

Central administration of *Peganum harmala* seeds methanolic extract increases fear behavior in rats

Gholamhassan Vaezi¹, Masoud Fereidoni², Leila Etemadi^{1*}, Maryam Sabzali

1. Dept. Biology, Islamic Azad University, Branch of Damghan, Damghan, Iran

2. Dept. Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

Received: 16 Jun 2007

Revised: 12 Nov 2007

Accepted: 17 Jan 2008

Abstract

Introduction: Traditionally, *Peganum harmala* seeds (P.h) have been extensively used in the Asia region. We have previously reported the increase of fear behavior by systemic administration of P.h extract. Here, we evaluated the effect of central administration of the extract on the fear behavior.

Method: Methanolic extract of the plant's seeds (37% humidity) was prepared for the investigation. Elevated plus-maze apparatus was used for evaluating the fear behavior. Adult male rats were categorized in 7 main groups (n=6). 1) Sham control (saline 1 ul/rat, i.c.v) 2) Harmaline treated group (50 ug/rat, i.c.v). 3) Extract treated groups (10, 20, 25, 50, 100 ug/rat i.c.v respectively).

Results: All the doses of the P.h Methanolic extract as like as harmaline caused fear behavior ($p < 0.05$). There was no significant difference between the effects of harmaline and the doses of the plant extract.

Discussion: Overall, it is possible that the main alkaloid of the P.h (harmaline) is responsible for the increasing of fear behavior. The effect seems to be done through the central nervous system neurochemical mechanisms.

Keyword: *Peganum harmala*, i.c.v, plus-maze, Methanolic extract, rat.

* Corresponding Author Email: ll_etemadi@yahoo.com
Available online @: www.phypha.ir/ppj

تجویز عصاره متانولی دانه اسپند (*Peganum harmala*)، رفتار ترس

در موش صحرایی را افزایش می‌دهد

غلام حسن واعظی^۱، مسعود فریدونی^۲، لیلا اعتمادی^{۱*}، مریم سبزی‌علی

۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی

۲. دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

دریافت: خرداد ۸۶ بازبینی: آبان ۸۶ پذیرش: دی ۸۶

چکیده

مقدمه: از گذشته استفاده از بذر گیاه اسپند (*Peganum harmala*) در آسیا بسیار متداول بوده است. آلکالوئیدهای متعددی در بذر این گیاه با اثرات رفتاری توهم‌زا شناسایی شده‌اند، ازینرو تحقیق حاضر به بررسی اثر این آلکالوئیدها بر رفتار ترس در موش صحرایی نر بالغ پرداخته است.

روش‌ها: عصاره متانولی آلکالوئیدهای دانه گیاه اسپند با ۳۷٪ رطوبت تهیه شد. دستگاه Plus-maze برای ارزیابی رفتار ترس در جانوران استفاده گردید. موشهای صحرایی نر ($n=6$) در سه گروه اصلی تنظیم شدند، ۱) شم کنترل (تجویز درون بطنی (i.c.v) سرم فیزیولوژی ۱ μl/kg) ۲) کنترل مثبت هارمالین (50 μg/rat, i.c.v) ۳) گروه‌های تجویز دوزهای مختلف عصاره (10, 20, 25, 50, 100 μg/rat i.c.v).

یافته‌ها: کلیه دوزهای بکار گرفته شده از عصاره نسبت به گروه کنترل (سرم فیزیولوژی) اختلاف معنی‌داری را در بروز رفتار ترس نشان دادند ($p < 0.05$)، این در حالیست که تجویز هیچیک از دوزها نسبت به گروه کنترل مثبت (هارمالین) اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر این احتمال مطرح می‌گردد که هارمالین، آلکالوئید اصلی موجود در عصاره، مسئول بروز رفتار ترس از طریق بکارگیری مکانیسمهای نوروشیمیایی سیستم اعصاب مرکزی باشد.

واژه‌های کلیدی: *Peganum harmala*، ترس، هارمالین، عصاره الکلی، Elevated Plus-Maze.

مقدمه

مذکور محتوی آلکالوئیدهای متنوعی است که تا کنون دوازده نوع آنها شناخته شده، و عمدتاً در ریشه و بذر قابل مشاهده‌اند که از آن جمله می‌توان به هارمین، هارمالین، هارمالول و پگانین اشاره کرد [۲،۴]. هارمالین مشتق شده از ساختار بتا کربولینی به عنوان عمده‌ترین آلکالوئید اسپند اولین بار توسط Gobel در سال ۱۸۴۱ از ریشه و بذر گیاه جدا شد [۱]. از جمله اثرات مهم آلکالوئیدهای اسپند در انسان تأثیرات روان‌گردانی آنهاست که ناشی از خواص مهارکنندگی MAO (Monoamino oxidase) آلکالوئیدهای بتاکربولینی بر سیستم اعصاب مرکزی است [۲۶]. بر اساس گزارشات مولکول

اسپند با نام علمی *Peganum harmala* گیاهی پایا و بدون کرک از تیره Zygophyllacea است [۱]. برای این گیاه در متون طب سنتی، اثرات متعددی از جمله اثرات خواب‌آور، قاعده‌آور، اشتها‌آور، معرق و ضد انگل ذکر شده است، همچنین به عنوان داروئی موثر در درمان اختلالات عصبی مطرح گردیده است [۳۶،۱۱،۳۴]. گیاه

ll_etemadi@yahoo.com
www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

استرئوتاکسی، با استفاده از سیمان دندانپزشکی، سرسوزن شماره ۲۳ بعنوان کانول راهنمای تزریق به بطن، در استخوان جمجمه نصب شد. پنج روز پس از هر جراحی، به وسیله کانول تزریق شماره ۲۶ و سرنگ هاملتون، ۱ میکرو لیتر از دارو یا حامل آن (سرم فیزیولوژی) در ناحیه بطن تجویز گردید.

حیوانات در گروه‌های حامل دارو (*sham control*)، کنترل مثبت داروی هارمالین ($50 \mu\text{g}/\text{rat}$) [۱۵، ۱۹] و گروه دوزهای $100 \mu\text{g}/\text{rat}$ و 50 و 25 و 10 [۸، ۲۵] از عصا به فاصل ساعات $30:9$ تا $30:15$ در طول روز [۱۷] تحت تیمار با تجویز *i.c.v.* قرار گرفته و بلافاصله جهت آزمون رفتاری ترس در ماز قرار گرفتند. تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۶ در نظر گرفته شد.

برای سنجش رفتار ترس دستگاه Elevated Pluse-Maze مورد استفاده قرار گرفت. این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت (+) است. راهروی بازو به رنگ تیره و راهروی بسته به رنگ روشن طراحی گردید [۱۸، ۱۴].

ابعاد راهروی بازو بسته $5 \times 10 \text{ cm}$ بوده و دو ضلع طولی راهروها و انتهای راهروی بسته، دیوارهای به بلندی 40 cm قرار داده شده و برای جلوگیری از افتادن موش‌ها در دو طرف و انتهای راهروی بازو دیوارهای به ارتفاع 1 cm از جنس شیشه نصب گردید. چهار راهرو به یک محدوده مرکزی به ابعاد $10 \times 10 \text{ cm}$ منتهی می‌شود که اصطلاحاً ناحیه خنثی یا بی‌طرف نامیده می‌شود. راهروهای ماز توسط پایه‌هایی در ارتفاع 50 cm از سطح زمین قرار داده شده بود. حیوان مورد آزمایش درون محدوده مرکزی یا بی‌طرف ماز قرار داده می‌شود، بطوری که سر حیوان به سمت راهروی بسته است. نور مناسب توسط یک لامپ 100 وات به فاصله 120 cm از بالای ناحیه مرکزی ماز تأمین می‌گردد. مدت ۵ دقیقه به حیوان اجازه داده می‌شود تا در راهروهای مختلف ماز حرکت نماید. در هنگام انجام آزمایشات پارامترهای زیر اندازه‌گیری می‌شود.

- تعداد دفعاتی که حیوان به وارد راهروی باز می‌شود.
- تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهروی بسته می‌شود.
- مدت زمانی که حیوان در راهروی باز باقی می‌ماند.
- مدت زمانی که حیوان در راهروی بسته باقی می‌ماند.

منظور از ورود به راهروی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر قرار می‌گیرد. زمان گذرانده شده در هر دو نوع راهرو نیز بر همین اساس و بر حسب

هارمالین نه تنها لرزشهای عضلانی را تحریک می‌نماید که قادر است بر سیکل رفتاری اضطراب و ترس موثر باشد [۱۶]. رفتار ترس علامتی هشدار دهنده است که در واکنش به تهدید خارجی مشخصی بروز می‌کند و منشاء عصبی آن بطور دقیق شناخته شده نیست. بر اساس تحقیقات انجام شده نواحی متعدد مغزی از جمله هیپوکامپ، هسته مرکزی آمیگدال، سپتوم و چند ناحیه دیگر در بروز احساس و رفتار ترس دخالت دارند [۷، ۲۲].

بنابراین در پژوهش حاضر اثرات الکلویدهای موجود در بذر گیاه اسپند در بروز رفتار ترس در ناحیه بطن مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق از موشهای نر بالغ، نژاد ویستار ($20 \pm$ گرم) استفاده گردید. موشها در قفسهای مخصوص نگهداری حیوانات در گروه‌های ۳-۴ تایی نگهداری شده آب و غذای استاندارد به میزان کافی و آزادانه در دسترس آنها قرار می‌گرفت.

محل نگهداری حیوانات از نظر شرایط فیزیکی دارای دوره ۱۲ ساعته روشنایی - تاریکی و دمای 22 ± 2 درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی $40-60\%$ و بدون آلودگی صوتی بوده است. آزمایشات در زمان معینی از روز و تحت مقررات بین المللی حمایت از حیوانات صورت پذیرفت.

دانه اسپند از منطقه کویر دامغان در فصل تابستان جمع آوری شده و توسط هرباریوم دانشگاه تهران شناسایی علمی شد (کد نمونه: ۱۸۱). بذر جمع آوری و تمیز شده سپس در سایه و درجه حرارت $25-30$ درجه سانتیگراد خشک گردید. بذرهای خشک شده توسط آسیاب مکانیکی پودر شده و پودر حاصله تا زمان شروع آزمایش در شرایط مناسب حرارتی (22 ± 2) درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

جهت تهیه عصا مورد آزمایش حدود 40 گرم بذر پودر شده با 250 cc متانل 86% درون بن‌ماری یا حمام بخار 50°C به مدت ۴ ساعت قرار داده شد. حلال آن توسط دستگاه روتاری تحت شرایط کاهشی به طور کامل جدا گردید، میزان رطوبت عصا به 37% معین شد [۵].

با استفاده از اطلس پاکسینوس مختصات بطن طرف چپ مخ به صورت $AP = 0.8 \text{ mm}$ و $ML = 1/6$ از ناحیه برگما تعیین گردید [۲۱]. پس از تثبیت حیوان در دستگاه

جدول ۱- تعداد دفعات ورود به بازوی باز، بسته، تعداد کل ورود به بازوهای باز و میانی در صد ورود به بازوی بسته

پارامترها	گروهها				اثر دارو	
	کنترل	کنترل مثبت	100ph	50ph	25ph	10ph
تعداد کل ورودها	۱۰ ± ۱/۹	۴/۷ ± ۰/۵۲*	۴/۷ ± ۰/۲*	۶/۸ ± ۰/۹۳*	۶/۵۷ ± ۰/۷۸	۷/۷ ± ۰/۹۷
ورودها به بازوی باز	۵/۱ ± ۱	۱/۴ ± ۰/۲***	۱/۴۲ ± ۰/۲***	۱/۷۱ ± ۰/۴***	۲/۲۸ ± ۰/۲**	۱/۷۱ ± ۰/۵***
ورودها به بازوی بسته	۴/۸۵ ± ۱/۱	۳/۲۸ ± ۰/۴	۳/۲۸ ± ۰/۱	۳/۵۷ ± ۰/۸	۴/۵۷ ± ۰/۸	۴/۸۵ ± ۰/۴
درصد ورود به بازوی بسته	۴۸/۵ ± ۶/۶	۶۸/۴ ± ۴/۱*	۷۰ ± ۳*	۶۴/۸ ± ۴/۹	۷۶/۱ ± ۵/۱**	۷۲/۴ ± ۲/۷**

داده ها به صورت میانگین $\pm$ SEM نمایش داده شده اند. $p < 0.05$ *, $p < 0.01$ **, $p < 0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل، (n=6). Ph (Peganum harmala extract)، کنترل (سرم فیزیولوژی)، کنترل مثبت (هارمالین دوز ۵۰)، کلیه دوزها به صورت $\mu\text{g}/\text{rat}$ بوده است.

یافته‌ها

ثانیه اندازه‌گیری شده است. پارامترهای مورد اندازه‌گیری برای هر حیوان و گروه‌ها مشتمل بودند بر:

الف) نسبت درصد ورودها به راهروی باز، ب) نسبت درصد زمان طی شده در راهروی باز. ج) میانگین زمان حضور در هر بازو برای هر یک از گروه‌ها محاسبه شده و نتایج ثبت گردید [۱۴، ۱۸]، بر اساس پژوهشهای انجام شده مدت زمان سپری شده در بازوی باز بیان کننده رفتار ترس می‌باشد [۱۳].

همچنین ما در این تحقیق اندازه‌گیری میزان ترس را از نسبت مدت اقامت در محل بی خطر (راهروی بسته) به مدت اقامت در محل پر خطر (راهروی باز) بدست آوردیم. صفر در این محاسبه به معنی بی تفاوتی جانور نسبت به شرایط است. اعداد بالاتر از صفر شدت ترس را نشان می‌دهد و کمتر از صفر میزان عدم ترس را به نمایش می‌گذارد.

بعد از اتمام آزمایشات، مغز کلیه نمونه‌ها برای تایید محل صحیح قرارگیری کانول مورد بررسی بافت شناسی قرار گرفته و در صورتیکه کانول در محل صحیح قرارنگرفته بود داده‌های حاصل از آن نمونه از بررسی‌های آماری حذف گردید.

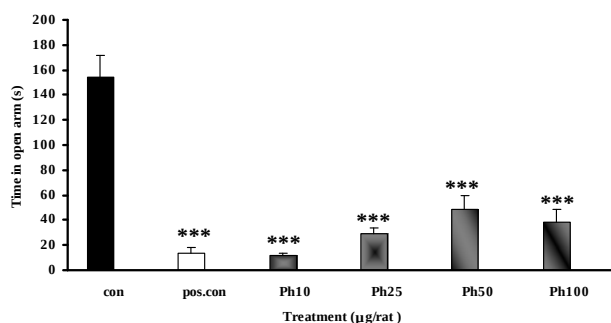
داده‌های حاصل از تجویز درون بطنی عصاره متانولی دانه اسپند در همه تجربیات با بهره‌بری از نرم افزار SPSS و آنالیز واریانس یک طرفه (one-way- Anova) و آزمون (Tukey) مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت. نمودار نتایج با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شد. در تمام موارد ($P < 0.05$) به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

داده‌های رفتاری نشان دادند که عصاره متانولی دانه اسپند منجر به تغییر رفتار جانور شد به نحوی که در مقایسه با گروه کنترل، عصاره باعث افزایش زمان اقامت حیوان در بازوی بسته به میزان شد ($p < 0.001$) (شکل ۱). نظیر این تغییر رفتار در نمونه‌هایی که داروی هارمالین را دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل نیز مشهود است ($p < 0.001$) (شکل ۱).

این تاثیر در حالیست که کلیه دوزهای بکارگرفته شده از عصاره (10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{rat}$) پس از تجویز i.c.v. فاقد هرگونه اختلاف معنی دار در زمان اقامت در بازوی بسته نسبت به داروی هارمالین بودند ($p > 0.05$) (شکل ۱). جالب توجه است که حداقل دوز بکار گرفته شده از عصاره (۱۰ $\mu\text{g}/\text{rat}$) نیز هیچ اختلاف معنی داری را نسبت به داروی هارمالین ($\mu\text{g}/\text{rat}$) (۵۰) نشان نداد ($p > 0.05$) (شکل ۱).

مقایسه آماری میان دوزهای متنوع بکار گرفته شده از عصاره نشان می‌دهد که افزایش دوز احتمالاً نمی‌تواند تاثیری در افزوده شدن شدت بروز رفتار ترس توسط این عصاره داشته باشد چراکه مقایسه‌های آماری عملکرد این دوزها هیچگونه اختلاف معنی داری را با یکدیگر نشان ندادند ($p > 0.05$) (شکل ۱).

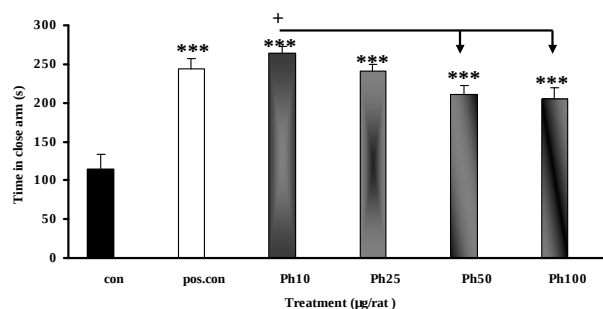
از سوی دیگر آنالیز داده‌های بدست آمده نشان می‌دهد زمان اقامت در بازوی باز در گروه‌های تحت تیمار با عصاره و داروی هارمالین در مقایسه با گروه کنترل به شدت کاهش یافته است ($p < 0.001$) (شکل ۲).



شکل ۲- اثر تزریق i.c.v دوزهای (10, 25, 50, 100 µg/rat) عصاره دانه اسپند و کنترل مثبت در زمان اقامت در بازوی باز نسبت به گروه کنترل در Elevated plus – maze. عصاره در کلیه دوزها به طور موثری زمان اقامت در بازوی باز را افزایش داده است. مقادیر به صورت میانگین $\pm$ SEM نمایش داده شده است، $p < 0.001$ ، $n = 6$ ، *** در مقایسه با گروه کنترل (سرم فیزیولوژی) (con = گروه کنترل، pos.con = گروه کنترل مثبت، Ph = Peganum harmala extract).

عصاره سبب افزایش معنی دار زمان اقامت در بازوی بسته و افزایش رفتار ترس همچنین کاهش زمان اقامت در بازوی باز می گردد (شکلهای ۱، ۲، ۳). بعلاوه عصاره توانسته در سه دوز ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ همانند هارمالین میزان دفعات ورود به بازوی بسته را افزایش دهد ($p < 0.01$) (جدول ۱). این در حالیست که مقایسه عملکرد دوزهای بکار گرفته شده از عصاره حاکی از اختلاف معنی داری در زمان اقامت در بازوی بسته و شدت ترس بین دوز حداقل و دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ می باشد ($P < 0.05$) (شکلهای ۱، ۳). این موضوع قابل پیش بینی است که احتمالا عصاره بکار گرفته شده در این پژوهش، در بروز عملکرد خود روی رفتار ترس، از برخی مکانیسمهای مشابه با داروی هارمالین بعنوان یک هالوسینوژن استفاده نماید [۱۶].

مشخص شده که هارمالین از ساختار شیمیایی مشابه با سروتونین برخوردار است به عبارت دیگر هارمالین و هارمین به عنوان آگونیست سروتونین معرفی شده و اثرات توهّم زا یا هالوسینوژن دارند به این ترتیب محرک سیستم اعصاب مرکزی محسوب می شوند. ازینرو هارمالین به اتصال با گیرنده 5-HT_{2A} در سطح غشاء پس سیناپسی نورونهای سرتونرژیک تمایل دارد. لذا قادر است موجب راه اندازی مکانیسمهای آبخاری ارسال سیگنال درون سلولی گردد. طی این روند سطح کلسیم درون سلولی افزایش یافته، ترکیب فسفوانوزیتید (PIP₂) درون سلولی هیدرولیز شده و نهایتاً خود گیرنده سرتونینی فسفریله می شود [۲۳]. به دلیل حضور آلکالوئید هارمالین در عصاره بذر اسپند، احتمال بکارگیری چنین



شکل ۱- اثر تجویز i.c.v. مقادیر مختلف عصاره الکی دانه اسپند بر زمان اقامت در بازوی بسته ی Elevated Plus – maze. عصاره در دوز ۱۰ µg/rat به طور موثری زمان اقامت در بازوی بسته را افزایش داده است حتی در مقایسه با دوزهای ۱۰۰ و ۵۰۰ µg/rat (نظیر دوز ۵۰ هارمالین). مقادیر به صورت میانگین $\pm$ SEM نمایش داده شده است، $p < 0.001$ ، $n = 6$ ، *** در مقایسه با گروه کنترل (سرم فیزیولوژی)، $p < 0.05$ + در مقایسه با دوزهای ۱۰۰ و ۵۰ µg/rat (con = گروه کنترل، pos.con = گروه کنترل مثبت، Ph = Peganum harmala extract).

اندازه گیری رفتار ترس (Score of fear) بر اساس رابطه پیشنهادی در این پژوهش نشان میدهد گروههای تحت تیمار با هارمالین و دوز (10 µg/rat) از عصاره به صورت معنی داری در مقایسه با سایر گروهها رفتار ترس را افزایش دادند ($p < 0.001$) (شکل ۳). این در حالیست که بر اساس نتایج محاسبه شده درصد ورودها به بازوی بسته در کلیه گروهها نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری نشان میدهد (جدول ۱).

بحث

ترس و بدنبال آن اجتناب از خطرات بالقوه یکی از رفتارهای تدافعی مهم در حیات بسیاری از موجودات زنده محسوب می شود. رفتار ترس در جانوران به شکل های مختلف از جمله تغییر فعالیت های حرکتی ظاهر می شود [۱۵، ۲۶].

در این آزمایشات با توجه به دوز مؤثر داروی هارمالین [۱۹، ۱۵] دوز (۵۰ µg/rat) از آن برای تزریق درون بطنی مغزی انتخاب گردید. این دوز توانست نسبت به گروه کنترل که تنها تجویز درون بطنی سرم فیزیولوژی را دریافت کرده بودند سبب افزایش معنی دار اقامت حیوان در بازوی بسته و زیاد شدن شدت رفتار ترس گردد ($P < 0.001$) (شکلهای ۱، ۲، ۳). مطابق با پژوهشهای انجام شده این پارامترها احتمالا می توانند به عنوان شاخص های بروز رفتار ترس عنوان گردند [۱۳]. مقایسه آماری تجویز دوزهای مختلف عصاره با گروه کنترل نشان دادند که

رفتار ترس بروز میدهد [۹].

نتایج حاصل از این تحقیق اختلاف معنی داری را میان دوز $(10 \mu\text{g/rat})$ و دوزهای $(100, 50 \mu\text{g/rat})$ در بروز رفتار ترس نشان میدهد ($p < 0.05$) (شکل ۱، ۳). در این رابطه میتوان عنوان کرد که احتمالاً عملکرد عصاره مذکور در محدوده دوزهای بکار رفته وابسته به دوز بوده و با افزایش دوز قابلیت عصاره در بروز رفتار ترس کاهش می‌یابد. بعلاوه از آنجا که حتی کمترین دوز بکارگرفته شده از عصاره $(10 \mu\text{g/rat})$ از نظر زمان اقامت حیوان در بازوی بسته و افزایش شدت ترس فاقد اختلاف معنی دار با داروی هارمالین $(50 \mu\text{g/rat})$ است ($p > 0.05$) (شکلهای ۱، ۳)، شاید بتوان گفت با توجه به اینکه غلظت هارمالین پنج برابر حداقل دوز بکارگرفته شده از عصاره می‌باشد همراهی سایر ترکیبات آلکالوئیدی با هارمالین در این دوز ممکن است سبب تقویت عملکرد هارمالین شده و نقش موثرتری را در رابطه با تشدید رفتار ترس ایفا نماید.

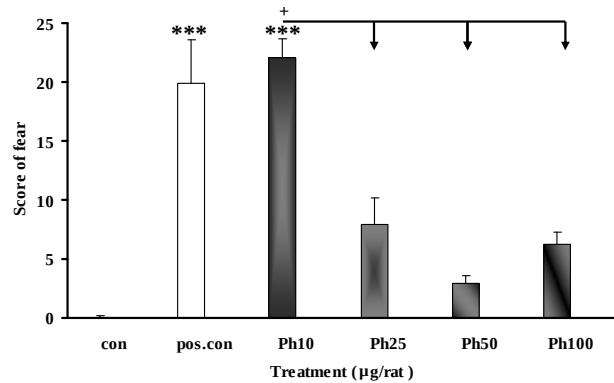
در نهایت پژوهش حاضر شواهد جدیدی مبنی بر اهمیت نقش عصاره اسپند در پاسخهای ایجاد شده به ترس تحریک شده محیطی (Fear-inducing environment) با استفاده از دستگاه Pluse-Maze ارائه می‌دهد در این میان بررسی دقیق نحوه عملکرد مکانیسمهای به کار گرفته شده توسط عصاره از جمله سیستمهای سرتونرژیک، دوپامینرژیک، اپیونیدرژیک و آدرنرژیک حائز اهمیت می‌باشد.

تشکر و قدردانی

در خاتمه از مساعدتهای آقای مهندس عباسی مسئول آزمایشگاههای دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان در طی انجام مراحل اجرایی کار قدر دانی می‌نمائیم.

منابع

- [۱] آیینچی یعقوب، مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران، تهران، انتشارات دانشگاه تهران ۱۳۷۰، ۵۸۹-۴۶۶.
- [۲] حاجی آخوندی عباس، استخراج «آلکالوئیدهای پگانومهارمالا» و بررسی اثرات ضد باکتری پیلوریا. پایان نامه دوره دکتری داروسازی، تهران، دانشکده داروسازی دانشگاه تهران ۱۳۶۶.



شکل ۳- اندازه گیری میزان ترس (Score of fear) متاثر از تجویز i.c.v مقادیر مختلف عصاره الکلی دانه اسپند. عصاره در دوز $10 \mu\text{g/rat}$ به طور موثری شدت ترس را حتی در مقایسه با سایر دوزها افزایش داده است (نظیر دوز $50 \mu\text{g/rat}$ هارمالین). مقادیر به صورت میانگین $\pm$ SEM نمایش داده شده است، $n=6$ ، $p < 0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل (سرم فیزیولوژی)، $p < 0.05$ + در مقایسه با دوزهای $100, 25, 50 \mu\text{g/rat}$ (con = گروه کنترل، pos.con = گروه کنترل مثبت، Ph = Peganum harmala extract)

روندی از سوی عصاره را باید در نظر داشت. از سوی دیگر معلوم شده که ترکیبات هارمالین و هارمین که موجودیت آنها در عصاره بذر اسپند نیز ذکر گردیده [۲، ۴، ۲۳] می‌توانند به صورت مستقیم بر روی کانالهای سدیمی و کلسیمی وابسته به ولتاژ تأثیر مثبت داشته و همچنین سبب فعال شدن سیستم فسفولیپاز C از یک سو و تولید اسید آراشیدونیک (Arachidonic acid) بعنوان یک ترکیب پیش ساز پروستاگلاندینها و در نهایت بلوک کانالهای پتاسیمی در غشاء پس سیناپسی شوند [۱۱].

همچنین در مورد عصاره اسپند احتمالاً می‌توان عنوان نمود که مشابه داروی هارمالین، بروز رفتار ترس را با تأثیرگذاری بر نواحی گسترده‌ای از مغز باعث گردد، چرا که ترکیبات هالوسینوترژیک مثل هارمالین بخشی از عملکرد خود را با تأثیر بر گیرنده‌های 5-HT_{2A} اعمال می‌کنند. توزیع گیرنده‌های 5-HT_{2A} در پایانه‌های نورونی در ناحیه آستر بطنی در مغز به اثبات رسیده است [۱۰، ۱۲].

چنانچه پیش‌تر ذکر گردید اتصال هارمالین به گیرنده 5-HT_{2A} در سطح سلولی سبب تولید اسید آراشیدونیک می‌گردد [۱۱]. این ترکیبات بعنوان یکی از میانجی‌های مؤثر در فعالیت گیرنده گلوتامانی NMDA (N-Methyl-D-Aspartat) مطرح می‌باشد. ثابت شده که این گیرنده در بروز رفتارهای دفاعی از جمله ترس دخیل می‌باشد [۲۰]. طبق تحقیقات انجام شده افزایش گیرنده NMDA باعث کاهش نسبت Ca^{+2} به Mg^{+2} گردیده، در نهایت رهایش نوروترانسمیترها را افزایش داده و عملکرد خود را در

- analysis of harmol, harmolol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. **Pharmaceut Biomed Analysis** 2 (2003) 263-269.
- [17] Kassed CA, Herkenham M, NF-KBp50-deficient mice show reduced anxiety-like behaviors in tests of exploratory drive and anxiety. **Behav Brain Res** 154 (2004) 577-584.
- [18] Menard JT, Lateral and medial septal lesions reduce anxiety in the plus-maze and probe-burying tests. **Physiology** 60 (1996) 845-853.
- [19] Mohsef HR, Ghobadi A, Iran shahi M, Abdollahi M, Antinoceptive effects of *Peganum harmala* alkaloid extract on mouse fromaline test. **Pharm-Pharm-Sci** 1 (2004) 65-69.
- [20] Ozawa T, Nakagawa T, Shige K, Minami M, Satoh M, Changes in the expression of glial glutamate transporters in morphine dependence and naloxone precipitated withdrawal. **Brain Research** 254-258(2001) 905.
- [21] Paxinus G, Watson C, editors. The rat brain in stereotaxic coordinates. 3rd ed. Academic Press, 1997, p. 170-171.
- [22] Philips RG, Ledoux JE, Differential contribution of amygdale and the hippocampus to cued and contextual fear conditioning. **Behaviour** 7 (1992) 73-75.
- [23] Pinner E, Padan E, Schuldiner S, Amiloride and harmaline are potent inhibitors of NhaB, a Na^+/H^+ antiporter from *Escherichia coli*. **FEBS Lett** 1 (1995) 18-22.
- [24] Ribaa J, Andererb P, Janéa F, Saletub B, Barbanoja MJ, Effects of the south american psychoactive beverage ayahuasca on regional brain electrical activity in humans: A functional neuroimaging study using low-resolution electromagnetic tomography. **Neuropsychobiology** 50 (2004) 89-101.
- [25] Saano V, Tacke U, Sopanen L, Airaksine MM, Tofizopam enhances the action of diazepam against tremor and convulsions. **Med Biol** 61 (1983) 49-53.
- [26] Sharaf M, Ansari A, Martin four flavonoide glycosides from *peganum harmala* **Phytochemistry** 3 (1997) 533-536.
- [۳] زرگری علی، گیاهان داروئی، جلد اول، تهران، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران ۱۳۷۶، ۶۰۷-۶۰۵.
- [۴] سیلورمن موریس، مترجم: عزیزیان جواد، شیمی آلی طراحی و عملکرد دارو، انتشارات نور، محل ۱۳۷۶، ۳۴۷.
- [۵] صمصام شریعت هادی، معطر فریبرز، گیاهان و داروهای طبیعی، تهران، انتشارات امیر کبیر ۱۳۶۹، ۱۲۸-۱۲۶.
- [۶] میرحیدر حسین، معارف گیاهی، کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها، دفتر نشر فرهنگ اسلامی ۱۳۷۵، ۳۲۵-۳۲۰.
- [7] Alonso A, Kohler C, Evidence for separate projections of hippocampal pyramidal and non pyramidal neurons to different parts of the septum in the rat brain. **Neurosci Lett** 31 (1982) 209-214.
- [8] Annpharm FR, Experimental Toxicity of *Peganum harmala*. **Neurosci Biobehav R** 60 (2002) 123-12.
- [9] Antonio P, Karina V, Teixeira F, Graef G, Modulation of defensive behavior by periaqueductal gray NMDA/glycine B receptor. **Neurosci Biobehav R** 25 (2001) 697- 709.
- [10] Charles D, Nichols A, Elainesanders B, Serotonin Receptor Signaling and Hallucinogenic Drug Action. **Heffter Rev Psychedelic Res** (2001) 73-79.
- [11] Cordell GA, pharmacology of Ibogaine and Ibogaine-related alkaloids. **The Alkaloids** 52 (1998) 197-231.
- [12] Efrain C, Azmitia P, Witaker A, Cell Biology and maturation of serotonergic system. **Neuroscience** 4 (2000) 557-560.
- [13] Garcia AMB, Martinez R, Effects of apomorphine on rat behavior in the elevated plus-maze. **Physiol & Behavior** 4 (2005) 440-447.
- [14] Handley SL, Meblane JW, An assessment of the elevated plus maze for studing anxiety and anxiety modulationg drugs. **Pharmacol Toxicol Meth** 29 (1993) 129-138.
- [15] Hillberp C, Hapillon P, Effect of harmaline on anxiety related behavior in mice. **Physiol Behav** 86 (2005) 164-167.
- [16] Kartal M, Altun ML, Kurucu S, Hplc method for the