



Effect of inhalation alcoholic extract of *Peganum harmala* on induction of anxiety like behavior in elevated plus-maze

Gholamhasan Vaezi¹, Shahrbanoo Oryan², Masoud Fereidoni³, Leila Etemadi^{1*}, Fereshte Manafi¹

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

2. Dept. of Biology, Tarbiyat Moalem Univ. Tehran, Iran

3. Dept. Biology, Ferdowsi Univ. of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

Introduction: Based on the extensive application of *Peganum harmala* (P.h) seeds in the Asian traditional medicine, we tried to investigate its possible anxiety effect.

Method: The effect of P.h. extract inhalation was evaluated in adult male rats using elevated plus-maze apparatus. The humidity of prepared ethanol extract was 37%. Animals in different groups (n=6) received 2, 4, 6, 12 or 18 gr/ml doses of the extract using Nebulizer. harmaline drug (0.13 gr/ml) was used as positive control drug.

Results: Compared with saline treated group, harmaline as the positive control significantly caused fear in rats as it was shown by increased time spent in closed arm of plus-maze ($p < 0.05$). Also, ethanol extract of P.h was able to show anxiety effect at doses 6, 12 and 18 mg/ml ($p < 0.05$).

Conclusion: Our data showed effective anxiety effect of ethanol extract of *Peganum harmala*. Its effect should be considered in the context of its extensive usage in the men daily life. More studies are required to elucidate its mechanism and site of action.

Keywords: *Peganum harmala*, Fear, Harmaline, Inhalation, Elevated Plus-Maze

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

اثر استنشاقی الکلویدهای عصاره الکی دانه اسپند بر بروز رفتار ترس در موش صحرائی بالغ نر با استفاده از مدل رفتاری ELEVATED PLUS- MAZE

غلامحسن واعظی^۱، شهربانو عریان^۲، مسعود فریدونی^۳، لیلا اعتمادی^{۱*}، فرشته منافی^۱
۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.
۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم تهران.
۳. گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد.
دریافت: مهر ۸۵ بازبینی: خرداد ۸۶ پذیرش: تیر ۸۶

چکیده

مقدمه: با توجه به کاربرد وسیع دانه گیاه اسپند (*Peganum harmala*) و تاثیر خلسه آور (*extatic*) و توهم انگیز (*hallucinogenic*) مصرف خوراکی و استنشاقی آن، تحقیق حاضر به ارزیابی اثر استنشاقی عصاره الکی دانه گیاه اسپند در بروز رفتار ترس در موش صحرائی بالغ نر میپردازد.
روش‌ها: جهت انجام آزمایشات مذکور درصد رطوبت عصاره مذکور ۳۷٪ تعیین گردید. هر یک از گروههای آزمایشی (n=6) توسط دستگاه نبولایزر (Nebulizer) برای مدت ۴۵ دقیقه در معرض استنشاق ترکیبات آزمایشی قرار گرفتند. از مدل رفتاری Elevated Plus-Maze برای ارزیابی رفتار ترس استفاده گردید. در تمام مقایسات سالیان بعنوان گروه کنترل و داروی هارمالین بعنوان گروه کنترل مثبت (۰/۱۳gr/ml) در نظر گرفته شد.
یافته‌ها: ارزیابی‌های رفتاری مبین این موضوع هستند که اثر استنشاقی دوزهای ۰/۱۸، ۰/۱۲، ۰/۰۶ با افزایش زمان اقامت در بازوی بسته نسبت به گروه کنترل در بروز رفتار ترس اختلاف معنی داری نشان دادند ($P < 0.05$). این در حالیست که عملکرد این دوزها در مقایسه با گروه کنترل مثبت فاقد اختلاف معنی دار بودند.
نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان میدهد که احتمالاً تجویز استنشاقی مقادیر بکارگرفته شده از عصاره الکی بذر اسپند میتواند مشابه با داروی هارمالین بعنوان یک ترکیب هالوسینوزن و توهم‌زا عمل کرده و با افزایش زمان اقامت در بازوی بسته سبب بروز رفتار ترس در موشهای صحرائی شوند. عمده‌ترین الکلویدهای موجود در عصاره، هارمالین است که می‌تواند اثر دانه اسپند در بروز رفتار ترس در مدل رفتاری Elevated Plus-Maze را توجیه نماید.

واژه‌های کلیدی: *Peganum harmala*، عصاره الکی، ترس، استنشاق، Elevated Plus-Maze.

مقدمه

فیزیکی بر جای بگذارد. اضطراب نیز یک علامت هشدار دهنده محسوب میگردد که خبر از خطری قریب‌الوقوع می‌دهد و موجود را برای مقابله با تهدید آماده می‌سازد. ترس پاسخ به خطر حاد و اضطراب پاسخ به خطر مزمن و بالقوه است [۱۰].
امروزه مناطق نورواناتومیکی مختلفی را برای بیان و کنترل اضطراب و رفتارهای مربوطه مورد ارزیابی قرار داده‌اند. از جمله مناطق مغزی که نزد بای در ارتباط ک سیستم بویایی قرار

ترس پاسخ روانی فیزیولوژیکی خاصی به یک خطر حاد است و شامل واکنش‌های اتونوم، نورواندوکرینی و رفتاری می‌باشد. ترس زیاده از حد می‌تواند خسارت‌های زیادی از نظر ذهنی و

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

* نویسنده مسئول مکاتبات:
وبگاه مجله:

می‌گیرند سیستم لیمبیک می‌باشد. ترکیبات شیمیایی خاصی در بروز رفتار ترس دخیل می‌باشند از جمله این ترکیبات آلکالوئیدها هستند [۱۰] گیاه اسپند از قدیم الایام در کشورهای چون هندوستان، مصر، ایران شناخته شده و مصرف دارویی و روان درمانی داشته است. در طب سنتی برای آن اثرات خواب‌آور، قاعده آور، اشتها آور، معرق، مخدر و ضد کرم قائل هستند [۲،۳].

مهمترین ترکیبات شیمیایی این گیاه آلکالوئیدهای آن می‌باشد. تاکنون ۱۲ نوع آلکالوئید در اسپند گزارش شده که مهمترین آن هارمالین، هارمین، هارمالول و پگائین است [۵]. اثر مهم آلکالوئیدهای اسپند در انسان روان‌گردانی است که ناشی از خواص مهارکنندگی MAO (Monoamino oxidase) آلکالوئیدهای بتاکربولین بر روی سیستم اعصاب مرکزی است [۳،۳۰]. در مورد هارمالین به عنوان یکی از بتاکربولینها اثبات شده که دارای خواص ایجادکننده افسردگی است [۲۰]. پژوهش حاضر اثر استنشاقی عصاره الکلی دانه اسپند بر روی رفتار ترس مورد بررسی قرار گرفت [۱۰].

مواد و روش‌ها

پس از جمع‌آوری بذر گیاه اسپند از کویر دامغان و تایید هرباریوم گیاه شناسی دانشگاه تهران (کد نمونه: ۱۸۱) gr ۴۰۰ از بذر جمع‌آوری شده را توزین کرده کاملاً شستشو داده و پس از خشک شدن آسیاب گردید. در ادامه به دانه آسیاب شده 1000 cc متانل تهیه شده از شرکت Merck اضافه نموده و به مدت یک ساعت درون بن‌ماری یا حمام بخار سانتی ۵۰ درجه گراد قرار می‌دهیم تا مواد مؤثر استخراج گردد و آلکالوئیدهای درون متانول حل شوند. برای استخراج کامل این عمل چهار بار و هر بار به مدت یک ساعت انجام گرفت. عصاره حاصل درون روتاری با دمای 60°C و دور ۹۰ قرار داده شد تا حلال آن کاملاً بیرون برود و یا به اصطلاح بپرد. سپس به عصاره خشک شده اسیدکلریدریک ۲٪ به میزان 1000cc اضافه گردیده و سپس صاف گردید. سپس به عصاره صاف شده را در دو مرحله با افزودن 4000cc پترولئوم اتر مجدداً فیلتریمینمائییم. پس از آن به محلول قطره قطره هیدروکسید آمونیوم (NH₄OH) اضافه گردید تا pH آن

به ۱۰ برسد و یا عبارتی محلول قلیایی گردد. به محلول بازی شده 1000cc کلروفروم اضافه گردید که این 1000cc در طی چهار مرحله و هر بار 250cc صورت گرفت، سپس لایه کلروفرومی توسط دستگاه روتاری تبخیر گردیده و خشک میگردد. به عصاره باقی مانده در مرحله نهایی 500cc متانول اضافه گردیده، محلول عصاره آلکالوئیدی از یک صافی ۰٫۴۵ میکرومتری گذر داده میشود تا در این مدت تمام حلال (متانول) تبخیر و کاملاً حذف گردد. به این ترتیب عصاره الکلی محتوی آلکالوئیدها از این دانه استخراج می‌گردد [۲۲].

در این تحقیق موش‌های صحرایی نر به وزن 200 ± 20 gr از انستیتو پاستور کرج خریداری و در حیوان‌خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان نگهداری گردید. در تمام مدت آزمایشات حیوانات تحت شرایط استاندارد (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و درجه حرارت $22 \pm 2^\circ\text{C}$ با آب شهری و غذای مخصوص تغذیه شدند.

دستگاه (Nebulizer, J-T Germany) یک وسیله پزشکی بوده که قادر به تغییر دادن یک دارو از شکل مایع به شکل غبار معلق (Aerosol) می‌باشد، غبار تولید شده می‌تواند با عمل دم به عمق شش‌ها برسد. قطعات این دستگاه تشکیل شده از یک پمپ خلاء یا Compressor که هوا به جریان درمی‌آورد. در محل دریچه ورودی هوا یک فیلتر سفید رنگی از جنس پلی‌اتیلن وجود دارد که اندازه منافذ آن ۵ میکرون میباشد و از ورود گرد و غبار موجود در هوا جلوگیری می‌کند. دریچه خروجی آن یک لوله پلاستیکی بطول ۱۰۰cm و قطر ۱cm مرتبط است که در انتهای لوله جزء اصلی دستگاه یعنی نبولایزر قرار دارد و تحت عنوان اتاقک دارو (Drug chamber) نیز معروف می‌باشد. با ورود هوا به نبولایزر مایع موجود در این ظرف بصورت ذرات بسیارریزی شبیه بخار آب درمی‌آید که از دهانه خارج می‌گردد. این دستگاه در هر دقیقه $0.2 \text{ ml}/\text{min}$ را از داروی مورد نظر با فشار $2/5 - 2/1$ بار اسپری می‌کند که در چنین شرایطی حدود ۸۰٪ ذرات قطری کمتر از یک میکرون دارند که در واقع اندازه ذرات بیرون آمده از این دستگاه دارای قطری در حدود 0.53 تا 1.3μ بوده‌اند [۴،۶].

اتاقک تنفسی برای آزمایشات استنشاقی بر روی حیوان مورد نظر یعنی موش صحرایی طراحی و ساخته شده است. جنس

اتاقک از شیشه به ضخامت ۱۰mm و ابعاد ۳۰×۳۰cm و به ارتفاع ۴۰cm که توسط چسب مخصوص آکواریوم کاملاً عایق‌بندی و محکم گردیده بود.

سوراخی به قطر ۱cm جهت قرار دادن شیلنگ مخصوص دهانه دستگاه نبولایزر تعبیه گردید. ضمناً برای کنترل حیوان در داخل اتاقک تنفسی، دو دریچه به قطر ۱۵cm در دیواره شیشه‌ای و روبروی هم تعبیه شده بود که از طریق دستکش حیوان کنترل می‌گردید. دقت در عایق‌بندی و جلوگیری از خروج هوا از این اتاقک از موارد بسیار مهم بود که بخوبی در نظر گرفته شده بود [۴].

حیوانات در گروه‌های سالیین (sham control) کنترل مثبت داروی هارمالین (۰/۱۳gr/ml) [۲۶،۲۰] و دوزهای (۲۶،۱۲،۱۸ gr/ml) [۳۴،۲۹] از عصاره حد فاصل ساعات ۳۰:۳۰ تا ۹:۳۰ در طول روز [۲۳] در نظر گرفته شد. در این هنگام موش‌ها تحت هیچگونه استرس محیطی (گرسنگی و ...) نبودند. پس از توزین حیوان از طریق یکی از دو دریچه بداخل اتاقک تنفسی منتقل می‌گردید. بلافاصله دستکشها در محل دریچه محکم بسته شده برای اطمینان از عدم خروج هوا دور تا دور دریچه مجدداً با چسب آکواریوم عایق‌بندی می‌شد سپس مقدار معینی از محلول آماده شده از عصاره دانه اسپند در محل مخصوص دارو (Drug chamber) ریخته، با روشن کردن دستگاه نبولایزر عمل اسپری انجام می‌گرفت. در تمام موارد این عمل به مدت ۱۵ دقیقه انجام می‌شد و در این مدت حیوان فرصت داشت تا از ذرات تولید شده استشاق نماید.

پس از آن دستگاه خاموش و حیوان به مدت ۱۵ دقیقه دیگر درون اتاقک تنفسی برای استشاق کامل باقی می‌ماند. پس از خروج حیوان از دستگاه برای حذف هرگونه استرس ناشی از قرار گرفتن در معرض اسپری، جانور به مدت ۵ دقیقه درون یک باکس معمولی قرار می‌گرفت و پس از سپری شدن این زمان جهت تسامت رفتاری در دستگاه Elveated plus-maze قرار می‌گرفت تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۶ در نظر گرفته شد [۹،۴].

برای سنجش 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 [۷].

ابعاد راهروی بازو و بسته ۵×۱۰cm بوده و دو طرف و انتهای راهروی بسته دیواره‌ای به بلندی ۴۰cm قرار دارد و برای جلوگیری از افتادن موش‌ها در دو طرف و انتهای راهروی بازو لبه‌ایی به ارتفاع ۱cm از جنس شیشه نصب گردید. چهار راهرو به یک محدوده مرکزی به ابعاد ۱۰×۱۰cm منتهی می‌شود که اصطلاحاً ناحیه خنثی یا بی‌طرف نامیده می‌شود. ماز توسط پایه‌هایی در ارتفاع ۵۰cm از سطح زمین قرار دارد. 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 ۱۰۰ ولتی که در ارتفاع ۱۲۰cm از مرکز ماز قرار داشت، تأمین می‌گردد. مدت ۵ دقیقه به حیوان اجازه داده می‌شود تا در قسمت‌های 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.

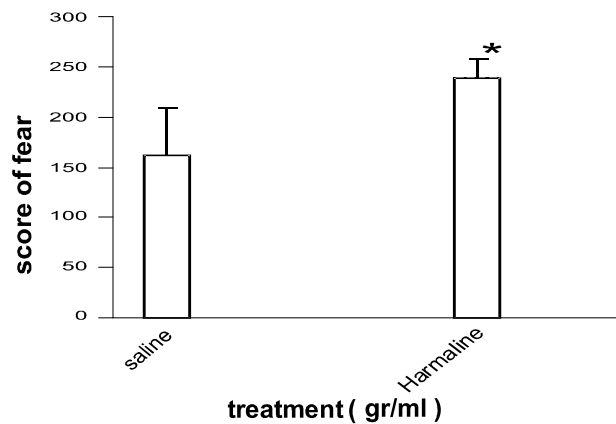
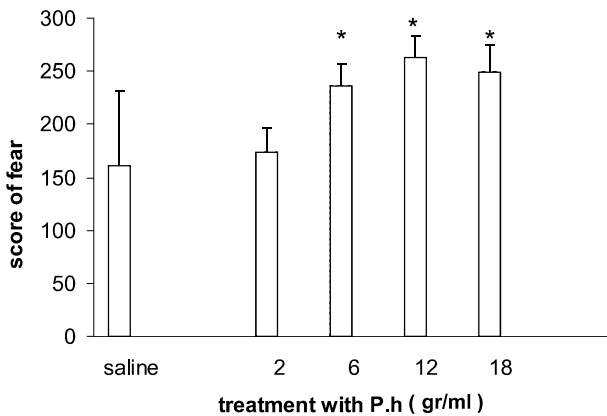
منظور از ورود به راهروی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر قرار می‌گیرد. زمان گذرانده شده در هر دو راهرو نیز بر همین اساس محاسبه شده است. برای هر حیوان درصد ورود به راهروی باز و درصد زمان گذرانده شده در راهروی باز به طریق زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد ورود به راهروی باز} = \frac{\text{تعداد ورود به راهروی باز}}{\text{تعداد ورود به راهروی باز} + \text{تعداد ورود به راهروی بسته}} \times 100$$

$$\text{درصد زمان گذرانده شده در} = \frac{\text{مدت زمان گذرانده شده در راهروی باز}}{\text{مدت زمان گذرانده شده در راهروی باز} + \text{مدت زمان گذرانده شده در راهروی بسته}} \times 100$$

در نهایت بر اساس مدت زمان سپری شده در هر بازو (بر اساس ثانیه) نیز میانگین و میزان حضور برای هر یک از گروهها محاسبه و نتایج ثبت گردید [۳۵،۲۴،۱۹].

در این پژوهش آنالیز آماری، با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آنالیز واریانس یکطرفه (One Way-Anova) و تست Tukey انجام گردند و در تمام موارد ($P < 0.05$) نشان دهنده سطح معنی‌داری بوده است. ($n \geq 6$)



نمودار ۲- بررسی عملکرد استنشاقی دوزهای مختلف عصاره الکی دانه اسپند (۱۸، ۱۲ و ۶ gr/ml) در مقایسه با گروه کنترل (Saline) در بازوی بسته در مدل رفتاری Elevated plus-maze. نتایج حاصله نشان داد که دوزهای (۱۸، ۱۲ و ۶ gr/ml) این عصاره قادر به بروز احتمالی رفتار ترس در مقایسه با گروه کنترل می‌باشند. احتمالاً حداقل دوز مؤثر بکار گرفته شده ۶ gr/ml می‌باشد، و دوزهای (۲ و ۴ gr/ml) تأثیر معنی‌داری با گروه شم ندارند. نتایج بصورت (میانگین \pm انحراف معیار) نشان داده شد. آنالیز آماری، با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آنالیز واریانس یکطرفه (One Way-Anova) و تست Tukey انجام گردید. در تمام موارد ($P < 0.05$) نشان دهنده سطح معنی‌داری بوده است ($n \geq 6$)

نمودار ۱- بررسی عملکرد استنشاقی داروی هارمالین بعنوان گروه کنترل مثبت با گروه کنترل (Saline) در بازوی بسته در مدل رفتاری Elevated Plus-maze. مطابق با نتایج حاصله داروی هارمالین (۰/۱۳ gr/ml) احتمالاً قادر است به صورت معنی‌داری سبب بروز رفتار ترس در مقایسه با گروه کنترل که تنها سالیین استنشاق نموده، باشد. نتایج بصورت (میانگین \pm انحراف معیار) نشان داده شد و آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آنالیز واریانس یکطرفه (one way-Anova) و تست Tukey انجام گردید. در تمام موارد* ($P < 0.05$) نشان دهنده سطح معنی‌داری بوده است ($n \geq 6$)

یافته‌ها

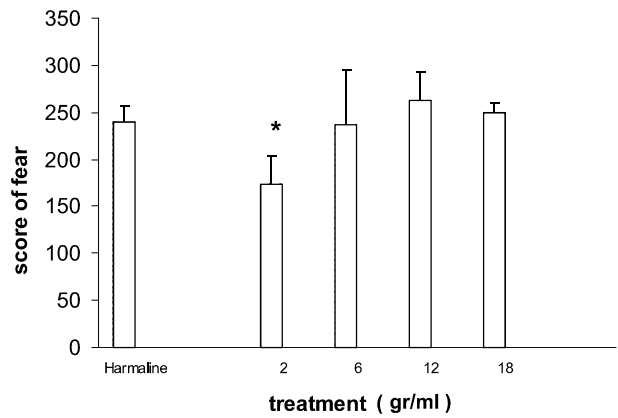
بحث

از قدیم‌الایام گیاه اسپند در بین ایرانیان و بسیاری از اراضی بایر شمال آفریقا، ترکیه، سوریه، هندوستان و مردم نواحی مدیترانه‌ای ارزش فوق‌العاده‌ای داشته است [۳۰، ۲۰، ۱]. این گیاه دارای خواص متعددی از جمله: مدر، محرک رحم، خواب‌آور و محرک جنسی بوده و در قدیم‌الایام مردم بعنوان یک باور از آن جهت جلوگیری از چشم زخم استفاده می‌کردند [۱۳]. دانه این گیاه محتوی آلکالوئیدهایی چون هارمالین، هارمین، هارمن و همچنین هارمالول می‌باشد [۳۷، ۲۲، ۱۳]. که این مواد بعنوان ترکیبات هالوسینوژن شناخته شده‌اند [۱۳، ۲] که در ایجاد توهم و ترس مؤثر می‌باشند [۱۳، ۲۲]. استفاده از هارمالین به میزان کم باعث تحریک مغزی گردیده ولی میزان زیاد آن افسردگی ایجاد می‌نماید [۲۲]. همانطور که گفته شد گیاه اسپند دارای ترکیبات متعددی چون آلکالوئیدهاست که از لحاظ ساختاری دارای حلقه اندولی (Indol) بوده و قادرند از سد خونی - مغزی عبور نمایند [۱۱]. بر اساس گزارشات موجود و کروماتوگرافی HPLC از عصاره، هارمالین، هامالول و هارمین بیشترین درصد آلکالوئیدهای موجود را به خود اختصاص داده است [۳۷، ۲۲، ۱۳].

نتایج حاصله از بررسی عملکرد استنشاقی ترکیب هارمالین در مقایسه با گروه کنترل نشان داد که ترکیب مذکور با افزایش زمان اقامت حیوان در بازوی بسته به صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) احتمالاً در بروز رفتار ترس مؤثر است (شکل ۱-۳). همچنین تجویز دوزهای (۱۸، ۱۲ و ۶ gr/ml) عصاره دانه اسپند در مقایسه با گروه کنترل (Saline) نشان داد که فاکتور مدت زمان اقامت در بازوی بسته در دوزهای (۱۸، ۱۲ و ۶ gr/ml) این عصاره به صورت معنی‌داری در افزایش این زمان مؤثر بوده ($p < 0.05$) و قادر به بروز احتمالی رفتار ترس در مقایسه با گروه کنترل می‌باشند (شکل ۲-۳). مطابق با نتایج حاصله دوزهای (۱۸، ۱۲ و ۶ gr/ml) این عصاره همانند گروه کنترل مثبت (۰/۱۳ gr/ml)، قادر به بروز احتمالی رفتار ترس بوده و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان نمیدهند ($p > 0.05$) پس از انجام آزمایشات نتایج حاصله نشان میدهد که بین هیچکدام از دوزهای تحت تیمار اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (شکل ۳-۳).

دارا بودن تشابه ساختاری با سروتونین، تمایل به اتصال با رسپتورهای 5-HT را دارد که در سطح غشاء نورونهای پس سیناپسی میباشند، و به این ترتیب سبب راه اندازی مکانیسم های آبخاری ارسال سیگنال درون سلولی می گردد [۱۲]. مطالعات انجام گرفته نشان داده که استنشاق هارمالین بر نواحی وسیعی از سیستم اعصاب مرکزی اثر داشته است که از آنجمله می توان نورون های تحت تأثیر سیستم بویایی را در سیستم لیمبیک، آمیگدال و entorhinalcortex، hippocampus و hypothalamus عنوان کرد. وقوع ابشارهای ارسال سیگنال درون سلولی در نواحی مذکور احتمالاً بواسطه رسپتورهای جفت شده با G پروتئین هاست که نتیجه آن افزایش cAMP درون سلولی و در نهایت دپلاریزه شدن نورون ها است [۲۸، ۲۷، ۱۸]. تحقیقات نشان داده که پدیده استنشاق باعث افزایش دما در ساختمانهای عصبی مرکزی که همجوار با Nasopharyngeal یعنی حلق و بینی هستند میشود که احتمالاً باعث ایجاد تغییرات عملکردی در ساقه مغز می گردد [۱۶] در توجیه رفتار ترس تعداد رسپتورهای 5-HT_{2A} و پراکنش آنها در نورون های سرتونرژیک پیش سیناپسی یا پس سیناپسی که درگیر می شوند هنوز مورد بررسی است، مطالعات نشان داده که اشغال رسپتور 5-HT_{2A} با داروی هارمالین، احتمالاً باعث بروز رفتار ترس می گردد. همچنین مشخص شده است که فعالیت گیرنده های مذکور قادر به تأثیرگذاری بر هسته رافه می باشد که بعضی از فعالیت های حرکتی حیوان را در رابطه با بروز رفتار ترس تحت تأثیر قرار داده است.

سیستم سروتونرژیک از طریق هسته رافه، بخش خلفی مغز از جمله مخچه را عصب دهی کرده و بر روی فعالیت های حرکتی تأثیر می گذارد [۱۸]. مطالعه روی داروهای روان گردان نشان داده که فعالیت شدید اندول آمین ها متابولیسیم قند را در دو ناحیه frontomedial و frontolateral و همچنین کورتکس Antrochyulat cortex (ACC) و کورتکس گیجگاهی افزایش می دهد [۱۸] هارمالین یکی از مهار کننده های آنزیم MAO می باشد، این آنزیم با سیستم دوپامینرژیک و سروتونرژیک مرتبط بوده و احتمالاً از سیستم های اصلی دخیل در بروز رفتار ترس می باشد [۳۲، ۳۱] مطابق با تحقیقات انجام شده، به دلیل تشابه



نمودار ۳- بررسی عملکرد استنشاقی دوزهای مختلف عصاره الکلی دانه اسپند (۱۸، ۱۲ و ۶ و ۲) در مقایسه با گروه کنترل مثبت (Harmaline) در بازوی بسته در مدل رفتاری Elevated plus-maze. مطابق با نتایج حاصله دوزهای (۱۸، ۱۲ و ۶) این عصاره همانند داروی هارمالین بعنوان گروه کنترل مثبت (۱۳/۰ gr/ml)، قادر به بروز احتمالی رفتار ترس می باشند. از آنجایی که اختلاف معنی داری بین گروه کنترل مثبت با دوزهای مؤثر وجود ندارد احتمالاً این عملکرد یکسان می باشد. نتایج بصورت (میانگین ± انحراف معیار) نشان داده شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و آنالیز واریانس یکطرفه (One Way-Anova) و تست Tukey انجام گرفت. در تمام موارد ($P < 0.05$) نشان دهنده، سطح معنی داری بوده است ($n = 36$)

مطابق با تحقیقات صورت گرفته گزارش شده که داروی هارمالین توانایی ایجاد ترس را در نمونه های مورد بررسی دارا می باشد [۳۶، ۳۳]. در تحقیق حاضر به بررسی اثر عصاره دانه اسپند و هارمالین در بروز رفتار ترس به روش استنشاقی در رت های نر بالغ نژاد ویستار پرداخته شد. برای بررسی رفتار ترس هر نمونه بدنبال استنشاق عصاره دانه اسپند درون اتاقک تنفسی (Respiratory chamber) توسط دستگاه نبولایزر داخل دستگاه Elevated plus-maze قرار گرفت [۱۷، ۴].

اختلاف معنی دار مشاهده میان دوزهای ۱۸، ۱۲ و ۶ با گروه شم کنترل (Saline) ($p < 0.05$) برای زمان اقامت در بازوی بسته بعنوان یکی از رفتارهای احتمالی بروز ترس [۱۹] می باشند که این رفتار موید مؤثر بودن احتمالی عملکرد عصاره است.

بررسی مقایسه ای دوز ۱۲ gr/ml در مقایسه با گروه کنترل مثبت اختلاف معنی داری را در هیچیک از شاخص های رفتاری مورد بررسی نشان نداد که نشان دهنده عملکرد احتمالی یکسان عصاره با هارمالین در بروز رفتار ترس می باشد [۳۳] (شکل ۳-۳). گزارش شده که هارمالین بدلیل

- [5] Aarons DH, Rossi GV, Orzechowski RH, Cardiovascular actions of three harmala alkaloids: harmine, harmaline and harmalol. *Pharmacol Sci* 66 (1997) 1244-1248.
- [6] Alam F, Brownand J, Pickrell A, Chamber for testing metered-Dose proplent-driven aerosols of immunologically relevant proteins. *Immunol Meth* 176 (1994) 203-212.
- [7] Angnostaras S, Fear conditioning. *Neurosci* 3 (2004) 55-59.
- [8] Annpharm FR, Experimental Toxicity of Peganum harmala. *Neurosci Biobehav Rev* 60 (2002) 123-129.
- [9] Balay AT, Repomem M, Podgorski TT, Zimmer A, Grinshpum SA, Mamikim-Based performance Evaluation of NG-5 filtering-Facepiece Kespriators Challengd with Namoparticles. *Ann Occup Hyg* 12 (2005) 32-36.
- [10] Boissy A, Fear and fearfulness in animals. *Q Rev Biol* 70 (1995) 165-191.
- [11] Bride MC, Bufotenine toward an understanding of possible pychoactive mechanisms. *Psychoactive Drug* 32 (2000) 321-31.
- [12] Charles D, Nichols, Elaine SB, Serotonin receptor signaling and Hallucinogenic drug action. *The After Rev Psycholeptic* 2 (2001) 73-80.
- [13] Dennis J, Mckenna M, Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasesca: rationale and regulatory challenges. *Pharmacol Therapeut* 111 (2004) 111-129.
- [14] Dunn AJ, Muglia LJ, Dikkes P, Miczek KA, Swiergiel AH, Berridge CW, Majzoub JA, Stress-induced behavior require the corticotrophin-releasing hormone (CRH) receptor, but not CRH. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 (1999) 8283-8.
- [15] Glasloy Js, Encyclopedia of alkaloids. *Ethnopharmacol* 20 (1983) 658-661.
- [16] Gong F, Shiraishi HK, Hoshina M, Ichihashi K, Sato Y, Mombi MY, Inhalation of nebulized Nitroglycerinindogy with experimental. Pulmonary hypertension induced by GF 6619. *Pediatr Znt* 42 (2000) 255-258.
- [17] Gong F, Shiraishi H, Kikuchi Y, Hoshina M, Ichihashi K, Sat Y, Momoi MY, Inhalation of nebulized nitroglycerin in dogs with experimental pulmonary by pertension induced by U 46619. *Podiatier Int* 42 (2000) 255-258.

ساختمان مولکولی ترکیب هارمالین و هارمن و دیگر آلکالوئیدهای مشابه با آنها با ترکیب سروتونین، این ترکیبات تمایل زیادی برای اتصال به گیرنده‌های سروتونرژیک دارا میباشند که احتمالاً می‌توانند بعنوان ترکیبات رقابتی برای اشغال جایگاههای عمل با سروتونین محسوب گردند [۱۸]. در پژوهش حاضر نشان داده شد که در مقایسه نتایج حاصل از تجویز مقادیر مختلف عصاره الکلی دانه اسپند در گروه‌های تجربی، اختلاف معنی‌داری بین هیچکدام از دوزهای 18 و 6 و 12 بکار گرفته شده وجود ندارد، در این رابطه می‌توان عنوان کرد که احتمالاً تأثیر عصاره در محدوده دوزهای بکارگرفته در افزایش زمان اقامت در بازوی بسته و بروز رفتار ترس، بصورت وابسته به دوز نبوده و عوامل دیگری بر افزوده شدن شدت اثر عصاره روی رفتار ترس موثرند (شکل ۳-۴) [۲۱]. شاید بتوان بروز پدیده سازگاری نورونی را در اینجا مطرح نمود، چنانکه گزارش شده نورونهای بویایی نیز مانند سایر سلول‌های عصبی پس از قرارگیری در معرض تحریک مداوم پدیده سازگاری نورونی را از خود بروز میدهند [۲۵].

نهایتاً مطابق با شواهد حاصل از این پژوهش اثر استنشاقی ترکیبات موجود در عصاره الکلی دانه اسپند از جمله هارمالین در بروز احتمالی رفتار ترس قابل طرح می‌باشد که در این زمینه لزوم تحقیقات بیشتر قطعی است. بر اساس گزارشات حاضر و نتایج این تحقیق احتمالاً تأثیر سیستم سروتونرژیک در این میان نسبت به سایر سیستم‌های عصبی دخیل بارزتر می‌باشد که اثبات این موضوع نیز نیازمند بررسی‌های مفصل‌تری می‌باشد.

منابع

- [۱] حاجی آخوندی عباس، استخراج «آلکالوئیدهای پگانوم‌هارمالا و بررسی اثرات ضد تیلریا. پایان نامه دکتری داروسازی، تهران: دانشکده داروسازی، دانشگاه تهران، ۱۳۶۶.
- [۲] زرگری علی، گیاهان دارویی، جلد اول، تهران، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران ۱۳۷۶، صفحات ۶۰۷ تا ۶۰۵.
- [۳] صمصام شریعت هادی، معطر فریزرز، گیاهان و داروهای طبیعی، تهران، انتشارات امیر کبیر، ۱۳۶۹، صفحات ۱۲۸ تا ۱۲۶.
- [۴] واعظی غلامحسن، تأثیر اتروتوکسین B استافیلوکوکی (SEB) بر ریه میمون گریوتس. پایان نامه دکتری، تهران: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، ۱۳۷۳.

- cyclic C-amin the cerebellum. *Neuropharmacology* 30 (1991) 567-573.
- [29] Saano V, Tacke U, Sopenan L, Airaksine MM, Tofizopam enhances the action of diazepam against tremor and convulsions. *Med Biol* 61 (1983) 49-53.
- [30] Sharaf EL, Ansari MA, Martin four flavonoid glycosides from peganum harmala. *Phytochemistry* 44 (1997) 533-536.
- [31] Suvage C, Curet O, Damoiseau BJ, Bcatton B, Autoradiographic distribution of [3H]-befloxatone, a selective and reversible MAO-A inhibitor in the rat brain. *Biol Psychiat* 42 (1997) 36-38.
- [32] Suzuki T, Ishigooka J, Watanabe S, Miyoka H, Enhancement of delayed release of dopamine in the amygdale induced by conditioned fear stress in methamphetamine sensitized rats. *Pharmacology* 435 (1) (2000) 59-65.
- [33] Takahashi H, Fear-Induced Hallucination: How sleep paralysis triggers Hallucination. *Biology* 227 (2000) 169-172.
- [34] Mailner TE, Cadoret G, Lessard L, Smith AM, EMG Analysis of Harmaline-Induced tremor in normal and three strain of mutant mice with purkinje cell degraation and the role of the inferior olive. *Neurophyschiatric* 73 (1995) 2568-2578.
- [35] Wall PM, Messier C, Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neurosci Biobehav* 25 (2001) 275-286.
- [36] Winkelman M, Andritsky W, Sacred plants consciousness and healing cross cultural. *Medicine Psycho* 5 (1995) 50-53.
- [37] Winkelmn W, Ritsky M, Psychokinetic grater plants: their roles in human culture. Consciousness and health. *Cosmic Play* 1(1995) 50-53.
- [18] Gresch PJ, Strickland LV, Sanders BE, Lysergic acid diethylamid-induced fos expression in rat brain: Role of serotonin-2A receptors. *Neurosci* 114 (2000) 707-713.
- [19] 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.
- [20] Hillberp C, Hapillon P, Effect of harmaline on anxiety related behavior in mice. *Physiol Behav* 86 (2005) 164-167.
- [21] John A, Stanforda SC, Fowler AB, At low doses harmaline increases forelimb tremor in the rat. *Neurosci* 241(1998) 41-44.
- [22] Kartal M, Altun ML, Kurucu S, HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of peganum harmalol. *Sci Behav* 31 (2002) 263-269.
- [23] 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.
- [24] Lister RG, The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology* 3 (1987) 180-185.
- [25] Marieb EN, editor. *Human Anatomy & Physiology*. 5th ed. Benjamin Cummings, 2001, p. 561-564.
- [26] Mohsef HR, Ghobadi A, Iran shahi M, Abdollahi M, Antinoceptive effects of peganum harmala alkaloid extract on mouse fromaline test. *Pharm Pharmacol Sci* 1 (2004) 65-69.
- [27] Piacentini MP, Piatti E, Franternale D, Ricci D, Albertinin MC, Accorsi A, Phospholipase C-dependent phosphoinositide break down induced by E1F-EMP in peganum harmala Call. *Biochemistry* 5 (2004) 343-349.
- [28] Rao TS, Cler JA, Mick SJ, Iyenger S, Wood PL, Polyamines modulate events mediated N-methyl-Daspartate (NMDA) receptor complex through anti-fenproied (insensitive path way; in vitro measurments of