

مقاله کوتاه

## بررسی اثر عصاره اتانولی اسپند بر اضطراب در موش سوری

• کیمیا توکلی حقیقی

دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.

• سکینه اسدزاده (نویسنده مسئول)

گروه علوم دامی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱-۱۲-۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲-۰۴-۱۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲-۰۴-۱۰ تاریخ انتشار: ۱۴۰۳-۰۱-۱۹

Email: asadzadeh80@gmail.com



### چکیده

اضطراب کمبود شایع و اختلال روانی است که می‌تواند در فیزیولوژی سیستم عصبی موثر باشد. طب گیاهی و مکمل در میان افرادی که از اختلالات اضطراب رنج می‌برند، کاربرد وسیعی دارند. اثر مفید گیاه اسپند برای درمان بیماری‌های عصبی مختلف پیشنهاد شده است. در مطالعه حاضر اثر عصاره اتانولی اسپند بر رفتار اضطرابی در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت. ۳۶ سر موش سوری نر به وزن تقریبی ۳۰ تا ۳۵ گرم به طور تصادفی در ۶ گروه شامل گروه کنترل (نرمال سالین)، گروه دریافت کننده دیازپام و گروه‌های دریافت کننده عصاره (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) مورد بررسی قرار گرفت. دارو و عصاره‌ها بطور داخل صفاقی تزریق شدند. اثر عصاره اتانولی اسپند ۳۰ دقیقه بعد از تزریق با استفاده از ماز بعلاوه‌ای مرتفع به مدت ۳۰۰ ثانیه مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های حاصله توسط نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس و دانکن تجزیه و تحلیل شد. نتایج نشان داد که عصاره اتانولی اسپند در دوز ۱۰۰ mg/kg بطور معنی‌داری سبب افزایش مدت زمان حضور حیوان در بازوی باز و افزایش درصد نسبت تعداد ورود به بازوی باز بر تعداد دفعات ورود به کل بازوها شد که نشان دهنده کاهش اضطراب می‌باشد این اثر این اثر احتمالاً بواسطه دارا بودن ترکیبات بتاکربولینی می‌باشد که بطور قوی سبب مهار آنزیم منو آمینو اکسیداز می‌شود.

کلمات کلیدی: اسپند، رفتار اضطرابی، عصاره اتانولی، گیاهان دارویی

- Veterinary Research & Biological Products No 142 pp: 27-33

### Evaluation of ethanolic extract of peganum Harmala on anxiety in mice

By: Tavakkoli Haghghi, K., and Asadzadeh, S., (Corresponding Author) .

Received: 2023-03-18 Accepted: 2023-07-01

Revised: 2023-07-01 Published: 2024-04-07

Email: asadzadeh80@gmail.com

Anxiety is as a common disorder and can affect neural system. Herbal medicine and complementary medicine have wide spread usage among individuals with anxiety disorders. The benefit effect of peganum Harmala is proposed for treatment of variousin neurological disease . In the present study the effect of ethanolic extract of peganum Harmala on anxiety behavior was evaluated in adult male mice. In this experimental study 36 male mice weighing approximately 30 to 35 were studied in sex treatments groups including control, diazepam, 100, 200, 300 and 400 mg/kg of peganum Harmala hydro- alcoholic extract . Drug and extracts were injected IP.30 minutes after treatment , anxiolytic effect of ethanolic extract was Elevated Plus Maz during 300 s. Obtained data were analyzed with ANOVA and DUNCAN Test. The results showed that the ethanolic extract in 100mg/kg dose increased significantly the time of presence in Open arms ( $p < 0/05$ ) and ratio of open arm entries to whole arms entries (% OAE ) significantly which shows anxiety reduction. According to results , ethanolic extract of peganum Harmala in 100mg/kg dose has anxiolytic effect in mice and the effect may be related to Beta- carbolines present in extract that strongly inhibit monoamine oxidase enzyme.

**Key words:** Anxiety behavior, Ethanolic extract, Herbal Medicine, Peganum Harmala

داروهای هپتوتیک نسل جدید مانند بوسپیرون هستند. از متداولترین دسته‌های دارویی استفاده شده جهت درمان اضطراب بنزودیازپین‌ها هستند که با اتصال به رسپتورهای خود در محل رسپتور گابا سبب تسهیل ورود یون کلر و ایجاد هیپرپلاریزاسیون در سلول می‌شوند و به دنبال آن دپولاریزاسیون در پتانسیل عمل نورونها کاهش می‌یابد و اثرات تحریکی در نورون سرکوب می‌شود و این امر سبب بروز اثرات ضد تشنجی و آرام بخشی و ضد اضطرابی می‌گردد (۱۶). استفاده از بنزودیازپین‌ها به دلیل داشتن عوارض جانبی همانند اختلالات روان پزشکی، واکنش‌های آلرژیک، گیجی، خواب آلودگی، خستگی، حالت تهوع، ضعف‌های عضلانی، تغییر در وزن، اعتیاد آوری و همچنین علایم قطع مصرف دارو در قطع ناگهانی مصرف اشاره کرد (۱۳) از این رو مطالعه و تحقیق برای یافتن داروهای موثر با عوارض جانبی کمتر همچنان ادامه دارد. با توجه به آنکه مواد موثره موجود در گیاهان دارویی به دلیل همراه بودن با دیگر مواد از یک تعادل بیولوژیکی برخوردار بوده و در بدن انباشته نمی‌شود و فاقد عوارض جانی یا دارای عوارض جانی کمتری هستند و به نظر می‌رسد نسبت به داروهای شیمیایی برتری دارند (۴). استفاده از گیاهان دارویی در کاهش اضطراب از قدیم مرسوم بوده است. یکی از گیاهان دارویی که در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد، گیاه اسپند با نام علمی *Peganum Harmala* از خانواده زیگوفیلاسه می‌باشد. گیاه اسپند از گذشته‌های دور در کشورهایی مانند هندوستان، ایران و مصر شناخته شده و مصرف دارویی و روان درمانی داشته است. در طب سنتی این گیاه دارای اثرات

### مقدمه

اضطراب یکی از شایع‌ترین اختلالات روانی می‌باشد. اضطراب با علائم جسمی و نشانه‌های بالینی مانند تکیکاردی، سرگیجه، تهوع یا استفراغ، اختلال در تنفس بطور کلی علائم تحریک سمپاتیک بروز می‌کند. این علائم به علت درگیری واکنش‌های هورمونی، عضلانی و سیستم قلبی - عروقی در واکنش جنگ و گریز می‌باشد. در بروز اختلالات اضطرابی عوامل عصبی و هورمونی متعددی همانند گاما آمینو بوتیریک اسید، نوراپی نفرین، سروتونین، دوپامین، کوله سیستوکینین، فاکتور آزادکننده کورتیکو ترپین، هورمون محرک ملانوسیت، نوروپپتیدها، نورواستروئیدها نقش دارند. بخش‌هایی از مغز مانند آمیگدال، لوکوس سرونوس، هیپوتالاموس، هیپوکامپ، هسته رافه در کنترل این حالت روانی نقش دارند. نوروترانسمیتر گابا مهم‌ترین نوروترانسمیتر مهاری مغز است و نقش بسیار مهمی در تعدیل اضطراب دارد و به طوری که فعال شدن آن سبب بهبود اختلالات اضطرابی می‌شود (۱۰). امروزه تعداد زیادی از افراد جامعه به دلیل مسایل و مشکلات متعدد دچار اضطراب می‌شوند که در صورت تداوم می‌تواند سبب بروز اختلالاتی در زندگی طبیعی افراد شود. شیوع این مشکل به حدی است که تعداد زیادی از افراد جامعه بطور مداوم از انواع داروهای ضد اضطراب استفاده می‌کنند. با توجه به آنکه اضطراب انواع مختلفی دارد لذا از دسته‌های دارویی مختلفی جهت درمان آن استفاده می‌شود. داروهای ضد اضطراب شامل بنزودیازپین‌ها

مورد استفاده قرار می‌گرفت. ۱۰ روز پس از عادت‌پذیری به محیط جدید، حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل (نرمال سالیین دریافت کردند)، گروه دیازپام و گروه‌های تجربی که عصاره اتانولی را با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. موش‌های هر گروه با رنگ‌آمیزی دم به رنگ‌های مشکی، قرمز، سبز، آبی، بنفش و بی‌رنگ مشخص شدند. تمام آزمایشات موجود در این مطالعه مطابق پروتکل‌های اخلاقی تأیید شده دانشگاه انجام شد. برای ارزیابی اضطراب از دستگاهی به نام ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع که یک مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب می‌باشد، استفاده شد. این دستگاه شامل دو بازوی باز و دو بازوی بسته است. طول و عرض هر دو بازوی باز و بسته به ترتیب ۵۰ و ۱۰ سانتی‌متر است که در مقابل هم قرار دارند و است که بوسیله یک صفحه مرکزی (۱۰×۱۰) سانتی متر با هم در ارتباطند. این وسیله در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر از سطح زمین قرار می‌گیرد. این مدل سنجش اضطراب تجربی بوده و این مدل سنجش اضطراب تجربی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد (۱۴). اساس این ارزیابی در این آزمون بر پایه غریزه و حس جستجوگرانه چونندگان طراحی شده است. در زمان آزمایش، موش به آرامی و با احتیاط بر روی بخش مرکزی دستگاه به طوری که سر موش به طرف بازوی باز باشد قرار می‌گرفت و به مدت ۵ دقیقه تعداد حرکات رفت و برگشت به داخل بازوها ثبت می‌شد. پارامترهایی که اندازه‌گیری شد، شامل تعداد دفعاتی که حیوان وارد باز می‌شود، تعداد دفعاتی که حیوان وارد بازوی بسته می‌شود، مدت زمانی که حیوان در بازوهای باز و بسته باقی می‌ماند. برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز (Open Arm Entries (% OAE)) و درصد زمان ماندن در بازوی باز (Open Arm Times (% OAT)) به عنوان عوامل استاندارد ارزیابی اضطراب به این صورت محاسبه شدند:

$$OAT \% = \frac{\text{زمان ورود به بازوی باز}}{\text{کل زمان ورود به کل بازوها}} \times 100$$

$OAE \% = \frac{\text{دفعات ورود به بتزوی باز تقسیم بر کل دفعات ورود به بازوها}}{100} \times$  داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS به روش آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی دانکن آنالیز شد. مرز استنتاج آماری  $P < 0.05$  بود.

#### تعیین سمیت حاد (LD<sub>50</sub>) عصاره

تشخیص سمیت حاد ترکیبات مختلف و ناشناخته با استفاده از میزان LD<sub>50</sub> آنها مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. در واقع LD<sub>50</sub> یک شاخص مهم به منظور تشخیص حداقل دوز مجاز به منظور کشتن ۵۰ درصد از حیوانات است. تعیین سمیت حاد بر اساس مدل آزمایشگاهی قبلی انجام شد. (۱۷) پس از تزریق دوزهای ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰، ۱۶۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره میزان LD<sub>50</sub> تا ۷۲ ساعت بعد از تزریق شمارش شد.

#### نتایج و بحث

نتایج حاصل از انجام آزمایش شامل زمان سپری شده در بازوی باز، زمان سپری شده در بازوی بسته و درصد ورود به بازوی باز در گروه‌های مختلف تیماری اندازه‌گیری شده و پس از انجام آنالیز آماری مورد بررسی

قاعده‌آور، اشتها‌آور، ضد کرم، خواب‌آور، معرق و مخدر می‌باشد (۱۵). پنج مشتق آلکالوئیدی با ساختمان ایندول در این گیاه وجود دارد که به بتاکربولین‌ها معروف هستند و شامل هارمین، نورهارمان، هارمالین، هارمالول پگانتین می‌باشد (۱). بتا کربولین‌ها در جایگاه گیرنده‌های گابا به عنوان آگونیست معکوس وارد عمل می‌شوند و طیف وسیعی از اثرات معکوس بنزودیازپین‌ها را ایجاد می‌کنند که مهم‌ترین آن‌ها، تحریک سیستم عصب مرکزی و تشنج است. اثر مهم آلکالوئیدهای اسپند در انسان خاصیت روان‌گردانی است که این اثر ناشی از خواص مهارکنندگی مونو آمینو اکسیداز آلکالوئیدهای بتاکربولین بر روی سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد (۹). هارمن بر روی انواع سیستم‌های گیرنده در مغز پستانداران از جمله سیستم‌های سروتونین، دوپامین و بنزودیازپین‌ها عمل می‌کند. در یک مطالعه، اثرات آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامین D<sub>1</sub> و D<sub>2</sub> بر فراموشی ناشی از هارمن و رفتارهای اکتشافی در موش‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تجویز داخل صفاقی هارمن بلافاصله پس از آموزش باعث کاهش تثبیت حافظه شد، در حالی که هیچ تاثیری بر رفتار شبه اضطرابی نداشت. در مجموع، این یافته‌ها به شدت نشان‌دهنده دخالت تعدیل گیرنده‌های D<sub>1</sub> و D<sub>2</sub> در اختلال تثبیت حافظه ناشی از هارمن است. بر اساس کاربرد گسترده دانه‌های اسپند در طب سنتی آسیا در مطالعه‌ای اثر استنشاق عصاره اسپند در موش صحرایی نر بالغ با استفاده از ماز بعلاوه‌ای مرتفع مورد بررسی قرار گرفت و نتایج یافته‌ها نشان داد که در مقایسه با گروه تیمار شده با سالیین، هارمالین به عنوان کنترل مثبت به طور معنی‌داری باعث ایجاد ترس در موش‌ها شد (۶). با توجه به اهمیت گیاه اسپند در طب سنتی و مکمل و از آنجایی که تاکنون مطالعات کمی در مورد اثر ضد اضطرابی این گیاه صورت گرفته است، این پژوهش به منظور بررسی اثر عصاره اتانولی دانه اسپند بر رفتار اضطرابی در موش سوری انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر، ابتدا دانه‌های اسپند از عطاری شهرستان ساری خریداری شد. دانه‌ها توسط آسیاب مکانیکی پودر شده و پودر حاصل به داخل ارلن مایر ریخته و به ازای هر گرم پودر، ۱۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۹۶ درجه به آن اضافه شد. پس از گذشت سه روز، مخلوط حاصل با گذراندن از پارچه تمیز توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی، صاف شد. سپس توسط دستگاه روتاری در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد عصاره حاصله تغلیظ شد. محلول غلیظ حاصله داخل پلیت شیشه‌ای ریخته شد و برای تبخیر کامل حلال در بن ماری با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پودر عصاره در نرمال سالیین ۹۰٪ محلول شدند. بلافاصله قبل از شروع آزمایش، تمام محلول‌های دارویی تهیه شده و به روش داخل صفاقی با دوز مشخص تزریق می‌شدند. این مطالعه از نوع تجربی بوده که در آن از ۳۶ سر موش سوری نر با وزن  $5 \pm 30$  گرم که از انستیتو پاستور آمل خریداری شده بود، استفاده شد. در طول دوره آزمایش حیوانات در اتاقی تحت شرایط سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته و درجه حرارت مطلوب کنترل شده ( $22 \pm 2$ ) درجه سانتی‌گراد) و رطوبت نسبی بین ۴۰ تا ۶۰ درصد، با مصرف ازاد غذا-آب نگهداری می‌شدند. همچنین کلیه تست‌ها از ۸ صبح الی ۲ بعد از ظهر انجام شد. هر حیوان یکبار

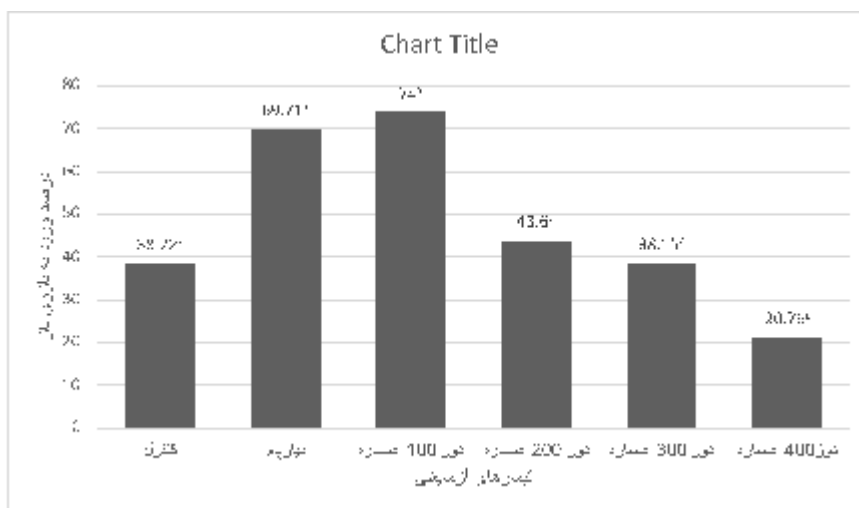
باز مربوط به گروهی بود که دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را دریافت کردند و کمترین درصد ورود نیز مربوط به گروهی بود که دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی را ۳۰ دقیق قبل از آزمون دریافت نمودند. داده‌های بدست آمده به صورت نمودار در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج مربوط به تعیین سمیت حاد عصاره یا LD<sub>50</sub> در جدول ۲ نشان داده شده است و با توجه به داده‌های حاصله LD<sub>50</sub> برابر با ۱۲۵۰ می‌باشد. ضطراب یک مکانیسم سازشی مهم حیاتی برای موجود زنده محسوب می‌شود و در حالی که میزان اضطراب زیاد باشد از نظر کلینیکی اغلب به شکل کمبودهای مجزا ارائه می‌شود که بسیار معمول بوده و اکثراً با سایر بیماری‌های پزشکی و روانی مشاهده می‌شود (۱۱). امروزه استفاده از گیاهان دارویی جهت مصارف پزشکی با استقبال زیادی رو به رو شده است. در همین راستا

قرار گرفت. جدول ۱ نشان‌دهنده نتایج حاصل از این تحقیق است. نتایج حاضر نشان می‌دهد که تزریق عصاره اتانولی اسپند در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در موش ۳۰ دقیقه قبل از آزمون به صورت داخل صفاقی سبب افزایش مدت زمان سپری شده حیوان در بازوهای باز ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع در مقایسه با سایر گروه‌ها شد. (P<۰/۰۵) داده‌های مربوط به مدت زمان سپری شده در بازوی بسته نشان داد که در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیشترین زمان سپری شده در بازوی بسته مشاهده شد که در مقایسه با سایر گروه‌ها معنی‌دار بود. (P<۰/۰۵) در دوز ۱۰۰ عصاره کمترین زمان سپری شده در بازوی بسته مشاهده شد که در مقایسه با گروه‌های دیگر معنی‌دار بود. (P<۰/۰۵) در ارتباط با درصد ورود به بازوی باز نیز نتایج مقایسه گروه‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار بوده به طوری که بیشترین درصد ورود به بازوی

جدول ۱ - میانگین و انحراف معیار حاصل از اثر سطوح مختلف عصاره اتانولی اسپند بر اضطراب در موش سوری.

گروه های مورد آزمایش	زمان سپری شده در بازوی باز	زمان سپری شده در بازوی بسته	درصد ورود به بازوی باز
کنترل	۷۷/۶۶±۲/۲۶ cc	۲۱۷/۳۳±۱/۷۴ b	۳۸/۲۲±۵/۴۸ b
دیازپام	۱۳۶/۱۶±۲/۷۹ a	۱۶۰/۶۶±۲/۶۴ d	۶۹/۷۱±۴/۴۷ a
عصاره اسپند ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو متر	۱۰۳/۳۳±۳/۴۱ b	۱۹۲/۸۳±۴/۴۲ c	۷۴±۱۱/۲۷ a
عصاره اسپند ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو متر	۶۳/۳۳±۵/۰۴ d	۲۲۴/۸۳±۸/۸۶ b	۴۳/۶۰±۶/۸۲ b
عصاره اسپند ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو متر	۵۹±۴/۳۱ d	۲۲۷/۱۶±۲/۶۴ b	۴۳/۶۰±۶/۸۲ b
عصاره اسپند ۴۰۰ میلی گرم بر کیلو متر	۳۵/۳۳±۳/۱۷ e	۲۵۰/۵۰±۲/۴۰ a	۲۰/۷۶±۹ c

حروف انگلیسی نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

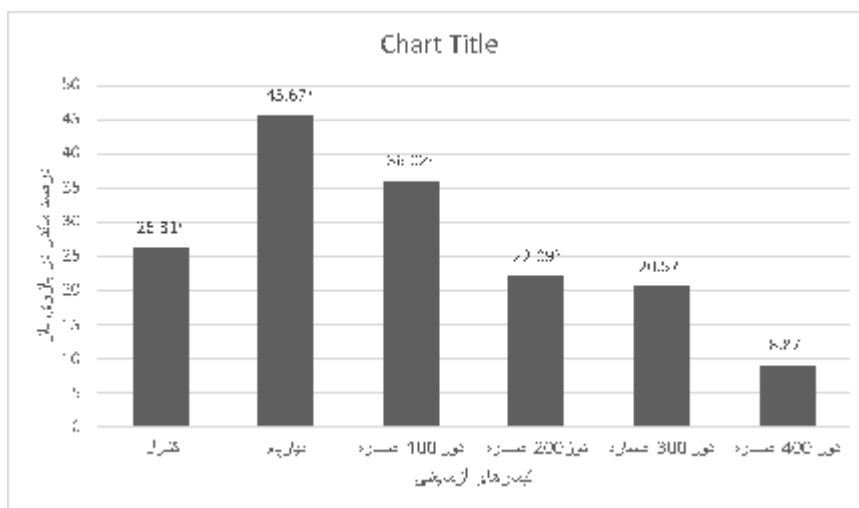


در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه اختلاف آماری معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

شکل ۱ - اثر سطوح مختلف عصاره اسپند بر درصد ورود به بازوی باز ماز مرتفع بعلاوه در موش سوری.

ضد افسردگی اسپند و آلکالوئیدهای مشتق از آن مطالعات مختلفی انجام گرفته است که نتایج گوناگونی را در بر داشته‌اند. مطالعات روی حیوانات نشان داده است که برخی بتا کربولین‌ها دارای اثر اضطرابی در جوندگان هستند. بتا کربولین‌ها با میل زیاد به گیرنده‌های گابا به عنوان آگونیست معکوس متصل می‌شوند. برخی دارای خواص اضطرابی هستند و برخی دیگر بسته به دوز، به صورت ضد اضطراب عمل می‌کنند. این آلکالوئیدها میزان نور اپی نفرین، دوپامین و ۵- هیدروکسی تریپتامین (۵-HT) خارج سلولی را در چندین ناحیه مغز با اثر مهار بر سیستم‌های بازجذب مونوآمین افزایش می‌دهند. سطح مونوآمین‌ها را پس از مهار مونوآمین اکسیداز A (MAO) یا B افزایش می‌دهد. این نتایج نقش احتمالی بتا-کربولین‌ها را در کنترل افسردگی نشان می‌دهد (۷). در مطالعه‌ای تجویز داخل صفاقی ایمی پرامین، هارمان و سالین بر افسردگی و اضطراب رت در تست‌های شنای اجباری و ماز استفاده شد. در مقایسه با گروه سالین، حیواناتی که هارمان دریافت کرده بودند مدت اقامت بیشتری در بازوی

تحقیقات خواص بیولوژیک و فارماکولوژیک متعددی برای گیاه اسپند با نام علمی قید کرده‌اند. نشان داده شده است که آلکالوئیدهای هارمین مشتق از دانه اسپند اثرات محافظتی بر سیستم نورولوژیک حیوانات با نقص شناختی می‌گذارد. این ماده موثره، اثر مهار مونوآمین اکسیداز A را مهار کرده، بنابراین متابولیسم اپی نفرین، ۵ هیدروکسی تریپتوفان و سایر مونوآمین‌ها را کاهش می‌دهد و به طور غیر مستقیم عملکرد این انتقال دهنده‌های عصبی را افزایش می‌دهد. این سیستم آدرنژیک نقش مهمی در یادگیری و حافظه ایفا می‌کند. از این رو، آلکالوئیدهای هارمین پتانسیل لازم را برای مدیریت اختلالات تخریب‌کننده عصبی از نوع بیماری‌های آلزایمر دارند (۴). اثرات ضد دردی آلکالوئیدهای اسپند توسط منصف و همکاران در تست فرمالین بررسی شده است. آن‌ها نشان دادند که این عصاره‌ها کاهش معنی‌دار درد در مقایسه با کنترل را در پی دارند و هارمالین یا ماده موثره در مرحله نهایی استخراج، موثر ترین آلکالوئید در کنترل درد است (۱۲). در مورد اثرات ضد اضطرابی و



در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه اختلاف آماری معنی‌دار دارند ( $P < 0.05$ ).

شکل ۲ - اثر سطوح مختلف عصاره اسپند بر درصد ماندن در بازوی ماز مرتفع بعلاوه در موش سوری.

جدول ۲ - نتایج تست سمیت حاد و ارزیابی میزان LD<sub>50</sub>.

اولین مرحله از تست سمیت حاد		دومین مرحله از تست سمیت حاد	
ماده و دوز مصرفی	تعداد حیوانات/مرگ و میر	ماده و دوز مصرفی	تعداد حیوانات/مرگ و میر
عصاره اتانولی اسپند ۱۰ mg/kg	۰/۳	عصاره اتانولی اسپند ۱۶۰۰ mg/kg	۱۱/۱۱
عصاره اتانولی اسپند ۱۰۰ mg/kg	۰/۳	عصاره اتانولی اسپند ۲۹۰۰ mg/kg	۱۱/۱۱
عصاره اتانولی اسپند ۱۰۰۰ mg/kg	۰/۳	عصاره اتانولی اسپند ۵۰۰۰ mg/kg	۱۱/۱۱

LD<sub>50</sub> = ۱۲۵۰

### تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دانشجویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل می‌باشد و بدین وسیله نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی این دانشگاه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### منابع مورد استفاده

- 1- Aarons, D. H., G. Victor Rossi and R. F. Orzechowski. 1977. Cardiovascular Actions of Three Harmala Alkaloids: Harmine, Harmaline, and Harmalol. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 66: 1244-1248.
- 2- Alenajaf, A., E. Mohebi, A. Moghimi, M. Fereidoni and M. Mohammad-Zadeh. 2019. The effect of harmaline on seizures induced by amygdala kindling in rats. *Neurological Research* 41: 528-535.
- 3- Aricioglu, F. and H. Altunbas. 2003. Harmaline Induces Anxiolysis and Antidepressant-Like Effects in Rats. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1009: 196-201.
- 4- Biradar, S., H. Joshi and K. Tarak. 2013. Cerebroprotective effect of isolated harmaline alkaloids extracts of seeds of *Peganum harmala* L. on sodium nitrite-induced hypoxia and ethanol-induced neurodegeneration in young mice. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS* 16: 1687-1697.
- 5- Ebrahimi-Ghiri, M., M. Nasehi and M.-R. Zarrindašt. 2019. Anxiolytic and antidepressant effects of ACPA and harmaline co-treatment. *Behavioural Brain Research* 364: 296-302.
- 6- Gholamhasan, V., S. Oryan, M. Fereidoni, L. Etemadi and F. Manafi. 2007. Effect of inhalation alcoholic extract of *Peganum harmala* on induction of anxiety like behavior in elevated plus-maze. *Physiology and Pharmacology* 11: 153-159.
- 7- Heshmati, P., M. Nasehi and M. R. Zarrindašt. 2014. An overview of cognitive aspects of  $\beta$ -carbolines. *Archives of Advances in Biosciences* 5.
- 8- Hilber, P. and P. Chapillon. 2005. Effects of harmaline on anxiety-related behavior in mice. *Physiology & behavior* 86: 164-167.
- 9- Huang, R.-Q., C. L. Bell-Horner, M. I. Dibas, D. F. Covey, J. A. Drewe and G. H. Dillon. 2001. Pentylentetrazole-induced inhibition of recombinant  $\gamma$ -aminobutyric acid type A (GABAA) receptors: mechanism and site of action. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 298: 986-995.
- 10- Katzung, B. G. 2001. *Basic and Clinical Pharmacology*. McGraw Hill press.
- 11- Liberzon, I., K. L. Phan, S. Khan and J. L. Abelson. 2003. Role of the GABAA receptor in anxiety: evidence from animal models, molecular and clinical psychopharmacology, and brain imaging studies. *Current Neuropharmacology* 1: 267-283.
- 12- Monsef, H. R., A. Ghobadi, M. Iranshahi and M. Abdollahi.

باز ماژ و زمان بی‌حرکتی کمتری در تست شنا نشان دادند که این یافته‌ها از عملکرد ضد اضطراب و ضد افسردگی این الکالوئیدها برشمرده شد (۳). یافته این مطالعه با تحقیق حاضر در ارتباط با اثر ضد اضطرابی در دوزهای کم مشابهت دارد. مطالعه مشابه دیگری تجویز داخل صفاقی هارمان (۵ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، نورهارمان (۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) و هارمالین (۲،۵ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در مقایسه با یک آگونیست انتخابی قوی گیرنده کانابینوئید، آراشیدونیل سیکلوپروپیل آمید (ACPA)، بر استرس و افسردگی موش را مورد بررسی قرار داد. تجویز داخل صفاقی آراشیدونیل سیکلوپروپیل آمید درصد زمان صرف شده و تعداد ورود به بازوی باز را کاهش داد این یافته نشان‌دهنده یک اثر اضطرابی است که با یافته‌های تحقیق ما در کاربرد دوزهای ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره اتانولی مشابهت دارد. همچنین زمان بی‌حرکتی را در شنای اجباری در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد، که نشان‌دهنده یک اثر ضدافسردگی است. مشابه این اثرات اضطرابی در الکالوئیدها نیز مشاهده شد (۵). اثر اضطرابی استنشاق اسپند در موش صحرایی توسط غلامحسن و همکاران مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که دوزهای استنشاقی افزایشی منجر به افزایش زمان ماندن در بازوی بسته یا همان ترس بیشتر شد (۶). در بررسی حاضر تزریق دوز ۱۰۰ اسپند موجب مدت زمان بیشتر اقامت در بازوی باز شد. دوز ۴۰۰ این گیاه بیشترین زمان ماندن در بازوی بسته را نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار بود. این مطالب ممکن است نشان‌دهنده اثرات اضطرابی وابسته به دوز این گیاه باشند. گزارشات ضد و نقیضی در ارتباط با اثر هارمالین بر رفتار اضطرابی مشاهده شده است. مطالعات زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد هارمالین می‌تواند به عنوان یک آگونیست معکوس برای گیرنده‌های گابا عمل کرده و ترس، اضطراب و تحریک سیستم عصبی مرکزی را تسهیل می‌کند و در دوزهای بالاتر اثر القا اضطرابی بیشتری دارد (۲). هیلبر و همکاران ۲۰۰۵ نشان دادند که هارمالین در دوزهای پایین اثر اضطراب‌آوری دارد و در دوزهای بالاتر اثر ضد اضطرابی را بروز می‌دهد (۸). این یافته‌ها با نتایج مطالعه ما مغایرت دارد. در مطالعه‌ای دیگر تزریق دوزهای مختلف هارمالین یا سیناسرین سبب مهار رفتارهای افسردگی و اضطراب در موش‌های تحت استرس حاد شد. هارمالین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد افسردگی، ضد اضطرابی می‌باشد که این اثرات بواسطه مهار آنزیم منو آمینو اکسیداز، مهار آنزیم استیل کولین استراز، افزایش ۵- هیدروکسی تریپتامین، افزایش بنزدیازپین و تحریک رسپتورهای اپیوئیدی می‌باشد (۵).

### نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره اتانولی گیاه اسپند به در دوزهای پایین می‌تواند اثر ضد اضطرابی نشان دهد. این اثر می‌تواند بواسطه مهار آنزیم منوآمینوآکسیداز باشد. با توجه به استفاده زیاد از این گیاه در طب سنتی به نظر می‌رسد در میزان مصرف آن باید دقت بیشتری صورت گیرد. برای تعیین مکانیسم اثر آن تحقیقات بیشتری باید با استفاده از آگونیست و آنتاگونیست‌ها مربوطه انجام گیرد. همچنین شناسایی ترکیب‌های موثر بر اضطراب در این گیاه نیاز به انجام تحقیقات بیشتری می‌باشد.

2004. Antinociceptive effects of Peganum harmala L. alkaloid extract on mouse formalin test. J Pharm Pharm Sci 7: 65-69.

13- Mycek , M. J., R. A. Havey and P. C. Champe. 2000. Lippincott's illustrated review pharmacology. Philadelphia.

14- Pellow, S., P. Chopin, S. E. File and M. Briley. 1985. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. Journal of neuroscience methods 14: 149-167.

15- Samsam Shariat , H. and M. F. 1991. Natural plant and drugs. Amirkabir pub(in persian). Tehran.

16- Sanger, D. J. 2004. The pharmacology and mechanisms of action of new generation, non-benzodiazepine hypnotic agents. CNS drugs 18: 9-15.

17- Schlede, E., U. Mischke, R. Roll and D. Kayser. 1992. A national validation study of the acute-toxic-class method—An alternative to the LD 50 test. Archives of toxicology 66: 455-470.

