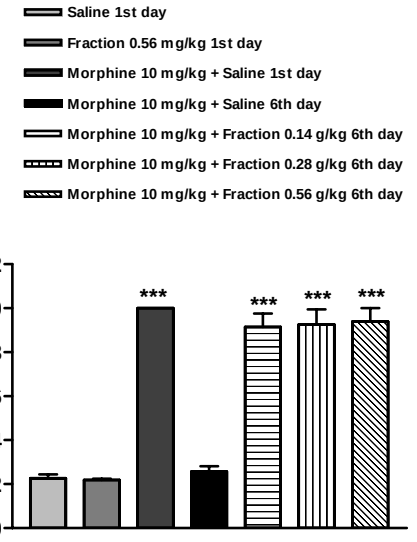
(شکل ۳) در محدوده دوز به کار رفته باعث بازیابی اثر ضد دردی مرفین در روز ششم به میزان ۹۸/۸–۷۲/۷ شدند. فراکسیون کلرفرمی عملا موثر نبود (شکل ۴). فراکسیون آبی- متانولی (۲ به ۳) (شکل ۵) و فراکسیون‌های A و B (شکل ۶) باعث ۱۰۰ درصد بازیابی اثر مرفین شدند. فراکسیون C باعث ۶۸/۷٪ بازیابی اثر مرفین شد.



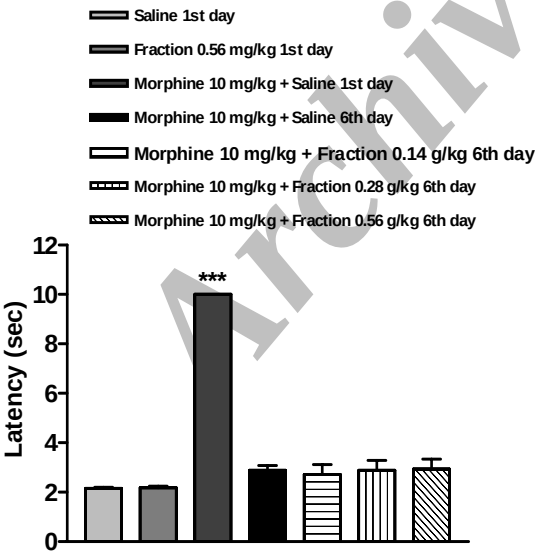
شکل ۱: اثر عصاره متانولی گیاه مهر خوش در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین در موش. جهت ایجاد تحمل حیوانات دو بار یک دوز مرفین ۲۰ mg/kg به صورت زیر جلدی، و عصاره به صورت داخل صفاقی به مدت ٤ روز (روزهای ۵–۲) دریافت می کردند. کنترل‌های نرمال سالین و عصاره در روز ششم و همچنین مرفین و عصاره در روز اول جهت فهم بهتر شکل نمایش داده نشده است. نتایج به صورت میانگین + خطای معیار ٦ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱ >p***.



شکل ۲: اثر فراکسیون اتردو پترولی گیاه مهر خوش در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین در موش. جهت ایجاد تحمل حیوانات دو بار یک دوز مرفین ۲۰ mg/kg به صورت زیر جلدی، و فراکسیون به صورت داخل صفاقی به مدت ٤ روز (روزهای ۵–۲) دریافت می کردند. کنترل های نرمال سالین و عصاره در روز ششم و همچنین مرفین و عصاره در روز اول جهت فهم بهتر شکل نمایش داده نشده است. نتایج به صورت میانگین + خطای معیار ٦ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱ >p***.



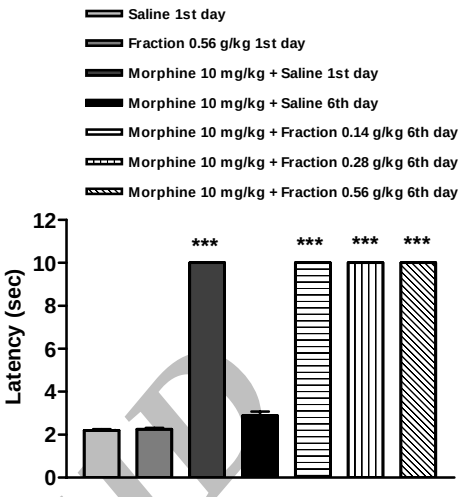
شکل ۳: اثر فراکسیون آبی-متانولی (۱ به ۹) گیاه مهر خوش در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین در موش. جهت ایجاد تحمل حیوانات دو بار یک دوز مرفین ۲۰ mg/kg به صورت زیر جلدی، و فراکسیون به صورت داخل صفاقی به مدت ٤ روز (روزهای ۵–۲) دریافت می کردند. کنترل های نرمال سالین و عصاره در روز ششم و همچنین مرفین و عصاره در روز اول جهت فهم بهتر شکل نمایش داده نشده است. نتایج به صورت میانگین + خطای معیار ٦ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱ >p***.



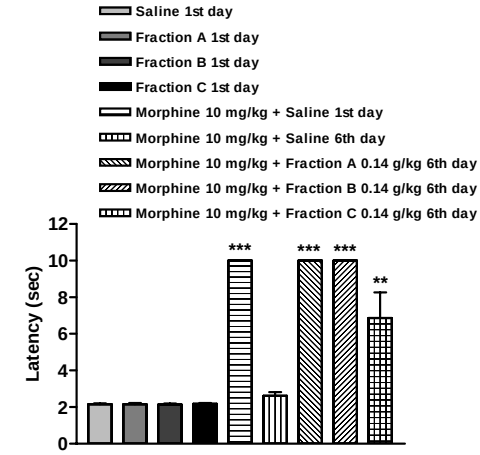
شکل ٤: اثر فراکسیون کلروفرمی گیاه مهر خوش در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین در موش. جهت ایجاد تحمل حیوانات دو بار یک دوز مرفین ۲۰ mg/kg به صورت زیر جلدی، و فراکسیون به صورت داخل صفاقی به مدت ٤ روز (روزهای ۵–۲) دریافت می‌کردند. کنترل های نرمال سالین و عصاره در روز ششم و همچنین مرفین و عصاره در روز اول جهت فهم بهتر شکل نمایش داده نشده است. نتایج به صورت میانگین + خطای معیار ٦ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱ >p***.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۵: اثر فراکسیون آبی–متانولی (۲ به ۳) گیاه مهر خوش در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین در موش. جهت ایجاد تحمل حیوانات دو بار یک دوز مرفین mg/kg ۲۰ به صورت زیر جلدی، و فراکسیون به صورت داخل صفاقی به مدت ٤ روز (روزهای ۵–۲) دریافت می کردند. کنترل های نرمال سالین و عصاره در روز ششم و همچنین مرفین و عصاره در روز اول جهت فهم بهتر شکل نمایش داده نشده است.نتایج به صورت میانگین + خطای معیار ٦ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱ >p*** .



شکل ٦: اثر سه فراکسیون گیاه مهر خوش جدا شده به روش MPLC در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین در موش. جهت ایجاد تحمل حیوانات دو بار یک دوز مرفین mg/kg ۲۰ به صورت زیر جلدی، و فراکسیون به صورت داخل صفاقی به مدت ٤ روز (روزهای ۵–۲) دریافت می کردند. کنترل های نرمال سالین و عصاره در روز ششم و همچنین مرفین و عصاره در روز اول جهت فهم بهتر شکل نمایش داده نشده است.نتایج به صورت میانگین + خطای معیار ٦ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱ >p*** .

بحث و نتیجه‌گیری

از عصاره تام متانولی، دو فراکسیون آبی ـ متانولی (۹:۱) و اتردوپترولی تهیه شد که هر دو در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین مؤثر بودند ولی اثر فراکسیون آبی ـ متانولی بهتر بود. در مرحله بعدی از عصاره تام متانولی، دو فراکسیون آبی ـ متانولی (۳:۲) و کلروفرمی تهیه شد که فقط فراکسیون آبی ـ متانولی در پیشگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین مؤثر بود و به همین دلیل از آن سه فراکسیون A، B و C به روش MPLC (کروماتوگرافی مایع با فشار متوسط) تهیه شد که همه آنها در کاهش ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین مؤثر بودند. در نهایت با توجه به نتایج مشخص شد که عصاره و فراکسیون‌های حاصل از گیاه قادرند تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین را مهار کنند.

بررسی نتایج آزمایش فیتوشیمیایی روی فراکسیون آبی ـ متانولی گیاه مهرخوش

برطبق نتایج به دست آمده از آزمایشات فیتوشیمیایی، فراکسیون آبی ـ متانولی حاوی فلاونوئید و ترپنوئید می‌باشد. مطالعات انجام شده قبلی نشان می‌دهد که فلاونوئید روی سیستم اپیوئیدی مؤثر می‌باشد (۶) و ترکیبات دی ترپن مانند Miltirone که درجاتی از قطبیت را دارا می‌باشد آگونیست نسبی گیرنده‌های بنزودیازپینی بوده و روی تحمل و وابستگی به مرفین اثر دارد (۱۷).

بررسی مکانیسم احتمالی اثر عصاره و فراکسیون‌های گیاه مهرخوش در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به مرفین

با توجه به این که در ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین سیستم های بسیاری تحت تأثیر قرار می‌گیرند، بنابراین اگر ماده‌ای قادر باشد سیستم‌های مهاری را تحریک کند و یا هر یک از سیستم‌های تغییر یافته را تعدیل نماید، می‌تواند در مهار تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین مؤثر باشد. در پدیده تحمل و/ یا وابستگی نسبت به مرفین مواردی چون اسیدهای آمینه تحریکی (۱۰)، آدنوزین (۹)، کلسیم داخل سلولی (۲۲)، سیستم گاباارژیک (۲۱) و آدرنرژیک (۱۶) می توانند تاثیر گذار باشند .

گیاه مهرخوش یکی از گونه‌های تیره نعناع باعث مهار تحمل به مرفین شده است. گونه‌های دیگری از این تیره قبلاً بررسی شده اند که روی وابستگی به مرفین تأثیر داشته‌اند (۱۲، ۱۳). با در نظرگرفتن این نکته که در گونه‌های مشابه گیاهان، ترکیبات مشابهی وجود دارد، بنابراین احتمال این که هر یک از این ترکیبات در گیاه مهرخوش وجود داشته باشد

Archive of SID
www.SID.ir

زیاد است و احتمالاً گیاه مهرخوش از طریق یک یا چند مکانیسم توانسته است سبب جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین شود. به عنوان نمونه، جنس‌های مختلف گونه سالویا از تیره نعناع با مکانیسم‌های مختلف به طور غیرمستقیم روی سیستم اپیوئیدی اثر داشته اند که از جمله این مکانیسم‌ها، مهار آدنیلات سیکلاز و کاهش cAMP است که حین تحمل و وابستگی افزایش می‌یابد. همچنین اثر شبیه بنزودیازپینی (۲۳)، مهار فسفاتیدیل اینوزیتول و اثر بر سیستم آدنوزین می تواند در مهار تحمل به مرفین موثرباشد (۱۲،۹).

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایشات این مطالعه، عصاره تام و فراکسیون‌های گیاه مهرخوش حاوی جزء یا اجزائی است که در جلوگیری از ایجاد تحمل نسبت به مرفین مؤثر هستند. در مطالعات قبلی انجام شده که در طی آن اثر تجویز نالوکسان زیرجلدی برفعالیت ضد دردی عصاره گیاه مهرخوش به روش صفحه داغ سنجیده شده، مشخص گردیده است که فعالیت ضد دردی عصاره توسط نالوکسان مهار می‌شود، در نتیجه عصاره با تأثیر روی سیستم اپیوئیدی و تحریک گیرنده‌های اپیوئیدی (اگونیست) و یا تحریک آزادسازی مواد اپیوئیدی درون‌زا سبب ایجاد اثر ضد دردی می‌شود (۱۴). علی‌رغم این که در تحقیقات قبلی انجام شده روی گیاه مهرخوش، عصاره تام در آزمون صفحه داغ اثر ضد دردی نشان داده است، در آزمون پرش دم در مورد عصاره تام و فراکسیون‌ها اثر ضد دردی رؤیت نشد در نتیجه در این تحقیق با اثر ضد دردی مرفین و تحمل نسبت به آن تداخلی ندارد. روش صفحه داغ و پرش دم به ترتیب اثر ضد دردی با مکانیسم فوق نخاعی و تحت نخاعی را نشان می‌دهند. بنابراین با توجه به عدم اثر عصاره و فراکسیونها در روش پرش دم، احتمالاً مکانیسم اثر ضد دردی این ترکیبات فوق نخاعی می‌باشد (۲۰).

لینالول و کامفردو مونوترپن هستند که درصد بالایی از مواد متشکله گیاه مهرخوش را به خود اختصاص می‌دهند (۲). احتمالاً از مکانیسم‌های اثر گیاه مهرخوش که در جلوگیری از ایجاد تحمل دخالت دارد، مهار اسیدهای آمینه تحریکی و اثر بر سیستم گابارژیک می‌باشد (۸، ۱۵). لینالول موجود در این گیاه سبب افزایش تمایل گابا به اتصال به رسپتور گابا A (۱۵) و سبب کاهش آزاد سازی گلوتامات و باز جذب آن می‌شود و فعالیت گلوتامات را در مطالعات برون تنی (به عنوان آنتاگونیست رقابتی ال- گلوتامات) و مطالعات درون‌تنی (تشنج ناشی از NMDA و Quin را بلوک می کند) تعدیل می‌نماید (۸).

مکانیسم احتمالی دیگر، تأثیر بر سیستم دوپامینرژیک می‌باشد (۲۶). کامفر و پورنئول (مونوترپن‌های موجود در گیاه) سبب مهار ترشح کاتکول آمینها از جمله دوپامین می‌شود که این اثر به دلیل مهار اختصاصی رسپتورهای نیکوتینی استیل کولین می‌باشد. همچنین بورنئول باعث مهار نوراپی‌نفرین القاء شده توسط DMPP (ادا- دی متیل ۱ و ۴ فنی پی پرازینیوم یدید) می‌شود و در نتیجه روی تحمل و وابستگی به مرفین مؤثر است. از طرفی کامفر موجود در گیاه سبب مهار افزایش کلسیم القاء شده توسط DMPP می‌شود. بنابراین احتمالاً یکی از مکانیسم‌های دخیل دیگر، کاهش کلسیم داخل سلولی می‌باشد (۱۹، ۱۸).

در این مطالعه هدف از فراکسیون‌گیری به دست آوردن اجزای مؤثر گیاه مهرخوش با خلوص بالاتر بوده است. آزمایشات فیتوشیمیایی وجود فلاونوئید و ترپنوئید را در فراکسیون آبی ـ متانولی (۳:۲) به اثبات رسانده است. از طرفی مطالعات نشان می‌دهد که فلاونوئیدها روی سیستم اپیوئیدی و تحمل و وابستگی به مرفین اثر داشته و ترپنوئیدها روی گیرنده‌های بنزودیازپینی مؤثر هستند (۱۷). در نتیجه فراکسیون‌های A، B و C حاصل از فراکسیون آبی ـ متانولی (۳:۲) احتمالاً حاوی ترکیباتی نسبتاً قطبی مانند فلاونوئیدها و ترپنوئیدها هستند که سبب تأثیر بر سیستم اپیوئیدی و مهار تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین شده‌اند. البته مواد مؤثره احتمالاً درجاتی از غیر قطبی بودن را دارا می‌باشد، به دلیل این که فراکسیون‌های A و B که توسط سیستم حلال غیرقطبی‌تر از ستون خارج شده‌اند پاسخ بهتری داده‌اند. عدم تاثیر فراکسیونهای کلروفرمی، به دلیل عدم ورود مواد موثره در این فاز و احتمالا لزوم مقداری قابلیت قطبی بودن می باشد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره تام متانولی که به روش سوکسله تهیه شده و فراکسیون‌های گیاه مهرخوش، قادر است از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین جلوگیری کند. به نظر می‌رسد که عصاره تام الکلی و

Archive of SID
www.SID.ir

فراکسیون‌ها با اثر بر گیرنده‌های اپیوئیدی و/یا با مهار فعالیت گلوتامات باعث کاهش ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین می‌شوند. در مجموع چنین استنتاج می‌شود که عصاره تام متانولی و فراکسیون‌های حاصل از گیاه مهرخوش قادرند از ایجاد تحمل نسبت به اثر ضد دردی مرفین پیشگیری کنند.

منابع

۱. آیینه‌چی، یعقوب، مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۶۵، ۳۰۰-۲۹۹.

۲. زرگری، علی، گیاهان دارویی ایران، جلد چهارم، چاپ ششم، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۷۶، ۳-۱.

۳. صدری، حسینعلی، ترکیب‌های شیمیایی موجود در روغن اسانس گونه مهر خوش، پژوهش و سازندگی، ش ۳۱/ت ۷۵، ۱۳۷۵، ۶۱-۵۹.

۴. قهرمان، احمد، کروموفیت های ایران. جلد سوم، مرکز نشر دانشگاهی تهران، تهران، ۱۳۷۳، ۳۹۶.

5. Afify E. A., Daabees T. T., Gabra B. H., Zeit H. M., 2001, Role of nitric oxide in catalepsy and hyperthermia in morphine-dependent rats. Pharmacol. Res., 44, 533-539.
6. Anjaneyulu M., Chopra K., 2003, Quercetin, a bioflavonoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain, Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat., 27:1001-5.
7. Bhargava H. N., Cao Y. J., 1997, Effect of noribogaine on the development of tolerance to antinociceptive action of morphine in mice, Brain Res., 771, 343-346.
8. Brum L. F., Elisabetsky E., Souza D. O., 2001, Effects of linalool on [(3)H]MK801 and [(3)H] muscimol binding in mouse cortical membranes. Phytother. Res., 15, 422-5.
9. Germany A., Villar M., Quijada L., 1990, Contreras E Influence of adenosine analogs on morphine tolerance and dependence in mice, Cell Mol. Biol., 36:409-414.
10. Gonzalez P., Cabello P., Germany A., Norris B., Contreras E., 1997, Decrease of tolerance to, and physical dependence on morphine by, glutamate receptor antagonists, Eur. J. Pharmacol., 332, 257-262.
11. Harrison L. M., Kastin A. J., Zadina J., E., 1998, Opioid tolerance and dependence., Peptids, 19, 1603-1630.
12. Hosseinzadeh H., Lari P., 2000, Effect of *Salvia leriifolia* extract on morphine dependence in mice, Phytother. Res. , 14: 384-387.
13. Hosseinzadeh H., ourbakhsh M., 2003, Effect of *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts extract on morphine withdrawal syndrome in mice, Phytother. Res., 17, 938-941.
14. Hosseinzadeh H., Ramezani M., Fadishei M., Mahmoudi M., 2002, Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *zhumeria majdae* extracts in mice and rats, Phytomedicine, 9, 135-141.
15. Julfikar H. S., Koutaro H., 2002, Effects of tea components on the response of $GABA_A$ receptors expressed in Xenopus Oocytes, J. Agric. Food Chem., 50, 3954-3960.
16. Kihara T., Inoue M., Kaneto H., 1989, Adrenergic function and the development of analgesic tolerance to morphine, Jpn. J. Pharmacol., 50:397-401.
17. Lee C. M., Wong H. N., Chui K. Y., Coang T. F., Hon P. M., Chang H. M., 1991, Miltrione, a central benzodiazepine receptor partial agonist from a chinese medicinal herbs *Salvia militorrhiza*, Neurosci. Lett., 127, 241-273.
18. Park T. J., Seo H. K., Kang B. J., Kim K. T., 2001, Noncompetitive inhibition by camphor of nicotinic acetylcholine receptors. Biochem. Phramacol., 61, 787-93.
19. Park T.J., Park Y.S., Lee T.G., Ha H., Kim, K.T., 2003, Inhibition of acetylcholine–mediated effects by borneol, Biochem. Pharmacol., 65, 83-90.
20. Parkhouse J., Pleuvry B. J., Analgesic Drug, Black Well, Oxford, 1979, 1-5.
21. Rahman A. F., Takahashi M., Kaneto H., 1995, Role of GABAergic systems in the development of morphine tolerance in formalin-treated mice, Jpn. J. Pharmacol., 68:207-211.
22. Smith F. L., Dombrowski D. S., Dewey W. L., 1999, Involvement of intracellular calcium in morphine tolerance in mice, Pharmacol. Biochem. Behav., 62:381-388.
23. Tejwani G. A., Rattan A. K., Sribanditmongkol P., Sheu M. J., Zuniga J., McDonald J. S., 1993, Inhibition of morphine-induced tolerance and dependence by a benzodiazepine receptor agonist midazolam in the rat, Anesth. Analg., 76:1052-1060.
24. Trease G. E., Evans W. C., Pharmacognosy, Bailliere Tindall Press, London, 1983, 309-706.
25. Vaccarino A. L., Olson G. A., Olson R. D., Kastin A. J., 1999, Endogenous opiates, Peptides., 20, 1527-1574.
26. Zarrindast M. R., Dinkoub Z., Homayoun H., Bakhtiarian A., Khavandgar S., 2002, Dopamine receptor mechanism(s) and morphine tolerance in mice, J. Psychopharmacol., 16: 261-266.
27. Zhu H., Barr G. A., 2001, Inhibition of morphine withdrawal by the NMDA receptor antagonist MK-801 in rat is age-dependent, Synapse, 40: 282-293.

Archive of SID

www.SID.ir