

بررسی اثر ضد صرع کونزوگه حاصل از اتصال کووالانسی فنی توئین و والپروئیک اسید در موش سوری

†

**

*

†

††

چکیده:

زمینه و هدف: اساس کنترل صرع امروزه دارو درمانی است و در این ارتباط داروهای زیادی ساخته شده اند که هر یک دارای عوارض جانبی بعضاً شدید می باشند. افزایش چربی دوستی داروهای ضد صرع باعث افزایش نفوذپذیری آنها به مغز و اثر بخشی بهتر آنها می گردد. در این مطالعه اثرات ضد صرع و سداتیو داروی سنتز شده که کونزوگه فنی توئین و والپروئیک اسید می باشد مورد بررسی قرار گرفت. **روش مطالعه:** اثرات دوزهای مختلف فنی توئین، والپروئیک اسید و کمپلکس فنی توئین - والپروئیک اسید بر حملات ایجاد شده در مدل MES (Maximum Electroshock) و کاینیک اسید مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی اثرات سداتیو این دارو از دستگاه اندازه گیری حرکت استفاده شد. **نتایج:** در مدل صرع کاینیک اسید، فنی توئین به تنهایی یا کونزوگه فنی توئین - والپروئیک اسید تاثیری بر حملات صرعی نداشته در حالی که والپروئیک اسید به تنهایی به طور معنی داری بروز اینگونه حملات صرعی را کاهش داد. هیچکدام از داروهای مورد بررسی قرار گرفته تغییر معنی داری در میزان حرکت حیوانات در مقایسه با کنترل ایجاد نکردند. ED₅₀ محاسبه شده برای فنی توئین، والپروئیک اسید و کمپلکس فنی توئین - والپروئیک اسید به ترتیب معادل ۱۵/۲ mg/kg، ۲۹۳/۸ mg/kg و ۱۳/۵ mg/kg بود. **نتیجه گیری:** در بررسی نتایج حاصل از آزمایشات انجام شده بر روی داروی کونزوگه و مقایسه آن با فنی توئین و والپروئیک اسید به نظر می رسد که داروی کونزوگه از لحاظ اثر بخشی تفاوت قابل توجه ای با داروی فنی توئین نداشت، یکی از علل آن می تواند شکسته شدن پیوند استری در این ترکیب و تبدیل آن به فنی توئین و والپروئیک اسید توسط استرازاها در بدن باشد.

واژه های کلیدی: صرع، کاینیک اسید، کونزوگه فنی توئین، والپروئیک اسید، MES.

مقدمه:

الکتریکی غیر طبیعی مغز ایجاد شده و با تغییرات مزمن، عود کننده و ناگهانی عملکرد عصبی مشخص

صرع (epilepsy) یکی از شایع ترین اختلالات سیستم عصبی مرکزی (CNS) است که به علت فعالیت

*استادیار گروه فارماکولوژی-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان: دانشکده داروسازی و علوم دارویی-گروه فارماکولوژی-تلفن: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۶۴۶

(مؤلف مسئول). **استادیار گروه فارماکولوژی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

***استادیار گروه شیمی دارویی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

††† استادیار گروه شیمی دارویی - دانشگاه علوم پزشکی کرمان.

بیمار و مسئله همکاری بیمار در مصرف دارو مزیت دیگری برای چنین ترکیبی خواهد بود. در این مطالعه اثرات ضد صرع این ترکیب در مدل های حیوانی صرع مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها:

مواد مصرفی:

فنی توئین سدیم و والپروئات سدیم از سیگما (آمریکا) کاینیک اسید و توئین ۲۰ از مرک (آلمان) و دیازپام از داروسازی سبحان (ایران) خریداری شدند. فنی توئین سدیم، والپروئات سدیم و دیازپام در نرمال سالیین حل شدند. داروی کونزوگه فنی توئین - سدیم والپروئات در نرمال سالیین ریخته شدند و با حرارت دادن و به هم زدن حل گردیدند. کلیه تزریقات به صورت داخل صفاقی بوده و حجم تزریقی حداکثر برابر با ۱۰ ml/kg وزن موش بوده است.

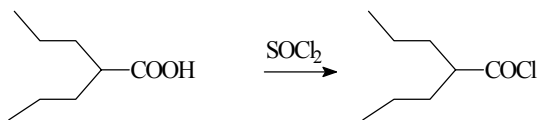
تهیه کونزوگه فنی توئین - والپروئیک اسید:

کمپلکس فنی توئین - والپروئیک اسید در طی سه مرحله به شرح زیر ساخته شد. ابتدا سدیم والپروات به کمک اسید کلریدریک غلیظ (pH=۱) به اسید والپروئیک تبدیل شد که به صورت لایه روغنی روی سطح فاز آبی قرار گرفت. این لایه روغنی به کمک یک قیف جدا کننده جدا شده و فاز آبی دو بار هر بار با ۲۰ میلی لیتر اتر دوپترول شستشو داده می شد و حاصل شستشو به والپروئیک اسید جدا شده افزوده گردید و با استفاده از سولفات سدیم خشک از این مجموعه آبگیری شده و با تبخیر اتر دوپترول به وسیله دستگاه روتاری والپروئیک اسید خالص گردید. والپروئیک اسید خالص شده دارای خصوصیات زیر بود:

می گردد (۷،۴). تظاهرات عصبی حملات صرع متنوع بوده و از یک حواس پرتی کوتاه مدت تا از دست رفتن هوشیاری به مدت طولانی همراه با فعالیت حرکتی غیر طبیعی بروز می نماید. با توجه به علائم و تظاهرات بالینی و همچنین الگوی الکتروانسفالوگرافیک انواع مختلف صرع را دسته بندی می نمایند (۱۱). امروزه صرع دومین اختلال شایع نورولوژیک بعد از سکته مغزی است. میزان گزارش موارد جدید در سال بیش از ۱۰۰ هزار مورد است (۹). علل ایجاد صرع بسیار متنوع بوده و از هیپوکسی و ایسکمی پاراناتال تا نارسایی کبد و اختلالات الکترولیتی و الکلیسم را شامل می شود (۳). اساس کنترل صرع امروزه دارو درمانی می باشد که داروهای متعددی در این زمینه مورد استفاده قرار می گیرند که فنی توئین، کاربامازپین، فنوباریتال و والپروئیک اسید از جمله این داروها هستند (۱۳). اکثر داروهای ضد صرع مورد استفاده عوارض جانبی گاهاً شدید در بیماران مصرف کننده ایجاد می نمایند که در مورد فنی توئین می توان به اختلالات خونی، هیرسوتیسم و هیپرپلازی لثه و در مورد والپروئیک اسید به سمیت کبدی ایدیوسنکراتیک و افزایش وزن اشاره کرد (۱۰). مطالعات نشان داده است که افزایش چربی دوستی داروهای ضد صرع می تواند نفوذ پذیری این گونه داروها را به مغز افزایش و در نتیجه اثر بخشی آنها را بهبود و از عوارض جانبی آنها بکاهد (۶).

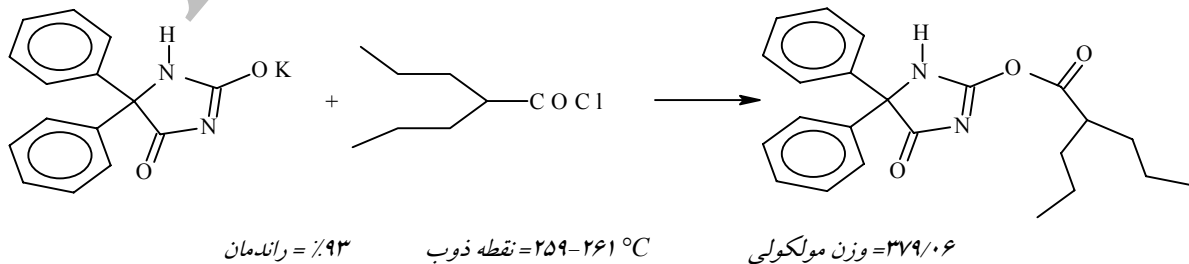
در این مطالعه ترکیب دارویی جدید که از اتصال کووالانسی والپروئیک اسید با فنی توئین تشکیل گردیده است و اثرات ضد صرع آن به منظور دستیابی به ترکیبی با اثر بخشی بهتر و عوارض گوارشی کمتر مورد بررسی قرار گردید. داشتن دو داروی ضد صرع در یک فرمولاسیون از نظر سهولت مصرف برای

که والپروئیل کلراید است جمع آوری و بلافاصله در واکنش بعدی مورد استفاده قرار گرفت. والپروئیل کلراید به دست آمده دارای خصوصیات زیر بود.



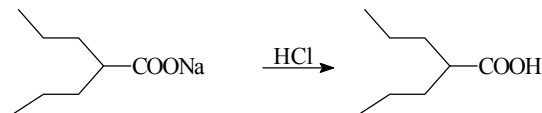
$D_{25}^{\circ}C = 0.973$ (وزن مولکولی) = ۱۶۳/۲ $\rho = 0.70$ راندمان

در مرحله نهایی برای تهیه کمپلکس فنی توئین و والپروئیک اسید، به محلول فنی توئین پتاسیم دی متیل فرماید (DMF) خشک و ۳ میلی لیتر والپروئیل کلراید اضافه گردید. مجموعه در دمای آزمایشگاه به مدت ۳ دقیقه مخلوط شد، سپس حلال DMF به وسیله دستگاه روتاری به حداقل رسیده و با افزودن ۵ میلی لیتر آب به مجموعه رسوب سفید رنگی به دست آمد. این رسوب پس از صاف کردن به وسیله قیف بوخنر دوباره با آب هر بار ۵۰ میلی لیتر) و سپس یک بار با محلول سود یک نرمال (۵۰ میلی لیتر) و نهایتاً با آب شستشو شد. آنگاه در دمای ۶۰°C خشک می شود. محصول نهایی که کونژوگه فنی توئین و والپروئیک اسید می باشد دارای خصوصیات زیر بود:



(M+H)⁺ 378.

V_{max} 3350-3170 (N-H), 3100-3000 (C-H, Ar), 2980-2850 (C-H), 1775 (C=O), 1720 (C=N) cm^{-1} , δH (80MHz, DMSO-d₆), 9.2(1s, N-H), 7.4(10H, m, ph-H), 2.5(1H, m, CH), 1.4 (8H, m, CH₂-CH₂), 0.9 (6H, m, CH₃).



$d_{25}^{\circ}C = 0.961g/ml$ $\rho = 0.98$ راندمان δH (80 MHz; DMSO-d₆), 11.9 (1H, s, COOH), 2.4 (1H, t, CH-COOH), 1.5 (8H, m, CH₂-CH₂), 0.9 (6H, m, CH₃).

موارد فوق مربوط به طیف ¹H-NMR والپروئیک اسید می باشد که بیانگر وجود یک هیدروژن تک شاخه متعلق به گروه COOH (11.9PPM)، یک هیدروژن چهار شاخه متعلق به CH-COOH (2.4 PPM)، هشت هیدروژن چند شاخه متعلق به دو گروه متیل (0.9 PPM) - CH₃ می باشد.

در مرحله بعد والپروئیک اسید به والپروئیل کلراید تبدیل گردید. برای این کار تیونیل کلراید تازه تقطیر شده در یک فلاسک دو دهانه که از یک دهانه به مبرد و از دهانه دیگر به یک قیف چکاننده متصل است ریخته شد. فلاسک به وسیله یک حمام آبی تا جوشیدن تیونیل کلراید حرارت داده شد و پس از آن والپروئیک اسید قطره قطره از قیف چکاننده طی ۳۰-۴۰ دقیقه به آن اضافه گردید. پس از اتمام افزودن اسید، رفلاکس برای مدت ۳۰ دقیقه دیگر ادامه یافت. آنگاه سیستم به یک دستگاه تقطیر ساده تبدیل شد و جزء تقطیر شده در دمای ۱۷۶-۱۷۴°C

روش (MES) maximal electroshock

در این روش برای ایجاد حملات صرع از جریان الکتریسته استفاده شد، بدین صورت که پس از مرطوب کردن الکترودها آنها را به گوش حیوان متصل کرده و جریان الکتریکی ثابتی به حیوان منتقل گردید (۱۲). در بررسی مقدماتی مدت زمان و شدت جریان و فرکانس لازم به طوری که بتواند حداقل در ۹۰ درصد حیوانات ایجاد حملات مشابه صرع بنماید تعیین گردید. زمان ۰/۲ ثانیه، جریان الکتریکی معادل ۵۰ میلی آمپر و فرکانس ۵۰ هرتز برای مراحل بعدی آزمایش استفاده شد. در این مدل حالت کشیدگی پشت ساق پا (tonic hindlimbic extension) به عنوان تائید ایجاد حملات صرعی در نظر گرفته شد که پس از ۳۰-۲۰ ثانیه حیوان به سرعت به حالت عادی بر می گشت.

دوزهای مختلف فنی توئین دوزهای تزریق گردیدند. در خصوص دوزهای داروی کونزوگه فنی توئین والپروئیک اسید با توجه به اینکه نسبت مولی فنی توئین و والپروئیک اسید در کونزوگه مذکور یک به یک می باشد. دوزی از کونزوگه استفاده گردید که حاوی ۱۰،۱۵،۲۰،۲۵،۳۰ mg/kg فنی توئین (معادل با ۷،۱۰،۱۳،۱۷،۲۰ mg/kg والپروئیک اسید) بود. ۲۰ دقیقه (در مورد فنی توئین ۲ ساعت) پس از تزریق دوزهای مختلف داروها، هر یک از حیوانات توسط دستگاه الکتروشوک، شوک الکتریکی داده شدند. همچنین مخلوط فنی توئین و والپروئیک سدید با دوز مشابه با آنچه در کونزوگه فنی توئین - والپروئیک اسید بود تزریق و سپس بروز حملات صرعی بررسی گردید و درصد محافظت در برابر ایجاد حملات صرعی محاسبه شد. از نرمال سالیکن به عنوان کنترل استفاده شد.

موارد فوق مربوط به طیف IR کونزوگه فنی توئین و والپروئیک اسید می باشد که حضور یک باند کششی متعلق به N-H (در ناحیه $3350-3170 \text{ cm}^{-1}$)، یک باند کششی متعلق به C-H حلقه آروماتیک (در ناحیه $3100-3000 \text{ cm}^{-1}$)، یک باند کششی C-H متعلق به شاخه آلیفاتیک (در ناحیه $2980-2850 \text{ cm}^{-1}$)، یک باند کششی C=O (1775 cm^{-1}) و یک باند کششی C=N (1720 cm^{-1}) را نشان می دهد.

طیف $^1\text{H}=\text{NMR}$ نمونه فوق مربوط به یک هیدروژن تک شاخه متصل به ازت (N-H) (9.2 PPM)، ۱۰ هیدروژن چند شاخه مربوط به حلقه های فیل آروماتیک (7.4 PPM)، یک هیدروژن چند شاخه مربوط به C-H (2.5 PPM)، هشت هیدروژن چند شاخه مربوط به دو گروه $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (1.4 PPM) و شش هیدروژن چند شاخه مربوط به دو گروه متیل (0.9PPM) CH_3 می باشد.

حیوان:

موش های سوری نر از نژاد Balb/C با محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات انستیتو پاستور ایران خریداری و مورد استفاده قرار گرفتند. این حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی در دمای 25 ± 2 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. غذای این حیوانات پلت های آماده بود و در زمان نگهداری دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. به منظور جلوگیری از تاثیر ریتم شبانه روزی حیوانات، کلیه آزمایش ها در زمان روشنایی، بین ساعات ۸ صبح الی ۱ بعد از ظهر انجام گرفتند. حیوانات یک روز قبل از شروع آزمایش به آزمایشگاه منتقل می شدند تا با شرایط آزمایشگاه خو بگیرند. هر موش سوری تنها یکبار مورد استفاده قرار گرفت. تعداد حیوانات در هر گروه برابر ۵ بود.

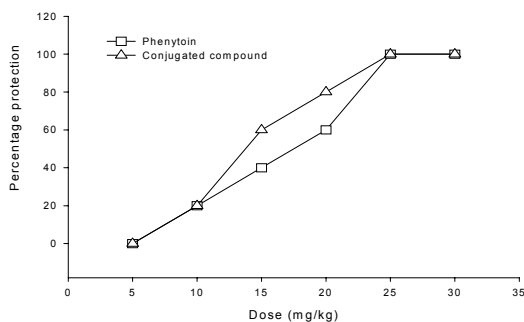
ایجاد صرع با کاینیک اسید:

از تزریق هر دارو موش ها به صورت انفرادی در جعبه اندازه گیری حرکت قرار گرفتند و برای مدت ۲۵-۳۵ دقیقه هر ۵ دقیقه یکبار میزان حرکات آنها اندازه گیری شد. گروه های مورد مطالعه در این آزمایش مشابه مدل MES بودند. از دیازپام ۲/۵mg/kg به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری:

از روش Litchfield & Wilcoxon جهت تعیین ED₅₀ استفاده شد. داده ها به صورت میانگین ±خطای معیار بیان شده و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون Tukey تجزیه و تحلیل شدند. حد معنی دار بودن اختلافات $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

Fig. 1



نمودار شماره ۱: اثر محافظتی فنی توئین و کونژوگه فنی توئین-والپروئیک اسید بر روی صرع ایجاد شده در مدل Maximal electroshock در موش سوری.

دوزهای مختلف فنی توئین و ترکیب کونژوگه فنی توئین - والپروئیک اسید به صورت داخل صفاقی تزریق و دو ساعت پس از تزریق، هر یک از موشها به مدت ۲/ ثانیه و با ولتاژ ۵۰ میلی آمپر و فرکانس ۵۰ هرتز همانطور که در قسمت روش کار عنوان گردید شوک الکتریکی داده شدند. نتایج به صورت درصد محافظت از ایجاد صرع برای هر دوز و با استفاده از ۵ موش سوری گزارش شده اند.

در این روش برای ایجاد صرع از کاینیک اسید استفاده شد. بررسی مقدماتی نشان داد که حملات صرعی حدود ۲۰ دقیقه پس از تزریق داخل صفاقی کاینیک اسید (۱۵mg/kg) ایجاد می شوند. در این مدل ابتدا حیوان تعادل خود را از دست داده و پس از افتادن به پشت بر روی زمین دست ها و پاهای خود را به شدت تکان داده در حالی که دم حیوان در راستای بدن کشیده می شد. پس از ۶۰-۹۰ ثانیه حیوان به حالت عادی بر می گشت گروه های مورد مطالعه مشابه با مدل MES بودند.

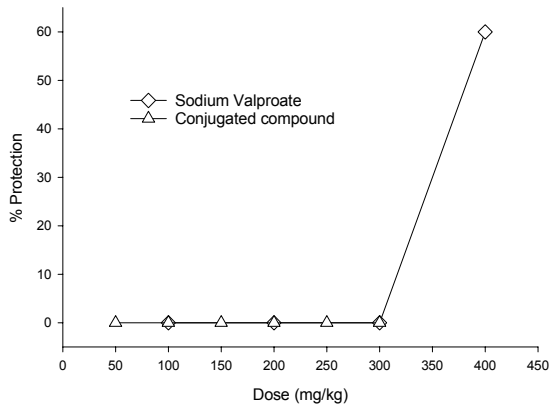
اندازه گیری میزان حرکت (Locomotor Activity Measurement):

در این آزمایش از دستگاهی که در دانشکده داروسازی اصفهان طراحی گردیده بود استفاده شد. این دستگاه دو پارامتر تعداد حرکات و مدت زمان حرکت را اندازه گیری می نماید. دستگاه مورد نظر شامل قسمت های زیر بود:

- محفظه مستطیل شکل از جنس مقوا به ابعاد ۴۰×۳۰×۳۰cm که در طی آزمایش موش در درون آن قرار می گرفت.
- لامپی که امواج مادون قرمز ساطع می کند.
- ماشین حساب جهت تعداد دفعاتی که حیوان حرکت می کند.
- ساعت جهت ثبت مدت زمانی که حیوان حرکت می کند.

پس از قرار دادن حیوان در محفظه بسته، با حرکت کردن حیوان و شکسته شدن امواج مادون قرمز سیگنال مورد نظر به ماشین حساب و ساعت رسیده و تعداد دفعات و مدت زمان حرکت ثبت گردید. برای محاسبه میزان حرکت مدت زمان حرکت در تعداد حرکت برای هر حیوان ضرب گردید. در این آزمایش ها ۳۰ دقیقه پس

Fig. 3



نمودار شماره ۳: اثر محافظتی والپروئات سدیم و کونژوگه فنی توئین - والپروئیک اسید بر روی صرع ایجاد شده با کاینیک اسید.

دوزهای مختلف والپروئات سدیم و داروی کونژوگه فنی توئین - والپروئیک اسید به صورت داخل صفاقی تزریق و دوساعت پس از تزریق، هر یک از موش ها کاینیک اسید (15 mg/kg) را به صورت داخل صفاقی دریافت و همانطور که در قسمت روش کار اشاره گردید تعداد حملات صرع صبت گردید. نتایج به صورت درصد محافظت از ایجاد صرع برای هر دوز و با استفاده از 5 موش سوری گزارش شده اند.

اثرات فنی توئین والپروئات سدیم و کمپلکس فنی توئین - والپروئیک اسید بر حملات صرعی ایجاد شده توسط کاینیک اسید:

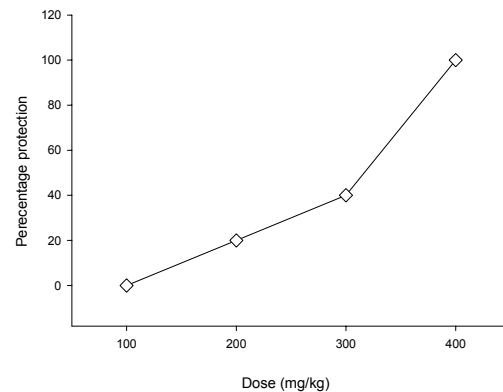
۲۰ دقیقه یا ۲ ساعت پس از تزریق دوزهای مختلف داروهای مورد نظر، کاینیک اسید به صورت داخل صفاقی تزریق و متعاقب آن حملات صرعی ایجاد شده ثبت گردیدند (نمودار شماره ۳). در این مدل تشنج فنی توئین به تنهایی یا کونژوگه فنی توئین - والپروئیک اسید تأثیری بر حملات صرعی نداشتند در حالی که والپروئات سدیم به طور معنی داری بروز این گونه حملات صرعی را کاهش داد ($P < 0.05$) (نمودار شماره ۳).

نتایج:

اثرات فنی توئین، والپروئات سدیم و کمپلکس فنی توئین - والپروئیک اسید بر حملات صرعی ایجاد شده در مدل MES:

۲۰ دقیقه یا ۲ ساعت پس از تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف داروهای مورد نظر شوک الکتریکی به حیوان داده شده و حملات صرعی ایجاد شده بررسی گردید. درصد محافظت در برابر ایجاد حملات صرعی برای دوزهای مختلف داروها در نمودارهای شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. ED_{50} محاسبه شده برای فنی توئین والپروئات سدیم و کمپلکس فنی توئین - والپروئیک اسید به ترتیب معادل 15/2 mg/kg، 293/8 mg/kg و 13/5 mg/kg بود. نرمال سالیین هیچگونه اثری بر ایجاد حملات صرعی ایجاد شده با MES نشان نداد.

Fig. 2



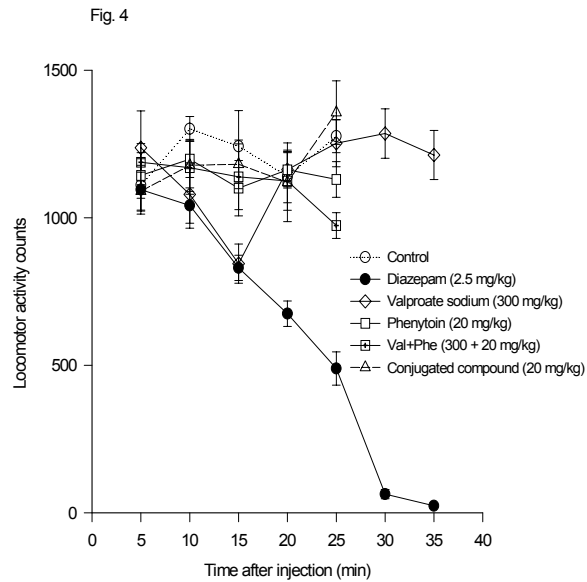
نمودار شماره ۲: اثر محافظتی والپروئات سدیم بر روی صرع ایجاد شده در مدل Maximal electroshock در موش سوری.

دوزهای مختلف والپروئات سدیم به صورت داخل صفاقی تزریق و دو ساعت پس از تزریق، هر یک از موشها به مدت ۲ ثانیه و با ولتاژ ۵۰ میلی آمپر و فرکانس ۵۰ هرتز همانطور که در قسمت روش کار عنوان گردید شوک الکتریکی داده شدند. نتایج به صورت درصد محافظت از ایجاد صرع برای هر دوز و با استفاده از 5 موش سوری گزارش شده اند.

دوز ۲mg/kg به طور معنی دار باعث کاهش تحرک حیوانات مورد مطالعه گردید (نمودار شماره ۴). بیشترین آثار رکود تحرک با تزریق دیازپام در دقایق آخر اندازه گیری (حدوداً یک ساعت پس از تزریق دیازپام) مشاهده شد.

بحث:

در این مطالعه اثرات ضد صرع کونژوگه فنی توئین و والپروئیک اسید که توسط پیوند کووالانسی به یکدیگر متصل شده اند بررسی و با اثرات جداگانه فنی توئین و والپروئات سدیم مقایسه گردید. تحقیقات انجام گرفته در این ارتباط مؤید آن است که در بسیاری از موارد مصرف توام داروهای ضد صرع می تواند اثر بخشی آنها را به شکل قابل ملاحظه ای افزایش دهد (۱). علاوه بر افزایش اثر بخشی، مصرف توام داروهای ضد صرع می تواند از بروز مقاومت به یک دارو جلوگیری یا عوارض جانبی آن را بکاهد و به همین دلیل امروزه در مواردی که مقاومت نسبت به یک داروی ضد صرع مشاهده شود به ناچار از درمان توام با دو دارو کمک گرفته می شود (۲). یکی از مشکلات فنی توئین جذب ناقص و یا نامرتب آن می باشد که به منظور غلبه بر این مشکل پیش داروهای فنی توئین - لیبید و فنی توئین - ۳-هیدروکسی متیل استر تهیه گردیده اند که ترکیباتی با لیوفیلیته بیشتر بوده و جذب متناسب تری از خود نشان داده اند (۵). لذا با توجه به موارد مذکور این انتظار وجود داشت که استر حاصل از دو داروی فنی توئین و والپروئات سدیم بتواند با خصوصیت چربی دوستی بیشتر و نفوذپذیری بهتر به CNS اثرات ضد صرعی مناسب تر و کارآیی بهتری نسبت به فنی توئین و والپروئات سدیم به صورت جداگانه داشته باشد. پیوند استری بین دو داروی مذکور، قابلیت یونیزه شدن آنها را (که عموماً با یک دارو رخ می دهد) کم کرده در نتیجه نفوذپذیری آنها را به



نمودار شماره ۴. اثر داروهای مختلف بر میزان حرکت

در موش سوری.

دیازپام، والپروئات سدیم، فنی توئین - واپروئیک اسید و مخلوط دو داروی فنی توئین و والپروئات سدیم به صورت داخل صفاقی تزریق و دو ساعت پس از تزریق، هر یک از موشها به مدت ۲۵ الی ۳۵ دقیقه در جعبه مخصوص اندازه گیری حرکت قرار گرفته و میزان حرکات آنها همانطور که در قسمت روش کار توضیح داده شد هر دقیقه یکبار اندازه گیری شد. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار برای ۵ موش گزارش شده است.

اثرات فنی توئین، والپروئات سدیم و کمپلکس

فنی توئین - والپروئیک اسید بر میزان تحرک

تأثیر داروهای مختلف بر روی میزان تحرک برای مدت ۳۵-۲۵ دقیقه هر ۵ دقیقه یکبار اندازه گیری شد. تست اندازه گیری تحرک ۳۰ دقیقه پس از تزریق داروها انجام گرفت. هیچکدام از داروهای مورد بررسی فنی توئین - والپروئات سدیم و کمپلکس فنی توئین - والپروئیک اسید تغییر معنی داری در میزان تحرک حیوانات در مقایسه با کنترل ایجاد نکردند (نمودار شماره ۴). در این آزمایشات تزریق دیازپام در

CNS بیشتر می کند.

برای بررسی اثرات ضد صرع این کونزوگه از ۲ مدل حیوانی صرع استفاده شد. نتایج حاصل از آزمایش MES نشان داد که در این مدل که یک مدل از نوع صرع گراند مال می باشد سه داروی فنی توئین، والپروئات سدیم و کونزوگه فنی توئین - والپروئیک اسید با ED₅₀ متفاوت در جلوگیری از ایجاد صرع مؤثر می باشند. در محاسبات به عمل آمده مشخص شد که تفاوت معنی داری بین ED₅₀ فنی توئین و داروی کونزوگه وجود ندارد. اما ED₅₀ داروی کونزوگه از والپروئات سدیم متفاوت بود. از آنجا که دوز استفاده شده برای داروی کونزوگه در این آزمایشات بر اساس دوز مؤثره فنی توئین محاسبه گردید در داروی کونزوگه مقدار والپروئیک اسید بسیار ناچیز می باشد و احتمالاً به حدی نمی رسد که بتواند دارای اثر ضد صرع مناسب باشد از طرف دیگر به دلیل آنکه میزان فنی توئین موجود در کونزوگه در حد دوز مؤثره درمانی آن می باشد این احتمال وجود دارد که فنی توئین به تنهایی توانسته باشد این اثر ضد صرع را از خود نشان داده و والپروئیک اسید بی تاثیر باشد. در مدل دیگر صرع که از کاینیک اسید استفاده شد فنی توئین در دوزهای بالینی قادر به جلوگیری از تشنج ایجاد شده نشد اما والپروئات سدیم در دوزهای بالاتر از دوز درمانی (2mg/kg >300) در جلوگیری از ایجاد این نوع تشنج مؤثر بود. بی تاثیر بودن داروی کونزوگه بر روی صرع ایجاد شده توسط کاینیک اسید می تواند از یک طرف به علت پایین بودن میزان والپروئیک اسید در این مجموعه و از طرف دیگر غیر مؤثر بودن فنی توئین در این نوع صرع باشد. نتایج حاصل از اندازه گیری میزان حرکت حیوانات

پس از تزریق داروهای مختلف نشان داد که تنها دیازپام که یک داروی ضد اضطراب و دارای اثر سداتیو می باشد به صورت معنی داری میزان حرکت را کاهش داد و تفاوت معنی داری بین داروی کونزوگه با فنی توئین یا والپروئات سدیم مشاهده نشد. تحقیقات انجام شده نیز نشان داده اند که فنی توئین و والپروئات سدیم داروهایی با خاصیت سداتیو بسیار پایین می باشند (۸) و طبعاً داروی کونزوگه نباید دارای آثار سداتیو شدید باشد. در مجموع نتایج به دست آمده از آزمایش های مختلف نشان داد که اثرات ضد صرعی ترکیب کونزوگه مشابهت زیادی با آثار ضد صرع فنی توئین داشته که یکی از علل آن می تواند هیدرولیز استر در ترکیب کونزوگه و تبدیل آن به فنی توئین و والپروئیک اسید باشد که در این صورت میزان والپروئات سدیم آزاد شده بسیار ناچیز خواهد بود. همانطور که قبلاً اشاره شد این داروی ترکیبی یک استر می باشد و می تواند در بدن توسط آنزیم های استراز شکسته شده و تبدیل به والپروئیک اسید و فنی توئین گردد ولی این امکان نیز وجود دارد که حداقل قسمتی از دارو به صورت تجزیه نشده به مغز رسیده و با اتصال به محل اثر خود اثرات ضد صرع مطلوب تری در مقایسه با اثر تک تک این داروها داشته باشد که برای اطمینان از این مسئله انجام آزمایشات کینتیکی ضروری است.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش با حمایت حوزه معاونت پژوهشی دانشگاهی علوم پزشکی اصفهان انجام گرفته است که بدینوسیله از مسئولین مربوطه تشکر و قدردانی می گردد.

References

1. Czuczwar SJ.; Borowicz KK. Polytherapy in epilepsy: the experimental evidence. *Epilepsy Res*, 52: 15-23, 2002.

2. Deckers CL.; Czuczwar SJ.; Hekster YA.; Keyser A.; et al. Selection of antiepileptic drug polytherapy based on mechanisms of action: the evidence reviewed. *Epilepsia*, 41: 1364-74, 2000.
3. Delanty N.; Vaughan CJ.; French JA. Medical causes of seizures. *Lancet*, 352: 383-90, 1998.
4. Ettinger AB. Structural causes of epilepsy, tumors, cysts, stroke and vascular malformations. *Neurol Clin*, 12: 41-56, 1994.
5. Gerhard KE.; Didier ML. Anticonvulsant activity of phenytoin-lipid conjugates, a new class of phenytoin produrgs. *J Pharm Pharmacol*, 47: 193-203, 1994.
6. Gidal BE. Pharmacokinetics of the new antiepileptic drugs. *Am J Managed Care*, 7: 215-20, 2001.
7. Iasemidis LD. Epileptic seizure prediction and control. *IEEE Trans Biomed Eng*, 50: 549-58, 2003.
8. McNamara JO. Drugs effective in the therapy of the epilepsies. In: Hardman JG.; Limbird LE.; Goodman Gilman A. *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics: From McGraw Hill Company. NewYork: USA, 10th ed. 521-48, 2001.*
9. Kotsopoulos IA.; Van Merode T.; Kessels FG.; De Krom MC.; et al. Systematic review and meta-analysis of incidence studies of epilepsy and unprovoked seizures. *Epilepsia*, 43: 1402-9, 2002.
10. Rogvi-Hansen B.; Gram L. Advers effects of established and new antiepileptic drugs: an attempted comparison. *Pharmacol Ther*, 68: 425-34, 1995.
11. Sirven JI. Classifying seizures and epilepsy: a synopsis. *Semin Neurol*, 22: 237-46, 2002.
12. Swinyard EA.; Kupferberg HJ. Antiepileptic drugs: detection, quantification and evaluation. *Fed Proc*, 44: 2629-33, 1985.
13. Wheless JW.; Venkataraman V. New formulations of drugs in epilepsy. *Expert Opin Pharmacother*, 1: 49-60, 1999.