

نقش گیرنده های اوپیوئیدی در خاصیت ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (*Scrophularia striata* Boiss.) در موش سوری

بنیامین علی محمدی^۱، علیرضا مسلم^۲، حسن اژدری زرمهری^{۳*}، هومن کامرانیان^۴

^۱ کارشناس پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

^۲ استادیار بیهوشی، گروه اعصاب، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، ایران.

^۳ دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

^۴ استادیار گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، ایران.

*نشانی نویسنده مسئول: حسن اژدری زرمهری، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

E-mail: hasan.azhdari@gmail.com

وصول: ۹۴/۵/۴، اصلاح: ۹۴/۷/۲۷، پذیرش: ۹۴/۸/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از گیاهان دارویی در حال حاضر به دلیل عوارض کمتر ذهن بسیاری از محققان را به خود معطوف کرده است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر داروی نالوکسان به عنوان یک آنتاگونیست اوپیوئیدی بر طول مدت تشنج ناشی از تزریق پنتیلن ترازول و تعیین مکانیسم اثر ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه می باشد.

مواد و روش ها: در مطالعه حاضر، ۴۰ موش سوری نر به صورت تصادفی ساده به ۵ گروه هشت تایی تقسیم شدند؛ گروه کنترل (دریافت کننده PTZ 80 mg/kg)، دو گروه درمان (دریافت کننده عصاره با دوزهای 600 mg/kg و 900 mg/kg) و دو گروه آزمایشی (دریافت کننده عصاره با دوزهای 600 mg/kg و 900 mg/kg) به همراه نالوکسان 5 mg/kg (تزریق نالوکسان ۵ دقیقه قبل از تزریق عصاره به صورت داخل صفاقی صورت گرفت). با تزریق PTZ (۳۰ دقیقه بعد از تزریق عصاره)، رفتارهای تشنجی حیوانات در طی ۲۰ دقیقه توسط دوربین فیلمبرداری شد و مراحل مختلف تشنج مورد ارزیابی قرار گرفت. داده های آماری با استفاده از آزمون های آنالیز واریانس یک طرفه و Tukey با استفاده از نرم افزار SPSS16 تجزیه و تحلیل شد. معیار معنی دار بودن اختلاف میانگین ها $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها: آنالیز آماری داده ها نشان داد تزریق نالوکسان به همراه عصاره زمان تاخیری تا شروع تشنج تونیک و کلونیک را کاهش داد که در مقایسه با کنترل معنی دار نبود. زمان تاخیری تشنج تونیک-کلونیک با تزریق عصاره و عصاره به همراه نالوکسان نیز افزایش یافت. با تزریق عصاره به تنهایی مدت زمان کل تشنج کاهش یافت اما با تزریق عصاره همراه با نالوکسان مدت زمان کل تشنج افزایش یافت که این افزایش در دوز 600 mg/kg در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود ($P < 0.01$). داده ها نشان داد تزریق عصاره به تنهایی و همراه با نالوکسان باعث افزایش مدت زمان باقی ماندن در تشنج تونیک شد و مدت زمان باقی ماندن حیوان در تشنج تونیک-کلونیک با تزریق عصاره افزایش یافت اما با تزریق نالوکسان قبل از عصاره به حیوان، مدت زمان باقی ماندن حیوان در این مرحله نسبت به گروه دریافت کننده عصاره کاهش یافت.

نتیجه گیری: نتیجه حاصل از این پژوهش نشان داد نالوکسان می تواند به عنوان یک آنتاگونیست اثر ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی مخلصه را مهار کند.

واژه های کلیدی: نالوکسان، گیاه مخلصه، خاصیت ضد تشنجی، موش سوری

مقدمه

بیماری صرع یکی از جدی ترین اختلال های عصبی است، صرع عبارت است از اختلال متناوب و ناگهانی سیستم عصبی، ناشی از تخلیه نا به هنگام هم زمان تعدادی از نورونهای مغز که این تخلیه به احساس خود به خودی اختلال حسی، از بین رفتن هوشیاری، حرکات تشنجی یا مجموعه ای از این حالات منجر می شود (۱-۳)، اگرچه ظهور بیماری صرع بسیار معمولی به نظر می رسد اما بیماری زایی آن هنوز به طور کامل روشن نشده است، صرع یک وضعیت عصبی غیر طبیعی است که با تغییراتی در پارامترهای روانی، احساسی و یادگیری همراه است. بیش از نیمی از افراد مبتلا به صرع با نوعی از مشکلات شناختی با علائم رفتاری غیر طبیعی، همراه هستند (۴) به رغم استفاده مطلوب از عناصر پیشرفته، بالای ۳۰ درصد انسان های مبتلا به صرع هرگز از روش درمان با داروهای ضد صرع بهبود نمی یابند (۵) و در حدود یک سوم بیماران بهبود یافته از تشنج، پس از ترک مصرف دارو، دوباره بازگشت به بیماری را تجربه می کنند (۶).

عوارض ناشی از سمیت داروهای ضد صرع متداول نیز محدودیت مصرف این داروها و عدم دستیابی به اثر درمانی مطلوب را موجب می شود؛ بنابراین با توجه به موارد ذکر شده، ضرورت تحقیق روی دارو های ضد صرع جدید، ضروری می نماید. در عرصه درمان بیماری ها نیز جستجو در بین هزاران ماده صناعی، به منظور یافتن اثر احتمالی بر یک بیماری، صحیح نیست، از طرفی در حال حاضر، ساخت مصنوعی برخی از مواد فعال، به دلیل داشتن ساختمان شیمیایی پیچیده یا ناشناخته، امکان پذیر نیست، یکی از راه های استفاده از آنها همان منابع طبیعی است (۷، ۸).

در دو دهه اخیر، محققان بازنگری داروهایی با منشأ طبیعی را شروع کرده اند. به طوری که امروزه داروهای با منشأ گیاهی، گسترش زیادی یافته اند و

پرداختن به گیاهان دارویی قسمتی از برنامه های سازمان بهداشت جهانی در زمینه سیاست های دارویی است (۹، ۱۰).

گیاه مخلصه با نام محلی تشنه داری گیاهی است خودرو، چند ساله و از تیره گل میمون که در استان ایلام و مناطقی از استان خوزستان رشد می کند (۱۱) ترکیبات شیمیایی این گیاه تا چند سال اخیر شناسایی نشده بود اما مردم ساکن استان ایلام سال هاست که به صورت تجربی از این گیاه به صور مختلف از قبیل جوشانده خوراکی، بخور و ضماد در درمان بیماری های متفاوت از جمله التهاب و عفونت چشم و گوش، سوختگی های پوستی، زخم های عفونی، اپیزاتومی، درد و اختلالات گوارشی، سرماخوردگی، هموروئید، کورک استفاده می کنند (۱۲). از جمله مطالعات صورت گرفته بر روی این گونه اثرات ترمیمی و ضد التهاب، آنتی سپتیک جلوگیری کنندگی در تولید Nitric Oxide، در ماکروفاژهای فعال شده و متالوپروتئینازهای ماتریکس نشان داده شده (۱۳). طبق مطالعاتی که توسط پژوهشگران در سال ۲۰۰۷ انجام شد نشان داده که *Scrophularia striata* در طب سنتی ایران، در درمان آلرژی، روماتیسم و اختلالات التهابی مزمن استفاده می شود. نتایج این مطالعات نشان داد که عصاره گیاه *Scrophularia striata* تولید NO را مهار می کند و در ماکروفاژهای فعال موش پیشنهاد شده که این گیاه ممکن است در درمان بیماری التهابی استفاده شود (۱۴) در یک بررسی که در سال ۲۰۱۰ نتایج آن گزارش گردید محققین دانشگاه تهران برخی از ترکیبات موثره این گیاه را استخراج نمودند، ترکیبات جداسازی شده از گیاه *Scrophularia striata* مورد مطالعه قرار گرفت و نشان داده شد که پنج ترکیب مختلف در ساختار این گیاه وجود دارد، که عبارت از اسید cinnamic و سه فلاونوئید (isorhamnetin-3-o-rutinoside, quercetine and nepitrin) و یک فنیل پروپانویید گلیکوزید می باشد (۱۵، ۱۶).

تمامی آزمایش ها بین ساعت ۹ الی ۱۷ صورت گرفت.

تهیه گیاه

گیاه مخلصه در فصل بهار از دامنه کوه های استان ایلام (زاگرس) جمع آوری و در سایه خشک شد. این گیاه توسط کارشناسان دانشکده کشاورزی دانشگاه چمران اهواز و مرکز تحقیقات کشاورزی جهاد کشاورزی استان خوزستان شناسایی شد. سپس در مرکز هرباریوم دانشگاه تهران شناسایی و تأیید گردید و یک نمونه از این گیاه نیز به شماره ثبت هرباریوم ۴۲۸۰۱-TUH در این مرکز قرار داده شد. ریشه و ساقه گیاه مخلصه پس از خشک شدن با آسیاب مکانیکی به صورت پودر در آورده شدند.

تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه

عصاره آبی-الکلی (هیدروالکلی): ۱۰۰ گرم از پودر گیاه مخلصه را در ۵۰۰ سی سی آب مقطر و ۵۰۰ سی سی اتانول ۹۶ درصد ریخته و در یک بالن ۲۰۰۰ سی سی به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه (۲۲ درجه سانتی گراد) قرار داده شد. لازم است در ۱۲ ساعت چند بار محلول را توسط شیکر تکان دهیم. بعد از ۷۲ ساعت محلول را صاف نموده (کاغذ صافی) و در یک بالن استریل و دارای لوله کوتاه (خروجی) قرار داده و بعد از اینکه محلول صاف گردید، محلول حاصله را فیلتر نموده و آن را در داخل بن ماری (حمام آبجوش در درجه حرارت ۵۰ درجه سانتیگراد) قرار داده، هنگامی که محلول تغلیظ شد، آنرا به داخل پلیت استریل منتقل نموده و در انکوباتور در درجه حرارت ۵۰ درجه سانتیگراد قرار می دهیم تا عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه خشک شود.

ایجاد تشنج

مدل مطالعاتی در این آزمایش، مدل صرع پنتیلین تترازول بود. پنتیلین تترازول (PTZ) (سیگما) در محلول نرمال سالین ۰/۹ درصد حل شد (۲۲) و با دوز ۸۰ میلی گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی (I.P) به حیوانات تزریق می شد (۲۲، ۱۱) و به تدریج باعث بروز تشنج می

در مطالعه قبلی نشان دادیم که عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه در مدل تشنجی (PTZ) پنتیلین تترازول دارای اثرات ضد تشنجی می باشد به طوری که موجب تاخیر در زمان شروع و کاهش مدت زمان تشنج تونیک و تونیک-کلونیک در موش می شود، بیشترین اثرات ضد تشنجی در دوزهای ۶۰۰ و ۹۰۰ مشاهده شد (۱۱، ۱۷).

از آنجا که نقش گیرنده های اوبیویدی در تشنج مطرح بوده (۱۸، ۱۹) و از آنجا که در مطالعه قبلی اثر ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه را اثبات کردیم (۱۱) در مطالعه حاضر نقش گیرنده های اوبیویدی را در ارتباط با اثرات ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه مورد بررسی قرار داده ایم و از نالوکسان به عنوان یک آنتاگونیست اوبیویدهای درون زا برای تعیین مکانیسم ضد تشنجی این عصاره استفاده کردیم. در مورد نقش سیستم اوبیویدی در طی فعالیت صرعی و افزایش رهایش پپتید های اوبیویدی در مایع مغزی نخاعی در حیوانات پس از تشنج گزارشاتی وجود دارد (۲۰، ۲۱). در مطالعه حاضر نقش گیرنده های اوبیویدی را در ارتباط با اثرات ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه مورد بررسی قرار داده ایم.

مواد و روش ها

حیوانات و شرایط آزمایش

در این مطالعه از موش سوری نر سوئسی با محدوده وزنی ۲۵ - ۳۰ گرم، که از موسسه رازی حصارک کرج خریداری شده بودند، استفاده شد. حیوانات آزمایشگاهی در اتاق مخصوص حیوانات مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی نگهداری می شدند. حیوانات مورد آزمایش در این اتاق با دمای ۲۲ درجه و در دوره ۱۲ ساعتی تاریکی - روشنایی نگهداری می شدند و در مدت نگهداری به طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. و قبل از هر آزمایش توسط پژوهشگر دست ورزی می شدند. از هر موش فقط یکبار برای آزمایش استفاده شد و

(Duration Time)، مدت زمان کل تشنج جنرالیزه، تعداد پرش ها و از دست دادن تعادل حیوان ها حین تشنج، تعداد مرگ و میر در هر گروه. به این ترتیب در گروه کنترل و در گروه های درمان (پس از گذشت ۳۰ دقیقه از تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه) کیندلینگ شیمیایی با تزریق پنتیلن تترازول با دوز ۸۰ میلی گرم به ازای هرکیلوگرم به صورت داخل صفاقی (I.P) در حیوانات ایجاد شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه، رفتار و حرکات آنها توسط دوربین فیلمبرداری ضبط شده و به صورت دقیق مورد مشاهده و ارزیابی قرار می گرفت و تمامی متغیرهای ارزیابی به صورت دقیق در تمامی گروه ها ثبت شد. در گروه های درمان قبل از تزریق پنتیلن تترازول، عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه به ترتیب با دوزهای ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم به ازای هرکیلوگرم به صورت داخل صفاقی به حیوان ها تزریق شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه پنتیلن تترازول به آنها تزریق می شد.

روش های آماری

در این مطالعه نتایج به دست آمده به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد. مقایسه آماری بین گروه های آزمایشی با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه و مقایسه بین گروه های آزمایشی با آزمون های تکمیلی از نرم افزار SPSS16 استفاده شد و به منظور بررسی اختلاف آماری میانگین ها از آزمون ANOVA و سپس از آزمون های Tukey و LSD استفاده گردید. $P < 0.05$ به عنوان معیار معنی دار بودن اختلاف میانگین ها در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج نشان داد با تجویز عصاره گیاه به موش ها تغییر چندانی در زمان تاخیری تا شروع تشنج تونیک و کلونیک در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد. تجویز همزمان نالوکسان و عصاره نیز زمان تاخیری تا شروع این مراحل را کاهش داد که در مقایسه با گروه کنترل معنی

شد. شدت تشنج در این مدل مطابق با مراحل زیر، ارزیابی می شد:

مرحله تونیک: سفتی شدید عضلات و کشیده شدن دستها و پاها به طرفین

مرحله کلونیک: یک دوره کوتاه مدت از تشنج با حرکات پیچشی سرگردن و حرکات دستها و پرشهای شدید و دورزدن

مرحله تونیک-کلونیک: تشنج های جنرالیزه شده با انقباض های تونیک ناگهانی و حالات صرع پایدار همراه با پرشهای بسیار کوتاه مدت.

همچنین پرش (پرشهای ناگهانی بالاتراز ۲۰ سانتی متر از سطح زمین) و از دست دادن تعادل (افتادن موش ها در اثر تشنج به یک طرف) و درصد حفاظت از مرگ حیوان ها حین تشنج به صورت مستقل ثبت و مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۳).

حیوان های مورد مطالعه در پنج گروه هشتایی تقسیم بندی شدند که عبارتند از: گروه کنترل و دو گروه تحت درمان با دوزهای ۶۰۰، ۹۰۰ میلی گرم/کیلوگرم از عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه و دو گروه تحت آزمایش با دوزهای ۶۰۰، ۹۰۰ میلی گرم/کیلوگرم از عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (دوزهای ۶۰۰ و ۹۰۰ به دلیل دارا بودن بیشترین خاصیت ضد تشنجی انتخاب شدند) (۱۱) و نالوکسان ۵ میلی گرم/کیلوگرم ۳۰ دقیقه پس از تجویز داخل صفاقی نرمال سالین (در گروه کنترل) (۲۴) و دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (در گروه های تحت درمان) و عصاره و نالوکسان (در گروه آزمایش)، پنتیلن تترازول با دوز ۸۰ میلی گرم/کیلوگرم به موش ها تزریق شد و بلافاصله به قفس مخصوص منتقل شدند و در طی ۲۰ دقیقه رفتارهای تشنجی توسط دوربین فیلمبرداری شد و سپس مراحل مختلف تشنج مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۵).

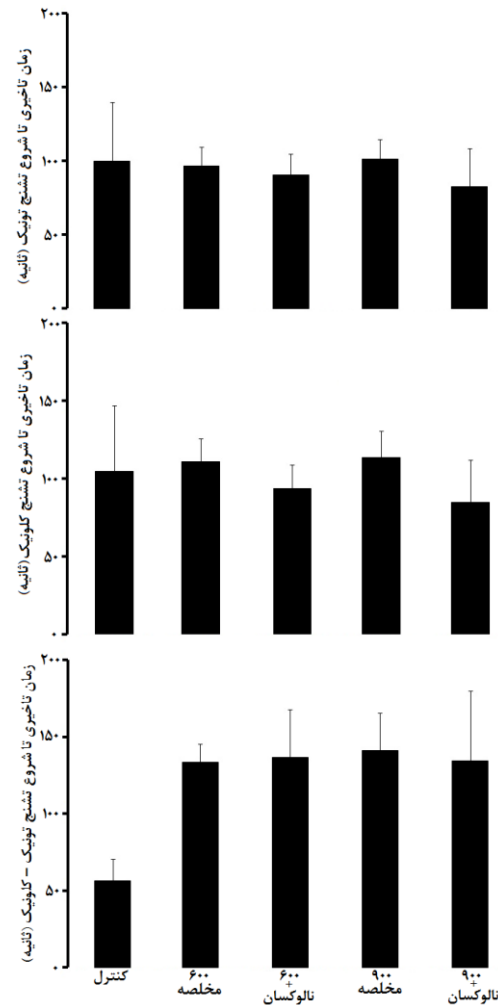
زمان شروع هر یک از مراحل تشنج (Delay Time)، مدت زمان مرحله تونیک و کلونیک-کلونیک

تشنج تونیک-کلونیک را در همه ی دوز های تجویزی عصاره به تنهایی و هم همراه با نالوکسان را در می یابیم اما این افزایش آستانه در هیچ یک از دوزها در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود.

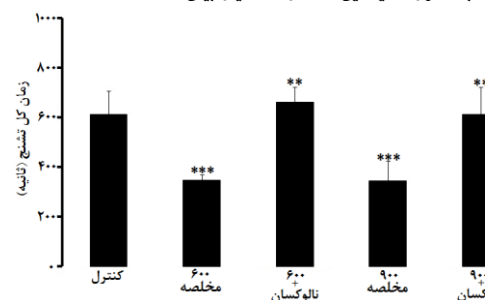
همانطور که در شکل شماره ۴ مشاهده می شود تزریق عصاره به تنهایی باعث کاهش مدت زمان کل تشنج شده است که این کاهش در هر دو مورد استفاده عصاره به تنهایی در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود ($P < 0.001$). با توجه به این نمودار تزریق عصاره به همراه نالوکسان باعث افزایش مدت زمان کل تشنج شده که این افزایش در دوز 900،600mg/kg عصاره به همراه 5mg/kg نالوکسان در مقایسه با گروه کنترل معنی دار است ($P < 0.01$).

تزریق عصاره چه به تنهایی و چه همراه با نالوکسان باعث کاهش در مدت زمان باقی ماندن در تشنج تونیک شد که در مقایسه با گروه کنترل در هیچ یک از دوزها معنی دار نبود (شکل شماره ۵). با مشاهده شکل شماره ۶ درمیابیم که تزریق عصاره به تنهایی با افزایش مدت زمان باقی ماندن حیوان در تشنج تونیک-کلونیک در هر دو دوز مورد استفاده شده که در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود. تزریق عصاره همراه با نالوکسان به حیوان باعث کاهش مدت زمان باقی ماندن حیوان در تشنج تونیک-کلونیک شده که این کاهش نیز در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود.

میزان از دست دادن تعادل در حیوان با تزریق عصاره به تنهایی کاهش یافته که در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود اما با تزریق عصاره به همراه نالوکسان، افزایش میزان از دست دادن تعادل در حیوان مشاهده شد که این افزایش در دوز 600mg/kg عصاره به همراه نالوکسان 5mg/kg در مقایسه با گروه کنترل معنی دار است ($P < 0.01$). با تزریق عصاره به تنهایی به حیوان هیچ گونه حرکت پرشی در حیوان مشاهده نشد اما با تزریق عصاره به همراه نالوکسان میزان پرش در موش در مقایسه



شکل ۳-۱: تاثیر نالوکسان (5mg/kg) بر مدت زمان تأخیری تا شروع تشنج تونیک (Tonic Seizure Latency)، مدت زمان تأخیری تا شروع تشنج کلونیک (Clonic Seizure Latency) و مدت زمان تأخیری تا شروع تشنج تونیک - کلونیک (Tonic - Clonic Seizure Latency) در گروه های عصاره و عصاره+ نالوکسان. برای همه گروهها $n=8$ می باشد. داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است.



شکل ۴: تاثیر نالوکسان (5mg/kg) بر مدت زمان کل تشنج (Seizure Total Time) در گروه های عصاره و عصاره+ نالوکسان. برای همه گروهها $n=8$ می باشد. داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است. $**P < 0.01$, $***P < 0.001$.

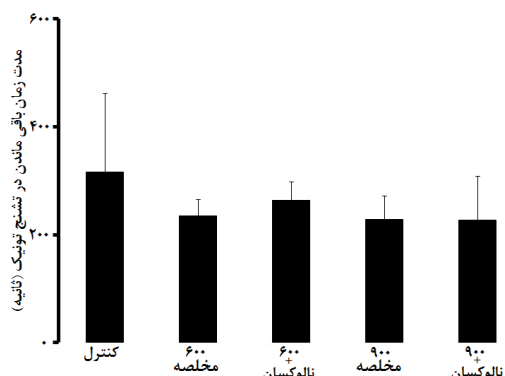
دار نبود ($P=0.849$, $P=0.753$) (شکل شماره ۱ و ۲).

با مشاهده شکل شماره ۳ افزایش زمان تأخیری تا شروع

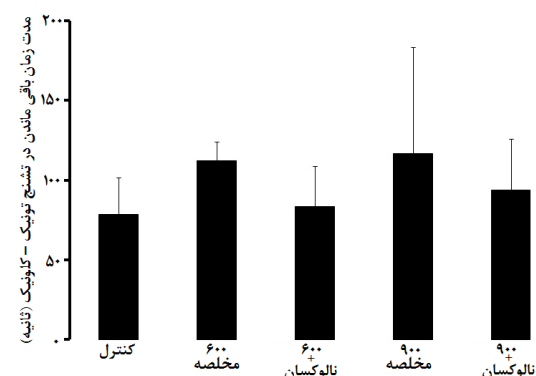
بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تزریق نالوکسان همراه با عصاره به حیوان طول مدت تشنج را در حیوان در مقایسه با گروه کنترل و گروه درمانی که فقط عصاره را به تنهایی دریافت کرده اند افزایش می دهد. همانطور که در مطالعات گذشته به اثبات رساندیم (۱۱) عصاره هیدروالکلی گیاه مخلصه (*Scrophularia striata* Boiss.) خواص ضد تشنجی را در تشنج ناشی از تزریق پنتینیل تترازول در موش سوری نر دارد. در مطالعه ی حاضر به بررسی مکانیسم ضد تشنجی این عصاره با استفاده از تزریق نالوکسان (5mg/kg) همراه با تزریق عصاره به حیوان پرداختیم. همانطور که در یافته ها مشاهده شد تزریق عصاره به تنهایی به موش باعث تعدیل هریک از مراحل تشنج تونیک، کلونیک و تونیک-کلونیک شد و با افزایش زمان تاخیری تا شروع تشنج در تمامی مراحل فوق همراه بود و همچنین عصاره در دوزهای تزریقی باعث کاهش مدت زمان کل تشنج و کاهش مدت زمان باقی ماندن در تمامی مراحل تشنج شده است که همه این موارد دلیل بر دارا بودن خاصیت ضد تشنجی در عصاره هیدروالکلی این گیاه است البته همانطور که ذکر شد در مطالعات گذشته این خاصیت در این عصاره این گیاه بررسی و اثبات گردیده است (۱۱). اما تزریق عصاره در همان دوزهای درمانی همراه با تزریق نالوکسان در دوز (5mg/kg) باعث کاهش و حتی عدم ایجاد اثر ضد تشنجی عصاره شده است. با توجه به یافته های موجود نالوکسان باعث افزایش مدت زمان باقی ماندن در تمام مراحل تشنج و افزایش مدت زمان کل تشنج تونیک، کلونیک و تونیک - کلونیک در مقایسه با گروه تحت درمان با عصاره و حتی گروه کنترل شد. همچنین نالوکسان باعث کاهش زمان تاخیری تا شروع تشنج شد.

در موش، پنتازوسین دارای اثر ضد تشنجی است، این دارو به عنوان یک آگونیست روی رسپتورهای



شکل ۵: تاثیر نالوکسان (5mg/kg) بر مدت زمان باقی ماندن در تشنج تونیک (Tonic Seizure Latency) در گروه های عصاره و عصاره+ نالوکسان. برای همه گروه ها $n=8$ می باشد. داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است.



شکل ۶: تاثیر نالوکسان (5mg/kg) بر مدت زمان باقی ماندن در تشنج تونیک - کلونیک (Tonic - Clonic Seizure Latency) در گروه های عصاره و عصاره+ نالوکسان. برای همه گروه ها $n=8$ می باشد. داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است.

با گروه کنترل کاهش معنی داری یافت که این کاهش به ترتیب در دوزهای 600mg/kg و 900mg/kg عصاره به همراه نالوکسان 5mg/kg به این ترتیب بود ($P<0.05$) و ($P<0.001$). مرگ و میر در حیوانات فقط با تزریق عصاره در دوز 900mg/kg عصاره به همراه نالوکسان 5mg/kg مشاهده شد که با کاهش در مقایسه با گروه کنترل همراه است که این کاهش در مقایسه با گروه کنترل معنی دار نبود. در سایر دوزها هیچ گونه مرگ و میری در حیوان مشاهده نشد که این می تواند نشانه غیر سمی بودن عصاره و نالوکسان در دوزهای مورد استفاده باشد.

آنتاگونیزه کننده اثرات ضد تشنجی بررسی شده، مشاهده می شود که این خاصیت در دوزهای بالای نالوکسان ایجاد می شود و دوزهای پائین نالوکسان دارای چنین خاصیتی نبود. همانطور که در مطالعات ذکر شده اشاره شد نالوکسان در دوز (5mg/kg) نه تنها اثر ضد تشنجی عصاره را آنتاگونیزه کرده بلکه باعث مرگ حیوان نیز شد که می تواند ناشی از سمی بودن نالوکسان در دوز مورد استفاده باشد. با توجه به مطالعات فوق می توان اثر آنتاگونیزه کنندگی نالوکسان را در دوز مورد استفاده (5mg/kg)، به دلیل بلوک رسپتورهای k- اپیوئیدی دانست و در نتیجه اثر ضد تشنجی عصاره هیدروالکی گیاه مخلصه که نالوکسان با بلوک رسپتورهای k- اپیوئیدی آنتاگونیزه کننده آن است را مانند پنتازوسین و سایر آگونیست ها با خاصیت ضد تشنجی به دلیل تحریک رسپتورهای k- اپیوئیدی توسط مواد موجود در عصاره دانست که البته اثبات این ادعا نیاز به بررسی های دقیق تر در رابطه با مواد شیمیایی موجود در عصاره و بررسی عصاره در دوزهای گسترده تری دارد.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره هیدروالکی گیاه مخلصه دارای اثرات ضد تشنجی می باشد.

تشکر و قدردانی

از تمامی افرادی که در عملی کردن این مطالعه به ما یاری رساندند کمال تشکر و قدردانی داریم.

اپیوئیدی و به عنوان یک آگونیست نسبی روی رسپتورها عمل می کند. نالوکسان در دوز بالا (1 mg/kg) به طور کامل اثر ضد تشنجی پنتازوسین را آنتاگونیزه می کند، در حالی که دوزهای پائین آن فاقد چنین اثری است. این مطلب نشان می دهد که مکانیسم عمل پنتازوسین به عنوان یک ضد تشنج اپیوئیدی احتمالاً با فعالیت رسپتورهای k نالوکسان (1.5 mg/kg) نه تنها اثر ضد تشنجی پنتازوسین را آنتاگونیزه کرده بلکه سبب افزایش میزان مرگ جانوران در نتیجه تشنج حاصل از الکتروشوک نیز شد (۲۷، ۲۸). در مطالعات دیگری نیز چنین نتایج متفاوت در مورد بلوک و آنتاگونیزه کردن اثر ضد تشنجی آگونیست های اپیوئیدی توسط دوزهای مختلف نالوکسان گزارش شده است؛ دوز بالای نالوکسان (10mg/kg) به طور کامل اثر ضد تشنجی U50488، آگونیست k- اپیوئیدی را در رت آنتاگونیزه می کند اما دوز پائین آن قادر به انجام این عمل نمی باشد (۲۹، ۳۰).

مشاهدات فوق بیانگر این نکته است که نالوکسان در دوزهای بالا با بلوک رسپتور های k- اپیوئیدی سبب افزایش طول تشنج می شود و بنابراین اثر ضد تشنج ترکیبات اپیوئیدی را آنتاگونیزه می کند. از طرف دیگر در تحقیقاتی که بر روی سایر رسپتورهای سیستم اپیوئیدی انجام گردیده، مشخص شده که دوزهای کمتر از (1 mg/kg) نالوکسان که به صورت محیطی (peripheral) داده شود و دوز 10 µg آن به صورت تزریق مرکزی به طور انتخابی پاسخ های با واسطه رسپتورهای mu را آنتاگونیزه می کند (۲۹، ۳۱، ۳۲).

در این تحقیقات که تاثیر نالوکسان به عنوان یک

References

1. Cardenas-Rodriguez N, Gonzalez-Trujano ME, Aguirre-Hernandez E, Ruiz-Garcia M, Sampieri A, 3rd, Coballase-Urrutia E, et al. Anticonvulsant and antioxidant effects of *Tilia americana* var. *mexicana* and flavonoids constituents in the pentylenetetrazole-induced seizures. (1942-0994 (Electronic)).
2. Theodore WH, Fisher R. Brain stimulation for epilepsy. (0065-1419 (Print)).
3. Wagner RG, Bottomley C, Ngugi AK, Ibinda F, Gomez-Olive FX, Kahn K, et al. Incidence, Remission and Mortality of Convulsive Epilepsy in Rural Northeast South Africa. (1932-6203 (Electronic)).
4. Sharma AK, Reams Ry Fau - Jordan WH, Jordan Wh Fau - Miller MA, Miller Ma Fau - Thacker HL, Thacker HI Fau - Snyder PW, Snyder PW. Mesial temporal lobe epilepsy: pathogenesis, induced rodent

- models and lesions. (0192-6233 (Print)).
5. Geffrey AL, Pollack SF, Bruno PL, Thiele EA. Drug-drug interaction between clobazam and cannabidiol in children with refractory epilepsy. LID - 10.1111/epi.13060 [doi]. (1528-1167 (Electronic)).
 6. Schmidt D, Baumgartner C Fau - Loscher W, Loscher W. Seizure recurrence after planned discontinuation of antiepileptic drugs in seizure-free patients after epilepsy surgery: a review of current clinical experience. (0013-9580 (Print)).
 7. Kim HJ, Jee Eh Fau - Ahn KS, Ahn Ks Fau - Choi HS, Choi Hs Fau - Jang YP, Jang YP. Identification of marker compounds in herbal drugs on TLC with DART-MS. (0253-6269 (Print)).
 8. Reyes-Garcia V. The relevance of traditional knowledge systems for ethnopharmacological research: theoretical and methodological contributions. (1746-4269 (Electronic)).
 9. Chik WI, Zhu L, Fan LL, Yi T, Zhu GY, Gou XJ, et al. *Saussurea involucrata*: A review of the botany, phytochemistry and ethnopharmacology of a rare traditional herbal medicine. LID - S0378-8741(15)00442-0 [pii] LID - 10.1016/j.jep.2015.06.033 [doi]. (1872-7573 (Electronic)).
 10. Moussally K, Oraichi D Fau - Berard A, Berard A. Herbal products use during pregnancy: prevalence and predictors. (1099-1557 (Electronic)).
 11. Alimohammadi B, Azhdari-Zarmehri H, Sofiabadi M, Moslem AR. Anticonvulsant Effect of Hydroalcoholic Extract of *Scrophularia striata* Boiss. on Pentylentetrazol-Induced Seizure in Mice. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2013;21(3):207-18.
 12. Effects of *Scrophularia striata* Extract on Wound Healing in Rabbit. *sjimu*. 2010;17(4):9-16.
 13. Azadmehr A, Afshari A Fau - Baradaran B, Baradaran B Fau - Hajiaghaee R, Hajiaghaee R Fau - Rezazadeh S, Rezazadeh S Fau - Monsef-Esfahani H, Monsef-Esfahani H. Suppression of nitric oxide production in activated murine peritoneal macrophages in vitro and ex vivo by *Scrophularia striata* ethanolic extract. (1872-7573 (Electronic)).
 14. A Comparative Study of the Antimicrobial Effect of *Scrophularia striata* Boiss. Extract and Selective Antibiotics Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *jmpir*. 2007;1(21):10-8.
 15. Hajiaghaee R, Monsef-Esfahani Hr Fau - Khorramizadeh MR, Khorramizadeh Mr Fau - Saadat F, Saadat F Fau - Shahverdi AR, Shahverdi Ar Fau - Attar F, Attar F. Inhibitory effect of aerial parts of *Scrophularia striata* on matrix metalloproteinases expression. (0951-418X (Print)).
 16. Azhdari-Zarmehri H, Naderi F, Erami E, Mohammad-Zadeh M. Effects of *Salvia Sahendica* hydroalcoholic extract on PTZ-induced seizure in male mice. *Koomesh Journal*. 2013;14(4):497-504.
 17. Azhdari-Zarmehri H, Nazemi S, Ghasemi E, Musavi Z, Tahmasebi Z, Farsad F, et al. Assessment of effect of hydro-alcoholic extract of *scrophularia striata* on burn healing in rat. *JBUMS*. 2014;16(5):42-8.
 18. Dhawan K, Dhawan S Fau - Sharma A, Sharma A. *Passiflora*: a review update. (0378-8741 (Print)).
 19. Monsef-Esfahani HR, Hajiaghaee R Fau - Shahverdi AR, Shahverdi Ar Fau - Khorramizadeh MR, Khorramizadeh Mr Fau - Amini M, Amini M. Flavonoids, cinnamic acid and phenyl propanoid from aerial parts of *Scrophularia striata*. (1744-5116 (Electronic)).
 20. Mirzakhani H, van Noorden MS, Swen J, Nozari A, Guchelaar HJ. Pharmacogenetics in electroconvulsive therapy and adjunctive medications. (1744-8042 (Electronic)).
 21. Sivakumar S, Ibrahim M, Parker D, Jr., Norris G, Shah A, Mohamed W. Clobazam: An effective add-on therapy in refractory status epilepticus. (1528-1167 (Electronic)).
 22. Saeidi S, Azhdari Zarmehri H, Erami E, Alimohammadi B. The Effect of Hydroalcoholic Extract of *Heracleum Persicum* on Pentylentetrazol _Induced Seizure in Mice. *ZUMS Journal*. 2013;21(86):45-55.
 23. Nedi T, Mekonnen N Fau - Urga K, Urga K. Diuretic effect of the crude extracts of *Carissa edulis* in rats. (0378-8741 (Print)).
 24. Sayyah M, Saroukhani G Fau - Peirovi A, Peirovi A Fau - Kamalinejad M, Kamalinejad M. Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* Linn. (0951-418X (Print)).
 25. Uzbay TI, Kayir H Fau - Ceyhan M, Ceyhan M. Effects of tianeptine on onset time of pentylentetrazole-induced seizures in mice: possible role of adenosine A1 receptors. (0893-133X (Print)).
 26. Nassiri-Asl M, Shariati-Rad S Fau - Zamansoltani F, Zamansoltani F. Anticonvulsant effects of aerial parts of *Passiflora incarnata* extract in mice: involvement of benzodiazepine and opioid receptors. (1472-6882 (Electronic)).
 27. Suzuki T, Oshimi M Fau - Tomono K, Tomono K Fau - Hanano M, Hanano M Fau - Watanabe J, Watanabe J. Investigation of transport mechanism of pentazocine across the blood-brain barrier using the in situ rat brain perfusion technique. (0022-3549 (Print)).
 28. Golmohammadi R, Pejhan A, Azhdari-Zarmehri H, Mohammad-Zadeh M. The role of ethanol on the anticonvulsant effect of valproic acid and cortical microvascular changes after epileptogenesis in mice. *Neurol Sci*. 2013;34(7):1125-31.
 29. Foster KA, Roberts MS. Experimental methods for studying drug uptake in the head and brain. (1389-2002

- (Print).
30. Naderi F, Azhdari-Zarmehri H, Erami E, Sonboli A, Sofiabadi M, Mohammad-Zadeh M. The effect of *Tanacetum sonbolii* hydroalcoholic extract on Ptzinduced seizures in male mice. *Journal of Medicinal Plants*. 2012;11(44):193-201.
 31. Allen DD, Smith QR. Characterization of the blood-brain barrier choline transporter using the in situ rat brain perfusion technique. (0022-3042 (Print).
 32. Murakami H, Sawada N Fau - Koyabu N, Koyabu N Fau - Ohtani H, Ohtani H Fau - Sawada Y, Sawada Y. Characteristics of choline transport across the blood-brain barrier in mice: correlation with in vitro data. (0724-8741 (Print).

The Roles of Opioid Receptors on Anticonvulsant Properties of Hydro Alcoholic Extract of *Scrophularia striata* Boiss in Mice

Benyamin Alimohammadi

BS.C Student in Nursing, Nursing & Midwifery School, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Ali Reza Moslem

Assistant professor of Anesthesiology, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.

***Hassan Azhdari Zarmehri**

Torbat heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat heydariyeh, Iran

Houman Kamranian

Assistant professor of internal medicine, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.

Received:26/07/2015, Revised:19/10/2015, Accepted:02/11/2015

Corresponding Author:

Hassan Azhdari Zarmehri,
Torbat heydariyeh University of
Medical Sciences, Torbat
heydariyeh, Iran
hasan.azhdari@gmail.com

Abstract

Background and Objectives: Nowadays the use of herbal plants due to their low complications attracts the mind of many scientists. The aim of this study is the assessment of the Naloxone as an antagonist of opioids on seizure duration time induced by PTZ and determine the anticonvulsant mechanism of hydro alcoholic extract of *Scrophularia striata* Boiss.

Materials & Methods: In the present study, 40 male mice were randomly divided into five groups of eight; The control group (receiving PTZ 80 mg/kg, i.p.), Two treatment groups (*Scrophularia striata* 600 and 900 mg/kg, i.p.) and two experimental groups (*Scrophularia striata* 600 and 900 mg/kg i.p plus Naloxone 5 mg/kg, i.p., 5 minutes before extract injection). With injection of PTZ, convulsive behaviors in mice during 20 minutes were recorded by camera and the various stages of seizures were evaluated. Statistical data were analyzed using with the tests of one way Variance and Tukey in SPSS 16. $P < 0.05$ was considered as the level of significance.

Results: Statistical analysis showed that Naloxone injection with extract administration have slightly and not significantly decreased the latency time to tonic and clonic seizure in comparison with the control group. Latency time to tonic-clonic has been increased in extract only group and extract associated Naloxone group. With injection of the extract alone total seizure time has decreased but in extract associated Naloxone group this time has increased that this increasing in dose of 600 mg/kg is significant in comparison with control group ($P < 0.01$). Data showed that extract injection lonely and associated with Naloxone have increased the duration time of tonic seizure, duration time of tonic-clonic with extract injection was increased but this time in Naloxone group has been slightly decreased.

Conclusion: Our study indicated that Naloxone as an antagonist can inhibit the anticonvulsant activity of hydro alcoholic extract of *Scrophularia striata* Boiss.

Keywords: Naloxone, *Scrophularia striata* Boiss, Anticonvulsant activity, Mice