

بررسی اثرات تسکینی، پیش بیهوشی فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیرقطبی عصاره گیاه پیچ تلگرافی در مقایسه با میدازولام در موش صحرایی

علی رضائی^{۱*}، ایلید عیسی بیگلوی^۲، مهرداد پاشازاده^۳

چکیده

Vinca minor گیاهی است که در فارسی به پیچ تلگرافی معروف است. در این گیاه ماده‌ای تلخ به نام وین سین (Vincine) تانن، پکتین، کاروتین، آلکالوئیدهای وینکامی نین، وینکامین، وین سینین، کاتارین، و اسیدهای فرمیک، استیک، اسکوربیک و گلوکوزید و نوعی ساپونین و مقادیر زیادی از آلکالوئیدهای وینین Vinine و پوسین Pubcine وجود دارد. تمام قسمت‌های این گیاه قابل مصرف اند بخصوص برگ‌هایش. هدف از این تحقیق بررسی اثرات تسکینی، پیش بیهوشی فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی گیاه پیچ تلگرافی در مقایسه با میدازولام در موش صحرایی می‌باشد. در این روش از ۶۰ سر موش رت نر نژاد ویستار در گروه‌های مختلف برای آزمون‌ها استفاده شد. نیم ساعت قبل از آزمون سه فراکسیون قطبی، نیمه قطبی، غیر قطبی و میدازولام با دوز (۰/۰۴ mg/kg) و دی متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان دارونما با حجم برابر به صورت داخل صفاقی تزریق شد. در آزمون بررسی اثرات تسکینی و پیش بیهوشی مدت Sleeping time و Induction time بر حسب ثانیه با کورنومتر ثبت شد. نتایج به دست آمده بیانگر معنی دار خواب‌آلودگی شده با کتامین در گروه‌های تیمار با فراکسیون قطبی عصاره بود ($p < 0/05$). با توجه به اثرات آرام بخشی این گیاه نتایج نشان داد که فراکسیون قطبی پیچ تلگرافی در دوز ۱۰۰ mg/kg دارای اثرات تسکینی، پیش بیهوشی است.

واژگان کلیدی: تسکینی، پیش بیهوشی، قطبی، نیمه قطبی، غیر قطبی، پیچ تلگرافی.

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۵

مقدمه

امروزه گیاهان دارویی بخش مهمی از طب سنتی بسیاری از کشورها را تشکیل می‌دهند و در رویکردهای جدید درمانی نیز دارای ارزش و جایگاه ویژه ای می‌باشند. مواد اولیه بسیاری از داروهای تخصصی و فوق تخصصی، اکثراً از گیاهان دارویی اخذ می‌شود و خلاصه اینکه هر چه از جایگاه طب گیاهی مدرن امروزی بگوییم باز هم جای بحث بیشتری وجود دارد.

پیچ تلگرافی (Vinca minor) گیاهی پایا، علفی و خزنده است که بومی اروپا می‌باشد. گیاهی چندساله و همیشه سبز که روی زمین گسترده شده و ارتفاع آن تا ۶۰ سانتی متر می‌رسد. برگ‌هایش کامل و متقابل و بیضی کوچک دراز نوک تیز و کمی براق است. گل‌هایش چهارگلبگی تا پنج برگی قیفی شکل غالباً آبی رنگ و گاهی آبی روشن است. گل‌ها در اواسط زمستان تا اواسط بهار باز می‌شوند. در این گیاه ماده‌ای تلخ به نام وین سین (Vincine) تانن، پکتین، کاروتین، آلکالوئیدهای وینکامی نین، وینکامین، وین سینین، کاتارین، و اسیدهای فرمیک، استیک، اسکوربیک و گلوکوزید و نوعی ساپونین و مقادیر زیادی از آلکالوئیدهای وینین Vinine و پوسین Pubcine وجود دارد (۱۸ و ۸، ۲). همه قسمت‌های گیاه خصوصاً برگ‌های آن را در هر فصلی می‌توان چید و در مجاورت گرما خشکاند. پیچ تلگرافی دارای خواص قابض، تصفیه‌کننده خون، التیام‌بخش، ضد اسکوربوت، مقوی عمومی، بندآورنده شیر، مدر، محرک، قاعده‌آور، معرق و خلط‌آور است. موارد استعمال پیچ تلگرافی در کمبود ویتامین C، بازکردن مجاری عروقی، خصوصاً با اثر تنظیم‌کننده و اکسیژن دهنده مغزی، اسهال، خونریزی، رفع اختلاط خونی، سرفه، سرطان، سل، ورم لوزتین، اسهال خونی، رفع نل‌های مزمن، وجود خون در ادرار، عادت ماهیانه دردناک و ترشحات زنانگی، تب‌های نوبه، زخم روده، سقط جنین (به صورت جوشانده) و... می‌باشد. وینکامین موجود در این گیاه در موارد تصلب مغزی، عوارض ناشی از بالا بودن فشار

*- گروه آموزشی علوم بالینی، دانشکده دهنرشنکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
a-rezaie@iau-ahar.ir

۲- گروه آموزشی فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۳- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران.

لازم به ذکر است به منظور سازگاری موش‌ها با محیط نگهداری جدید ۱۰ روز قبل از انجام آزمایشات آنها از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی تبریز به محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انتقال داده شدند.

فراکسیون بندی بر اساس قطبیت حلال‌های مورد استفاده
در این روش ابتدا مواد گیاهی با یک حلال غیر قطبی نظیر هگزان عصاره گیری می‌شود عصاره بدست آمده حلال زدایی می‌شود. در مرحله بعدی مواد باقیمانده از مرحله قبلی مجدداً با استفاده از حلال کمی قطبی نظیر کلروفرم عصاره گیری می‌شود. در نهایت با استفاده از حلال بسیار قطبی نظیر متانول باقیمانده مواد گیاهی عصاره گیری می‌شود. به این ترتیب ۳ دسته عصاره حاصل می‌شود که از لحاظ قطبیت متفاوت می‌باشند. این روش بیشتر در تحقیقات فرماکوکونوزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. فراکسیون‌های اخذ شده با استفاده از دی متیل سولفوکساید به عنوان حلال عصاره رقیق و آماده تزریق خواهند شد. بعداً این‌ها در اختیار شخصی که داروها را تجویز می‌کند و اطلاعاتی از ماهیت داروها ندارد، قرار خواهند گرفت.

روش انجام مطالعات

با توجه به اینکه در بررسی منابع کتاب شناختی و بانک‌های اطلاعاتی دوز مؤثر فراکسیون‌های عصاره پیچ تلگرافی به منظور تسکین دهندگی پیدا نشد، ابتدا به صورت پایلوت مطالعه انجام شد تا دوز مؤثر بدست آمد. در این طرح دوز عصاره گیاهان با دوز مؤثر بدست آمده از نتیجه پایلوت و میدازولام با دوز 0.4 mg/kg و دی متیل سولفوکساید با همان حجم به صورت تزریقی تجویز خواهد شد. ۳۰ دقیقه بعد از تجویز داروهای فوق، کتامین با دوز 40 mg/kg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت IP در هر گروه تجویز خواهد شد. بلافاصله بعد از تجویز کتامین مدت زمانی که حیوان رفلکس تصحیح کننده را از دست

خون مانند سردرد، سرگیجه، احساس صداهائی در گوش، نارسائی عمل شریان‌های قلبی، عوارض عروقی، شبکیه چشم، کم شدن حافظه، اشکال در تمرکز و کم شدن و ضعف قوای مغزی ناشی از پیری استفاده بعمل می‌آید. در مداوای کم خونی و به همراه داروهای آهن‌دار مصرف می‌شود. در مورد مالاریا و التهاب روده و معده و خونریزی نیز به کار برده می‌شود در استعمال خارجی جوشانده آن به صورت لوسیون جهت درمان زخم‌های بازو بسته و به صورت غرغره در رفع آژین و ورم لوزتین، به صورت تنقیه در رفع دیسانتری و زخم‌های روده مصرف می‌شود. از لوسیون آن در پانسمان زخم‌ها و اولسرها به کار می‌رود. پیچ تلگرافی به علت دارا بودن تانن و مواد تلخ و عطری، بر روی سلسله اعصاب و قلب نیز اثر می‌نماید؛ بطوری که در موارد درمانی مختلف مانند خستگی عمومی، ضعف قلب، ورم ماهیچه‌های قلب و همچنین در بیماری‌های عصبی مانند ضعف اعصاب، صرع و قولنج‌های تشنج آور نتایج مفید می‌دهد (۹ و ۸، ۶، ۴، ۳). از سوی دیگر میدازولام مانند سایر بنزودیازپین‌ها آگونست گیرنده‌های بنزودیازپینی بوده که با اثر بر روی گیرنده‌های گابا و در نهایت ورود یون کلر به نورون‌ها اثرات خود را اعمال می‌کند. میل ترکیبی میدازولام با گیرنده بنزودیازپین حدوداً دو برابر دیازپام است که با قدرت اثر بیشتر این دارو مطابقت دارد (۱۲).

مواد و روش کار

حیوانات مورد استفاده

در این مطالعه از ۶۰ سر موش رت نژاد ویستار نر در محدوده وزنی 20 ± 20 گرم استفاده شد. موش‌ها در اتاق حیوانات و در شرایط استاندارد با درجه حرارت محیطی ۲۳-۲۱ درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی ۷۰ درصد و چرخه نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند و از پلت‌های استاندارد جهت تغذیه موش‌ها به روش ad libitum استفاده گردید و آب به مقدار کافی در اختیار موش‌ها قرار داشت.

بررسی قرار گرفته‌اند. بعد از تزریق داروهای آرام بخش (بعنوان پیش بیهوشی) و تزریق داروی القاء کننده بیهوشی، ثبت زمان القاء (Induction Time) کمتر و ثبت زمان خواب (Sleeping time) بیشتر به عنوان یک مارکر در بیشتر بودن آثار تسکین داروی پیش بیهوشی مطرح است. نتایج آزمون تعقیبی دو به دوی توکی در این بخش از مطالعه در تزریق داخل صفاقی فراکسیون قطبی گیاه پیچ تلگرافی با دوز 100 mg/kg نسبت به دوز 0/4 mg/kg میدازولام اختلاف معنی داری را نشان دادند و فراکسیون قطبی با دوز 100 mg/kg نسبت به میدازولام از Induction time کمتر و Sleeping time بیشتری برخوردار است و آثار تسکینی بهتری را نسبت به میدازولام نشان داد؛ ولی فراکسیون‌های نیمه قطبی و غیر قطبی گیاه پیچ تلگرافی عملکرد ضعیف‌تری نسبت به میدازولام نشان دادند ($p < 0/05$) و نیز طبق جداول آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA تفاوت بین Induction time و Sleeping time بین گروه‌های فوق‌الذکر معنی دار برآورد شده است ($p < 0/05$) (نمودار 1 و 2). بنابراین می‌توان بیان کرد که فراکسیون قطبی گیاه پیچ تلگرافی نسبت به دوز 0/4 mg/kg میدازولام از اثرات تسکینی و پیش بیهوشی بهتری برخوردار هستند.

می‌دهد (Induction-time) و مدت زمانی که حیوان بعد از القای بیهوشی دوباره رفلکس تصحیح کننده را باز می‌یابد (Sleeping time)، برحسب ثانیه محاسبه خواهد شد. لازم به توضیح است هرچه قدر مدت زمان Induction-time کمتر و Sleeping time بیشتر باشد دلیل بر بیشتر بودن اثرات تسکینی داروهای فوق می‌باشد.

روش ارزیابی اثرات تسکینی و پیش بیهوشی فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی گیاه پیچ تلگرافی در مقایسه با میدازولام

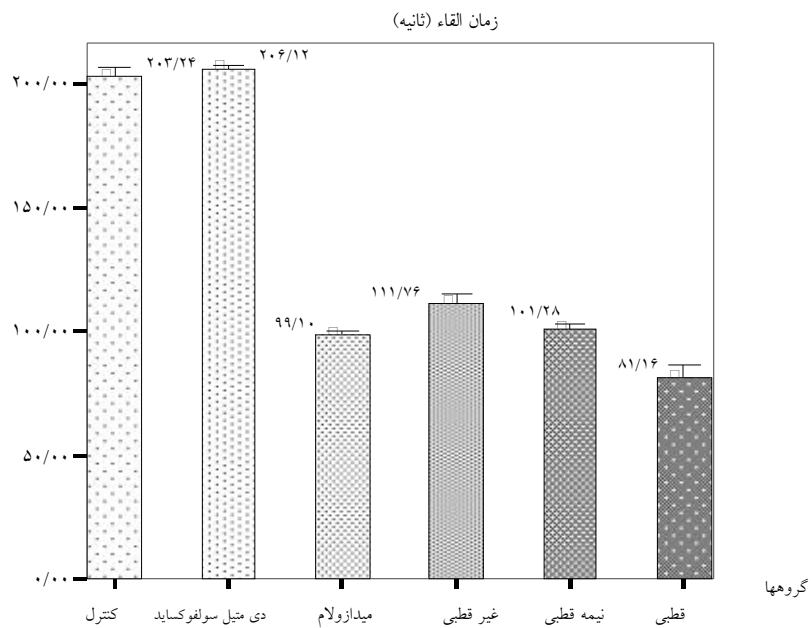
برای این منظور 30 دقیقه بعد از تجویز داروهای فوق، کتامین با دوز 40 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت داخل صفاقی در هر شش گروه تزریق شد. بلافاصله بعد از تجویز کتامین مدت زمانی که حیوان رفلکس تصحیح کننده را از دست می‌دهد (Induction time) و مدت زمانی که حیوان بعد از القای بیهوشی دوباره رفلکس تصحیح کننده را باز می‌یابد (Sleeping time) بر حسب ثانیه با کورنومتر محاسبه شد.

آنالیز آماری داده‌ها

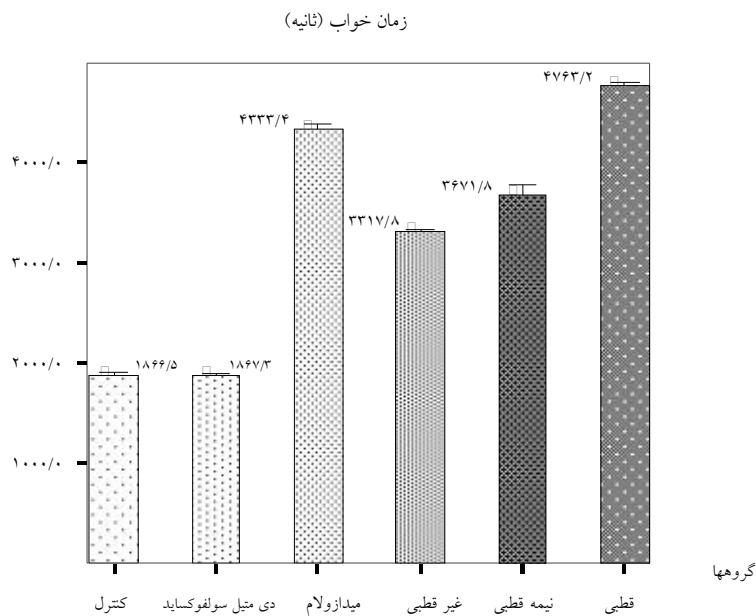
داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار گزارش شدند. پس از انجام آزمون ANOVA و در صورت معنی دار بودن آن با استفاده از آزمون تعقیبی توکی و کولموگروف اسمیرنوف مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج با $p < 0/05$ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در بخشی از این مطالعه، اثرات تسکینی و پیش بیهوشی فراکسیون‌های قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی گیاه پیچ تلگرافی که در طب سنتی به عنوان آرام بخش به کار می‌رفته مورد



نمودار ۱: میانگین داده‌های زمان القاء در گروه‌های مورد مطالعه گیاه پیچ تلگرافی



نمودار ۲: میانگین داده‌های زمان خواب در گروه‌های مورد مطالعه گیاه پیچ تلگرافی

بحث

هدف از این تحقیق مطالعه مقایسه ای اثرات تسکینی و پیش بیهوشی فراکسیون‌های مختلف گیاه پیچ تلگرافی با میدازولام در موش صحرایی بود. امروزه گیاهان دارویی بخش مهمی از طب سنتی بسیاری از کشورها را تشکیل می دهند و در رویکردهای جدید درمانی دارای ارزش و جایگاه ویژه ای می باشند. داروهای گیاهی که بعنوان پیش بیهوشی مصرف می شود تا دوز داروهای بیهوشی و عوارض آن را کاهش دهد و داروهای مصرفی برای این منظور عمدتاً شیمیایی می باشند که هر داروی شیمیایی عوارضی را به همراه دارد و در این طرح داروهای گیاهی با اثرات تسکینی و پیش بیهوشی معرفی می گردد که طبیعی است داروهای گیاهی عوارض داروهای شیمیایی را نخواهد داشت (۱۶ و ۱۵ و ۱۴، ۱۳). Creasey و همکارانش در سال ۱۹۶۴ اثرات آلکالوئیدهای پروانش یا همان پیچ تلگرافی را که در داروهای وینکرسیتین موجود بود، بر روی درمان تومور Ehrlich ascites موفق ارزیابی کردند (۵). در مطالعه‌ای که محراب و همکارانش در سال ۱۹۹۵ بر روی گیاه پیچ تلگرافی انجام دادند مشاهده کردند که آلکالوئیدهای بخش‌های مختلف این گیاه اثرات آنتی میکروبیال قوی علیه سودوموناس آئروژنوزا، استافیلوکوکوس آئروس و کاندیدا آلبیکانس دارد (۱۱). Palosi و همکاران در سال ۱۹۷۶ اثر بسیار قدرتمندی از عصاره پیچ تلگرافی را در اعصاب مرکزی نشان داده اند که از جمله آنها می توان به اثر شل کنندگی عضلات اسکلتی با مکانیسم مرکزی، اثر سداتیو و عملکرد تضعیفی بر روی سیستم پاراسمپاتیک را نام برد. همین محققین اثر ضد افسردگی عصاره گیاه را نیز اثبات نموده‌اند (۱۰). Banerji و همکارانش در سال ۱۹۷۷ بر روی پیچ تلگرافی مطالعه اسپکتروسکوپی و شیمیایی انجام دادند و نوعی آلکالوئید اندولی بنام ماجونین را از آن استخراج کردند (۱). Sakushima و همکارانش در سال ۱۹۸۸ از

برگ‌های گیاه پیچ تلگرافی با روش mass spectrometry ترکیبات کلروژنیک اسید و فلاونول تریگلایکوزید را جداسازی کردند (۱۷). Famseorth و همکارانش در سال ۲۰۰۶ بر روی پروانش یا همان پیچ تلگرافی مطالعات فیتوشیمیایی انجام دادند که مشاهده کردند آلکالوئیدهای این گیاه هیچگونه اثرات لوکوپنیک در موش صحرایی ندارد (۷). در نتیجه گیری کلی می توان اظهار داشت که بر اساس مطالعات مختلف، گیاه دارویی پیچ تلگرافی با توجه به وجود داشتن فلاونوئیدها احتمال می رود که از طریق تاثیر برگبرنده های بنزودیازپینی متصل به گیرنده‌های گابا-A باعث بروز اثر تسکینی می گردد. همچنین این گیاه احتمالاً از طریق گیرنده اوبیوئیدی و با تاثیر بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی می تواند اثرات تسکینی خود را اعمال نماید. البته اثبات این امر نیازمند جدا نمودن هر یک از مواد موثره گیاهان فوق و تحقیق اختصاصی بر روی هر یک از مواد و با استفاده از مدل‌های حیوانی دیگر می باشد تا بتوان مکانیسم اثر تسکینی آن را مشخص نمود که در این زمینه نیاز به مطالعه بیشتر و نیز استخراج و شناسایی ساختمان شیمیایی مواد موثره گیاهان می باشد.

فهرست منابع

1. Banerji, A., Chakrabarty, M. (1977): Majvinine: A new indole alkaloid of Vinca major. *Phytochem.* 16(17): 1124-1125.
2. Bauer, B.A. (2000): Herbal therapy: what a clinician needs to know to counsel patients effectively. *Mayo. Clin. Proc.* 75(8): 835-841.
3. Boyadzhiev, L., Yordanov, B. (2005): Pertraction of indole alkaloids from Vinca minor L. *Separ. Sci. Technol.* 39(6): 1321-1329.
4. Chunxia, W. (2006): Study on in Vitro Propagation Techniques of Vinca minor [J]. *For. Sci. Technol.* 4: 020.
5. Creasey, W.A., Markiw, M.E. (1964): Biochemical effects of the vinca alkaloids II. A comparison of the effects of colchicine, vinblastine and vincristine on the synthesis of ribonucleic acids in Ehrlich ascites carcinoma cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 87(4): 601-609.

6. Dollery, C.T. (1991): Therapeutic drugs, Churchill Livingstone.
7. Farnsworth, N.R., Fong, H.H.S. (1962): Studies on *Vinca major* (apocynaceae) II: Phytochemical investigation. *J. Pharm. Sci.* 51(3): 217-224.
8. Hirata, K., Mukai, M. (2002): Cryopreservation of hairy root cultures of *Vinca minor* (L.) by encapsulation-dehydration. *Biotechnol. Lett.* 24(5): 371-376.
9. Khanavi, M., Pourmoslemi, S. (2010): Cytotoxicity of *Vinca minor*. *Pharm. Biol.* 48(1): 96-100.
10. Leporatti, M. L., A. Pavesi (1990): New or uncommon uses of several medicinal plants in some areas of central italy. *J. Ethnopharmacol.* 29(2): 213-223.
11. Mehrab, S., Majd, A. (1995): The Antimicrobial Effect Of Genus *Vinca* On Some Pathogen Microorganism. *Iran. J. Public. Health.* 24(1-2): 7-14.
12. Moreira, T.A., Costa, P.S. (2013): Combined oral midazolam–ketamine better than midazolam alone for sedation of young children: a randomized controlled trial. *Int. J. Paediatr. Dent.* 23(3): 207-215.
13. Ody, P. (1993): Complete medicinal herbal, Dorling Kindersley, Europe. medicines, P:192.
14. Ottariano, S. (1999): Medicinal herbal therapy: a pharmacist's view. Portsmouth, NH: Nicoln Fields. Pub.
15. Ping-kui, J., Xiang-ming, J. (2012): Effects of *Vinca minor* linn extract on blood flow change and antioxidant capacity in the MCAO rats. *Shandong Med. J.* 9: 009.
16. Pittler, M. (2004): Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. *Focus. Alternative. Complem. Ther.* 9(3): 242-242.
17. Sakushima, A., Nishibe, S. (1988): Mass spectrometry in the structural determination of flavonol triglycosides from *Vinca major*. *Phytochem.* 27(3): 915-919.
18. Yin, H., Sun, Y.H. (2011): Vincamine-producing endophytic fungus isolated from *Vinca minor*. *Phytomedicine.* 18(8): 802-805.