

# تاثیر داروی "رها" و بربرین در دوزهای سمی و غیرسمی در کاهش علائم سندرم ترک مرفین در موش سوری

مقاله پژوهشی

زیبا لیاقت<sup>۱</sup>، فائقه بهاءالدین بیگی<sup>۲</sup>، محمدجواد خشنود<sup>۳</sup>، مجتبی لیاقت<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۷/۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۴/۳

۱. داروساز

۲. استادیار فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز

۳. استادیار سم‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز، دانشکده داروسازی

۴. دامپزشک

## چکیده

**زمینه و هدف:** سندرم ترک به مجموعه علائمی اطلاق می‌شود که با قطع یک‌باره یا تدریجی مصرف مواد مخدر بعد از استفاده طولانی مدت آن، در فرد معتاد ایجاد می‌شود. این مطالعه با هدف تعیین اثر داروی رها و بربرین در دوزهای سمی و غیرسمی در مقایسه با داروی کلونیدین بر کاهش علائم سندرم ترک مرفین در موش سوری انجام گردیده است.

**مواد و روش کار:** برای انجام این تحقیق ۱۴۰ سر موش نر سوری، نژاد Balb/c با سن تقریبی دو ماه و در محدوده وزنی ۹۰-۷۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت، موش‌ها به‌طور تصادفی به دو دسته تقسیم شدند: دسته اول  $n=35$  (گروه دریافت کننده دارو  $n=21$  و گروه کنترل  $n=14$ ) و دسته دوم  $n=105$  (گروه دریافت کننده دارو  $n=91$  و گروه کنترل  $n=14$ ). در تمامی گروه‌ها با تزریق دوزهای فزاینده مرفین وابستگی فیزیکی ایجاد شد و سپس با تزریق نالوکسان علائم سندرم ترک ایجاد گردید؛ آن‌گاه آثار فارماکولوژیک داروی رها، بربرین و کلونیدین بر رفتار موش‌های سوری بررسی گردید و هم‌چنین میزان آلکالوئیدهای تام و بربرین موجود در داروی رها نیز مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

**یافته‌ها:** میانگین آلکالوئیدهای تام و بربرین در داروی رها به ترتیب ۱۲۰ و ۵/۷۲ میلی‌گرم در پنج میلی‌لیتر به‌دست آمد. درجه الکلی داروی رها طبق روش استاندارد ۱۹/۳۴ درصد به‌دست آمد. دوز سمیت حاد برای داروی رها ۴ ml/kg و برای بربرین ۴۰ mg/kg مشخص گردید. در مجموع در مورد داروی رها افزایش درصد وقوع رفتار سنگینی پلک و بی‌حرکتی در مقایسه با گروه کنترل (آب مقطر) معنی‌دار بود ( $p=0/016$ ). هم‌چنین داروی رها و بربرین بر روی درصد وقوع رفتارهای بوکشیدن مداوم، تمیز کردن بدن و ایستادن روی دو پا طی ۱۵ دقیقه، تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $p=0/089$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که داروی رها و بربرین تا نزدیک دوز سمی در کاهش علائم سندرم ترک مرفین اثری ندارد. بنابراین مصرف این دارو در انسان، با توجه به عدم تاثیر آن در موش سوری نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد. [م ت ع پ ز، ۱۲(۳): ۱۸-۱۲]

کلیدواژه‌ها: سندرم ترک، مرفین، رها، بربرین، کلونیدین

## مقدمه

به میزان زیادی در آب گرم و الکل حل می‌شود.<sup>۴</sup> تتراهیدروپالمیتین یکی از آلکالوئیدهای موجود در زرشک و جزو دسته ایزوکیولین هاست. Leung و همکارانش نشان دادند که این ترکیب در دوزهای کم (۱۰-۰/۵ mg/kg) به‌صورت خوراکی دارای خاصیت ضد اضطراب می‌باشد.<sup>۶</sup> شیرنگ با بررسی اثرات عصاره ریشه گیاه زرشک در موش سوری آن را در بهبود سندرم ترک مرفین موثر دانست.<sup>۷</sup> هدف از این مطالعه بررسی تاثیر داروی رها و ترکیب بربرین در دوزهای سمی و غیرسمی در مقایسه با داروی کلونیدین (داروی غیر مخدری که جهت کاهش علائم سندرم ترک مرفین، در انسان مصرف می‌شود) جهت کاهش علائم سندرم ترک مرفین در موش‌های آزمایشگاهی می‌باشد.

## روش کار

در محلول رها، (طبق بروشور دارو) عصاره هیدروالکلی گیاهان مختلفی به کار رفته است. ۴۲ درصد زرشک، ۲۰ درصد سنبل الطیب، ۲۰ درصد بابونه، ۱۰ درصد بید، ۵ درصد اسفند و ۳ درصد مواد کمک گیاهی. ابتدا

به‌طور کلی وابستگی به دارو یک حالت روانی و گاهی جسمانی، ناشی از اثر متقابل ارگانیسم زنده و دارو است.<sup>۱</sup> وابستگی روانی حالتی است که دارو باعث احساس ارضاء یک اجبار روانی می‌شود. در وابستگی جسمانی مصرف مکرر یک دارو حالت فیزیولوژیکی بدن را تغییر می‌دهد، به‌طوری که مصرف دارو برای جلوگیری از ظهور یک سندرم خاص، ضروری می‌باشد<sup>۲</sup> و قطع دارو سبب بروز ناراحتی‌های شدید جسمی می‌گردد که مجموعه این ناراحتی‌ها را سندرم ترک می‌نامند.<sup>۳،۴</sup> ترکیب دارویی رها که یک محلول گیاهی خوراکی حاوی عصاره هیدروالکلی برخی گیاهان دارویی می‌باشد، جهت ترک اعتیاد به مواد مخدر به بازار دارویی عرضه شده است. بیشترین اثر بخشی این دارو به بربرین که یکی از آلکالوئیدهای موجود در گیاه زرشک است،<sup>۵</sup> نسبت داده می‌شود. گیاه زرشک یا Berberis Vulgaris L درختچه‌ای است که ماده موثره موجود در آن از قسمت‌های مختلف گیاه مثل پوست، ریشه، ریزوم، ساقه و میوه آن به‌دست می‌آید؛ بربرین ماده‌ای آلکالوئیدی است که طعمی بسیار تلخ دارد. این ماده

دسته تقسیم شدند: دسته اول ( $n=35$ ) در قالب ۵ گروه هفت سری (دریافت کننده دارو  $n=21$  و کنترل  $n=14$ ) و دسته دوم ( $n=105$ ) در قالب ۱۵ گروه هفت سری (دریافت کننده دارو  $n=91$  و کنترل  $n=14$ ) تقسیم بندی شدند و در شرایط دمایی  $25-22^{\circ}\text{C}$  و ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. خوراک آن‌ها به صورت قطعات Oxoid Pellet (حاوی جو، گندم، ذرت) بود. برای ایجاد وابستگی در حیوان از روش تزریق داخل صفاقی دوزهای افزایشی سولفات مرفین (ایران دارو) سه بار در روز برای مدت سه روز به تمامی گروه‌های موش‌های سوری تجویز گردید.<sup>۱</sup> ساعات تزریق سولفات مرفین ۸ و  $10/5$  صبح و  $2/5$  بعد از ظهر بود. روز اول، دو دوز  $25\text{mg/kg}$  و یک دوز  $50\text{mg/kg}$ ، روز دوم، دو دوز  $50\text{mg/kg}$  و یک دوز  $75\text{mg/kg}$ ، روز سوم دو دوز  $75\text{mg/kg}$  و یک دوز  $125\text{mg/kg}$  و روز چهارم یک دوز  $150\text{mg/kg}$  تزریق شد.<sup>۷</sup> جهت ایجاد سندرم ترک ناگهانی به عنوان معیار نشان‌دهنده وابستگی فیزیکی به مرفین از تزریق نالوکسان هیدروکلراید (تولید دارو) استفاده شد.

کلیه موش‌ها به دو دسته تقسیم شدند: دسته اول متشکل از پنج گروه هفت سری موش که دو ساعت بعد از تزریق آخرین دوز مرفین، به صورت انفرادی در یک بشر بزرگ به مدت پنج دقیقه قرار داده شدند، تا با محیط جدید سازش یابند. سپس از طریق داخل صفاقی  $4\text{mg/kg}$  نالوکسان هیدروکلراید تزریق شد. آن‌گاه گروه کنترل ۱:  $2\text{ml/kg}$  آب مقطر، گروه کنترل ۲:  $2\text{ml/kg}$  الکل ۴۰ درصد، گروه بربرین:  $20\text{mg/kg}$  ترکیب بربرین، گروه رها:  $2\text{ml/kg}$  داروی رها و گروه کلونیدین:  $0/4\text{mg/kg}$  داروی کلونیدین دریافت کردند؛ سپس رفتارهای حیوانات شامل بوکشیدن مداوم، روی هم افتادن پلک، تمیز کردن، بی‌حرکتی و ایستادن روی پا، در مدت ۱۵ دقیقه پس از تزریق نالوکسان مشاهده و ثبت گردید. تعداد و شدت علائم فوق در طول هر پنج دقیقه جداگانه ثبت می‌شد. دسته دوم موش‌ها به طور تصادفی به ۱۵ گروه هفت سری ( $n=105$ ) تقسیم شدند، آن‌گاه دو ساعت بعد از تزریق آخرین دوز مرفین، به صورت انفرادی در یک بشر بزرگ به مدت پنج دقیقه قرار داده شدند تا با محیط جدید سازش یابند. سپس  $4\text{mg/kg}$  نالوکسان هیدروکلراید از طریق داخل صفاقی تزریق شد. آن‌گاه آثار فارماکولوژیکی بربرین، داروی رها، آب مقطر، الکل ۴۰ درصد و کلونیدین، به شرح ذیل مورد بررسی قرار گرفت. گروه یک به عنوان کنترل بربرین،  $2\text{ml/kg}$  الکل ۴۰ درصد و  $4\text{mg/kg}$  نالوکسان دریافت کرد. گروه دوم به عنوان کنترل رها، آب مقطر و نالوکسان دریافت نمود. گروه‌های سوم تا هفتم، داروی رها را با رقت‌های مختلف  $1/5$ ،  $1/10$ ،  $1/20$ ،  $1/40$  و داروی رقیق نشده همراه با نالوکسان، گروه‌های هشتم تا دوازدهم، بربرین را با دوزهای  $1/25$ ،  $1/5$ ،  $1/10$  و  $20$  میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه نالوکسان و گروه سیزدهم  $0/4\text{mg/kg}$  کلونیدین و نالوکسان به روش داخل صفاقی دریافت کردند.<sup>۱۱</sup> سپس اثرات داروی رها و بربرین، طی ۳۰ دقیقه و کلونیدین ۴۰ دقیقه پس از تزریق بررسی گردید. موش‌ها به صورت انفرادی داخل بشرهای شیشه‌ای قرار گرفتند و پس از گذشت زمان ذکر شده برای هر دارو، کورنومتر به کار انداخته شد و موش‌ها از نظر تعداد پرش مورد بررسی قرار

برای تعیین مقدار بربرین موجود در داروی رها، ۲۵ میکرولیتر از محلول خوراکی رها روی صفحه TLC (Thin layer chromatography) قرار داده شد. طبق روش Hartmann و همکاران محلول‌ها صاف و آماده‌سازی شد<sup>۸</sup> و ارزش  $R_f$  (Retardation factor) محاسبه شد. برای رسم منحنی استاندارد جذب، بربرین هر محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۲۸ نانومتر خوانده شد. از محلول بربرین استاندارد (Sigma Aldrich, USA) غلظت  $0/01\text{mg/ml}$  تهیه گردید. ۲۵ میکرولیتر از آن روی صفحه TLC قرار داده شد. ارزش  $R_f$  زیر نور UV مشخص شد و سپس قسمت‌های حاوی بربرین تراشیده شد و در ۲ میلی‌لیتر الکل ۹۶ درصد حل شد. طبق روش مورد استفاده در مطالعه Chan<sup>۹</sup> از محلول صاف شده، اقدام به تهیه سری رقت شد و جذب آن‌ها در طول موج ۲۲۸ نانومتر خوانده شد. در کنار محلول رها، بربرین استاندارد نیز کاشته شد. با رسم منحنی استاندارد جذب نوری بربرین کاشته شده روی صفحه TLC، غلظت بربرین موجود در رها به عنوان مجهول محاسبه گردید.

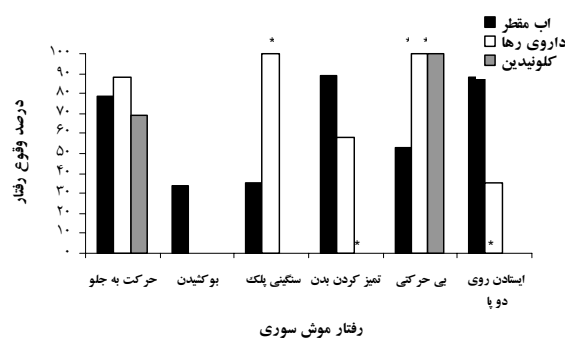
برای تعیین مقدار بربرین موجود در داروی رها، محلول بربرین با غلظت محلول حاصل  $10\text{mg/ml}$  تهیه شد و از آن اقدام به تهیه سری رقت شد. جذب نوری محلول‌های حاصل در طول موج  $228\text{nm}$  خوانده شد. با رسم منحنی استاندارد جذب نوری بربرین، بدون کاشتن بر روی صفحه TLC، غلظت بربرین کاشته شده محاسبه شد. برای استخراج آلکالوئیدهای تام از داروی رها، ۶۰ میلی‌لیتر از داروی رها با استفاده از دستگاه روتاری در حرارت  $40^{\circ}\text{C}$  تغلیظ گردید. سپس در ۲۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۱۰ درصد (Merck, Germany) حل شد. مایع باقی‌مانده به وسیله کاغذ صافی صاف شد. رسوب روی صافی حاوی بربرین بود (رسوب I). به محلول زیر صافی هیدروکسید آمونیوم اضافه گردید تا pH آن به ۸-۱۰ برسد. چهار نوبت هر بار ۲۵ میلی‌لیتر اتر به آن اضافه گردید و در قیف جداکننده مورد جداسازی قرار گرفت. فاز اتری پس از خشک شدن، وزن شد. سپس فاز زیرین غیر اتری با ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم چهار بار مورد جداسازی قرار گرفت. رسوب آلکالوئیدهای محلول در کلروفرم نیز با خشک کردن کلروفرم آن وزن شد. pH لایه غیر کلروفرمی به حدود ۱ و ۲ رسانده شد. محلول مربوط به هر کدام از این pHها سه قسمت شد. به یک قسمت نمک زده، به قسمت دیگر معرف میر و قسمت سوم بدون نمک نگه داشته شد. رسوب حاصله جدا و خشک شد.<sup>۷</sup> در نهایت مجموع وزن رسوبات خشک شده حاصل از تمامی فازها همراه با رسوب I، توزین و مجموع آن محاسبه گردید. جهت تعیین درجه الکلی داروی رها طبق روش فارماکوپه USP، ۵۰ میلی‌لیتر داروی رها با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به همراه کلرورسدیم اضافه شد تا اشباع گردد. سپس سه بار در قیف جداکننده با ۲۵ میلی‌لیتر هگزان به هم زده شد. لایه بالایی که حاوی الکل و هگزان است جدا شد و مجدداً سه بار با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول سدیم کلراید اشباع، در قیف جداکننده مخلوط شد و لایه زیرین که حاوی الکل و آب نمک بود جداسازی گردید. این لایه‌ها به یکدیگر اضافه شدند و مورد تقطیر قرار گرفتند.<sup>۹</sup> در این مطالعه از ۱۴۰ سر موش سوری نر نژاد Balb/c، دو ماهه در محدوده وزنی ۷۰-۹۰ گرم، استفاده گردید که به دو

مقدار آلکالوئیدهای تام داروی رها،  $120 \pm 2$  mg در پنج میلی لیتر داروی رها به دست آمد. قبل از اندازه گیری درجه الکلی دانسیته و pH مشخص شد که میزان و میانگین هر کدام در جدول ۱ قید شده است. میانگین، درجه الکلی داروی رها حاصل از سه بار تکرار، ۱۹/۳ بود.

جدول ۱: نتایج حاصل از تعیین درجه الکلی داروی رها (ماصل از سه بار تکرار)

آزمایش			
شماره نمونه	دانسیته نمونه $g/cm^3$	pH نمونه	درجه الکلی نمونه
نمونه اول	۰/۹۱۲	۵/۴۷	۲۰
نمونه دوم	۰/۹۱۵	۵/۴۶	۲۰
نمونه سوم	۰/۹۱۶	۵/۴۷	۱۸
میانگین	۰/۹۱۴	۵/۴۶	۱۹/۳۴

در حیواناتی که داروی رها دریافت کرده بودند نسبت به گروه آب مقطر درصد رفتار سنگینی پلک و رفتار بی حرکتی افزایش یافت. که از این بین افزایش درصد وقوع رفتار سنگینی پلک و رفتار بی حرکتی در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود ( $p=0/016$ ). هم چنین درصد وقوع رفتارهای بو کشیدن مداوم به صفر درصد، تمیز کردن بدن به ۵۷ درصد، ایستادن روی دو پا به ۲۹ درصد در این گروه کاهش یافت ولی تفاوت آن با گروه کنترل معنی دار نبود (نمودار ۳). در گروه دریافت کننده کلونیدین درصد وقوع رفتارهای تمیز کردن بدن و ایستادن روی دو پا به صفر درصد کاهش یافت که تفاوت این گروهها با گروه کنترل معنی دار بود ( $p=0/011$ ). هم چنین درصد وقوع رفتار بی حرکتی افزایش نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود ( $p=0/016$ ). ولی در مورد سایر رفتارها تفاوت معنی دار نبود (نمودار ۳).



نمودار ۳: اثرات داروی رها (روی رفتارهای حیوان طی پانزده دقیقه)

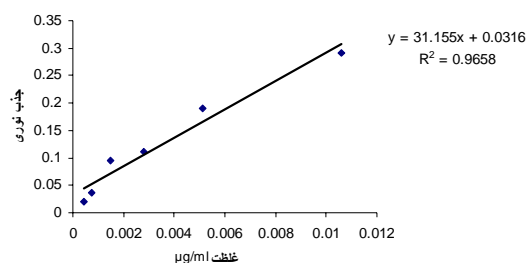
\*: افتلاف معنی دار با آب ( $p < 0/05$ )

در حیواناتی که  $20 \text{ mg/kg}$  بربرین دریافت کرده بودند، درصد وقوع هیچ کدام از رفتارها تفاوت معنی داری در مقایسه با گروه الکل ۴۰ درصد نداشت (نمودار ۴). رفتار حرکت سر و چرخیدن به دور خود در هیچ کدام از حیوانات در گروههای مختلف مشاهده نشد. در گروه کنترل تزریق نالوکسان در موش های وابسته شده به مرفین باعث ایجاد رفتار پرش شد. میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول  $15/4 \pm 2/9$  بود. الکل ۲۰ درصد که در داروی رها وجود دارد، باعث افزایش میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول، دوم و سوم

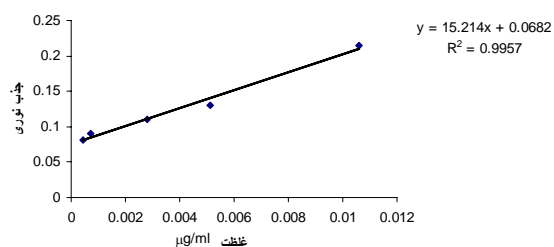
گرفتند. پریدن حیوان به طرف لبه بشر به عنوان یک پرش ثبت و میانگین داده های مربوط به تعداد پرش ها در هر پنج دقیقه محاسبه گردید. این علائم به مدت ۱۵ دقیقه (در فواصل پنج دقیقه ای) بررسی گردید. هر کدام از گروهها برای مدت یک هفته پس از ثبت علائم به منظور بررسی آثار سمی داروها تحت نظر قرار گرفت. <sup>۱۲</sup> در ادامه کار، سمیت حاد داروهای رها و بربرین در گروه های چهاردهم و پانزدهم نیز به طور جداگانه بررسی شد، در دو گروه هفت سری دوز  $40 \text{ mg/kg}$  بربرین و  $4 \text{ ml/kg}$  از داروی رها بدون رقیق کردن (دو برابر دوز حداکثر) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. تعداد مرگ و میر در هر گروه به مدت یک هفته ثبت گردید. اختلاف بین گروهها توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون های LSD و Dunnett تعیین شد. اختلاف داده های مربوط به شدت سنگینی پلک بین گروهها با آنالیز واریانس غیر پارامتریک کروسکال والیس و آزمون من ویتنی یو و  $\chi^2$  با سطح معنی دار  $p < 0/05$  تعیین شد.

### یافته ها

بربرین استخراج شده از داروی رها و بربرین استاندارد کاشته شده بر روی TLC در زیر نور UV، فلورسانس زرد رنگ و  $R_f = 0/09$  داشتند که حاکی از یکسان بودن آنها است. میانگین غلظت های بربرین محاسبه شده پس از احتساب درصد بازدهی روش TLC،  $5/72 \text{ mg}$  در پنج میلی لیتر داروی رها بود (نمودار ۱).



نمودار ۱: منمنی جذب نوری بربرین پس از کاشتن بر روی صفحه TLC جهت تعیین مقدار بربرین در داروی رها (طول موج ۲۲۸ نانومتر) غلظت های بربرین استاندارد کاشته شده روی صفحه TLC از معادله خط محاسبه شد. درصد بازدهی روش TLC به کار رفته در استخراج بربرین از داروی رها برابر با ۱۴۶ درصد به دست آمد (نمودار ۲).

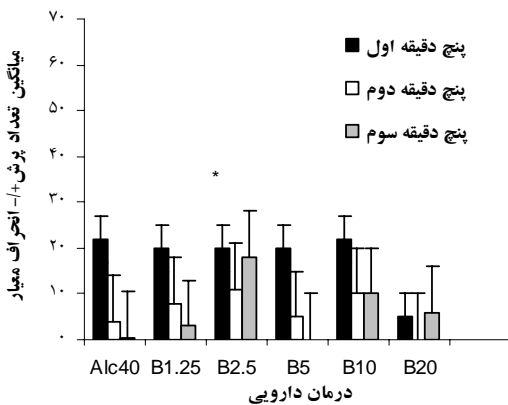


نمودار ۲: منمنی جذب نوری بربرین بدون کاشتن بر روی صفحه TLC جهت تعیین درصد بازدهی روش TLC (طول موج ۲۲۸ نانومتر)

افزایش یافت که به حد معنی دار نرسید. در مورد  $R_2$  در پنج دقیقه اول، دوم و سوم میانگین تعداد پرش نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که به حد معنی دار نرسید.

در مورد  $R_4$  میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول و دوم نسبت به گروه کنترل کاهش و در پنج دقیقه سوم افزایش یافت منتهی هیچ کدام به حد معنی دار نرسید (نمودار ۵). در رت  $R$  ( داروی رها بدون رقیق شدن) در پنج دقیقه اول، دوم و سوم نسبت به گروه میانگین تعداد پرش نسبت به گروه کنترل کاهش یافت که این کاهش تنها در پنج دقیقه دوم به حد معنی دار رسید ( $p=0/011$ )، نمودار ۵). اختلاف میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه دوم بین آب مقطر و  $Alc_2$  معنی دار بود ( $p=0/013$ ) اما بین داروی  $R_5$  و آب مقطر معنی دار نبود ( $p=0/089$ ).

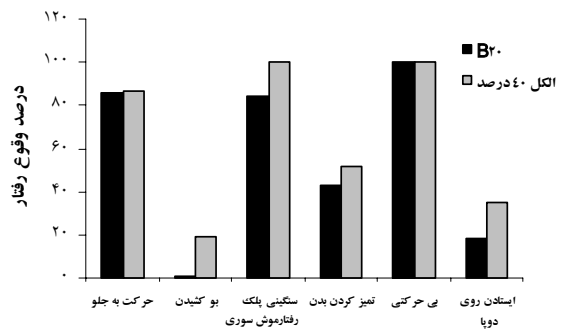
نتایج حاصل از بررسی بربرین بر علائم سندرم ترک مرفین با انجام تست آماری تفاوت معنی داری بین میانگین تعداد پرش در گروه‌های دریافت کننده غلظت‌های مختلف بربرین را نشان داد ( $p=0/011$ ). در گروه کنترل  $Alc_2$  تزریق نالوکسان در موش‌های وابسته شده به مرفین باعث ایجاد رفتار پرش شد. میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول  $22/9 \pm 6$  بود. غلظت  $1/25 \text{ mg/kg}$  بربرین میانگین تعداد پرش را در پنج دقیقه اول نسبت به گروه کنترل کاهش داد که به حد معنی دار نرسید. در پنج دقیقه دوم و سوم میانگین تعداد پرش نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که آن هم به حد معنی دار نرسید. غلظت  $2/5 \text{ mg/kg}$  بربرین در پنج دقیقه سوم تعداد پرش را به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش داد ( $p=0/012$ )، (نمودار ۶).



نمودار ۶: میانگین تعداد پرش براساس میزان (وقت‌های مختلف بربرین در الکل ۹۶ درصد).

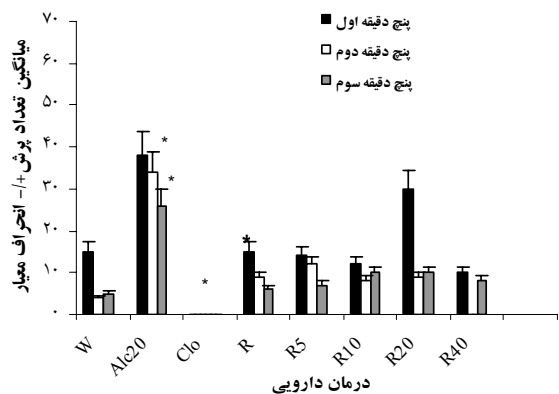
$B_{1/25}$ : بربرین  $1/25 \text{ mg/kg}$ ،  $B_{2/5}$ : بربرین  $2/5 \text{ mg/kg}$ ،  $B_5$ : بربرین  $5 \text{ mg/kg}$ ،  $B_{10}$ : بربرین  $10 \text{ mg/kg}$ ،  $B_{20}$ : بربرین  $20 \text{ mg/kg}$ ،  $Alc_2$ : الکل ۴۰ درصد، \* افتلاف معنی دار با الکل ( $p < 0/05$ )

در بربرین  $5 \text{ mg/kg}$ ، میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول، دوم و سوم نسبت به گروه کنترل تفاوت چندانی نداشت. در غلظت‌های  $20 \text{ mg/kg}$  و  $10 \text{ mg/kg}$  بربرین میانگین تعداد پرش‌ها در هیچ کدام از مقاطع زمانی نسبت



نمودار ۴: اثرات بربرین روی رفتارهای میوان طی پانزده دقیقه

نسبت به گروه کنترل شد. این افزایش در پنج دقیقه دوم و سوم به حد معنی دار رسید ( $p=0/017$ ). کلونیدین به عنوان داروی استاندارد کاهش دهنده پرش ناشی از نالوکسان در حیوانات وابسته به مرفین باعث قطع رفتار پرش شد و تفاوت میانگین تعداد پرش در این گروه نسبت به گروه کنترل در پنج دقیقه اول معنی دار بود ( $p=0/011$ )، نمودار ۵).



نمودار ۵: میانگین تعداد پرش براساس تیمار انجام شده.

W: آب مقطر،  $Alc_{20}$ : الکل ۲۰ درصد، Clo: کلونیدین، R: رها بدون رقیق شدن،  $R_5$ : داروی رها (رقیق شده به نسبت ۱ به ۵،  $R_{10}$ : داروی رها (رقیق شده به نسبت ۱ به ۱۰،  $R_{20}$ : داروی رها (رقیق شده به نسبت ۱ به ۲۰، \* افتلاف معنی دار با آب ( $p < 0/05$ )، \* افتلاف معنی دار با الکل ( $p < 0/05$ )

نتایج حاصل از بررسی رت‌های مختلف داروی رها  $R_5$  (رها  $1/5$ )،  $R_{10}$  (رها  $1/10$ )،  $R_{20}$  (رها  $1/20$ )،  $R_{40}$  (رها  $1/40$ ) با گروه کنترل یعنی با آب مقطر و گروه R (رها بدون رقیق شدن) نیز با گروه کنترل (الکل ۲۰ درصد) مقایسه شد. نتایج تست آماری، تفاوت معنی داری بین میانگین تعداد پرش در گروه‌های دریافت کننده رت‌های مختلف رها نشان داد ( $p=0/012$ ). در مورد  $R_5$  در پنج دقیقه دوم و سوم میانگین تعداد پرش نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که به حد معنی دار نرسید. در مورد  $R_{10}$  میانگین تعداد پرش در پنج دقیقه اول نسبت به گروه کنترل کاهش اندک داشت که به حد معنی دار نرسید. در پنج دقیقه دوم و سوم میانگین تعداد پرش نسبت به گروه کنترل

به‌عنوان داروی استاندارد و به‌عنوان محرک ریسپتورهای  $\alpha_1$  مرکزی عمل می‌کند و منجر به مهار پیش‌سیناپسی نورون‌های آدرنژیک گردیده و با کاهش نوراپی‌نفرین علائم سندرم ترک را بهبود می‌بخشد.<sup>۷</sup> یافته‌های این مطالعه نشان داد که داروی رها در مقایسه با این دارو هیچ تأثیری بر کاهش علائم سندرم ترک ندارد. همچنین باید عنوان نمود که به‌دلیل وجود الکل ۲۰ درصد در ترکیب این دارو افزایش میانگین تعداد پرش‌ها در موش سوری مشاهده گردید و در واقع الکل در کاهش علائم سندرم ترک توسط دارو اختلال ایجاد می‌نماید. قاعدتاً داروی رها می‌بایستی در جهت رفع علائم سندرم ترک مرفین موثر می‌بود و رفتارهای طبیعی بدن چون تعداد پرش‌ها، تمیز کردن و بوکشیدن را به حالت طبیعی برمی‌گرداند اما این‌گونه عمل نکرد. ترکیب بربرین موجود در داروی رها یک مهارکننده مونوآمین اکسیداز ۱ می‌باشد (MAOI) و مانع از تجزیه مونوآمین‌ها مثل تیرامین در دستگاه گوارش می‌شود<sup>۸</sup> و از آن‌جا که جذب تیرامین سبب افزایش بیشتر میزان کاتکول‌آمین‌ها می‌گردد و بیمار را به مقلدهای سمپاتیک غیرمستقیم مثل تیرامین که در بسیاری از نوشابه‌ها و غذاهای تخمیر شده یافت می‌شود، حساس می‌سازند و می‌تواند به اورژانس‌های افزایش فشارخون بیانجامد.<sup>۱۲</sup>

تاکنون گزارش رسمی یا مقاله‌ای در ایران در مورد اثرات بالینی این دارو و عوارض جانبی آن در معتادین دیده نشده است و این اولین گزارش رسمی از اثرات این دارو در حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. از آن‌جا با توجه به عدم مشاهده اثر بخشی این دارو در موش سوری و سمیت احتمالی گیاه بید و سنبل‌الطیب لازم است تا اثبات اثربخشی و ایمنی فرآورده در حیوانات آزمایشگاهی، از مصرف آن جلوگیری به‌عمل آورده شود. همچنین به علت وجود الکل و اثر آن بر افزایش غیرطبیعی علامت پرش و اختلال در کاهش علائم سندرم، پیشنهاد می‌شود از ترکیب الکل در این دارو استفاده نگردد.

### سیاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکترای عمومی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز با شماره ثبت ۲۳۱ می‌باشد و بدین‌وسیله از همکاری دکتر پنجه شاهین و دکتر نیک نهاد ریاست محترم دانشکده داروسازی شیراز تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

### References

1. Kluza J, Baldeyou B, Colson P, et al. Cytotoxicity and DNA binding properties of the plant alkaloid burasaine. *Eur J Pharm Sci* 2003; 20(4-5): 383-91.

به‌گروه کنترل تغییر معنی‌داری نشان‌نداد (نمودار ۶). در مورد شدت سنگینی پلک ناشی از نالوکسان، برای هر گروه در مورد داروی رها و بربرین تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در بررسی اثرات داروی رها روی رفتارهای حیوان، داروی رها درصد وقوع رفتار حرکت به جلو، سنگینی پلک و رفتار بی‌حرکتی را طی پانزده دقیقه افزایش داد که از میان این‌ها تنها افزایش درصد وقوع رفتار سنگینی پلک و بی‌حرکتی در مقایسه با گروه کنترل (آب مقطر) به حد معنی‌دار رسید ( $p=0/016$ ). سمیت حاد داروی رها و بربرین با تزریق داخل صفاقی دوز  $40\text{mg/kg}$  بربرین که دو برابر دوز حداکثر مورد استفاده در آزمایشات سندرم ترک مرفین بود، ایجاد شد. ۲۰ دقیقه پس از تزریق این دارو تمامی هفت حیوانی که این دوز بربرین را دریافت کردند مردند. دوز  $4\text{ml/kg}$  از رهای رقیق نشده (R) که حداکثر دوز مورد استفاده در آزمایشات سندرم ترک مرفین بود، سمیت حاد نشان داد. سه روز پس از تجویز دارو پنج حیوان از هفت حیوان تلف شدند. با توجه به آزمایشات صورت گرفته، مقدار بربرین در داروی رها با احتساب درصد بازدی به میزان  $5/72\text{mg}$  در هر پنج میلی‌لیتر دارو به‌دست آمد که کمتر از میزان ذکر شده در بروشور دارو ( $6/5-7/2\text{mg}$ ) بود. تجویز بربرین استاندارد در دوزهای مختلف تا نزدیک دوز سمیت حاد ( $40\text{mg/kg}$ ) اثر چندانی بر کاهش علائم سندرم ترک ندارد و درصد وقوع رفتارهای بوکشیدن مداوم، تمیز کردن بدن و ایستادن روی دو پا را طی ۱۵ دقیقه، تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت ( $p=0/089$ ) و در مقایسه با گروه دریافت‌کننده کلونیدین درصد وقوع رفتار بی‌حرکتی افزایش و در مقابل رفتارهای بوکشیدن مداوم، تمیز کردن بدن و ایستادن روی دو پا کاهش معنی‌دار نشان داد ( $p=0/011$ ).

### بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که داروی رها در هیچ کدام از رقت‌ها میانگین تعداد پرش را نسبت به گروه کنترل کاهش نداد. همچنین داروی رها نتوانست میانگین تعداد پرش ناشی از نالوکسان را در موش‌های وابسته به مرفین به حالت طبیعی کاهش دهد بلکه یافته‌ها نشان داد، تعداد پرش‌ها به‌طور غیرطبیعی افزایش می‌یابد. به‌طور کلی باید گفت داروی رها تا نزدیک به دو برابر مقدار حداکثر در کاهش سندرم ترک غیر موثر و سمی بود و باعث مرگ حیوانات شد. در این حال کلونیدین به‌عنوان داروی استاندارد، میانگین تعداد پرش را در حد معنی‌داری کاهش داد.

در مطالعات شیرنگ میزان اثربخشی گیاه زرشک در کاهش سندرم ترک مرفین به بربرین موجود در این گیاه نسبت داده شده است.<sup>۷</sup> اما مطالعه حاضر نشان داد که دوزهای مختلف بربرین استاندارد تا نزدیک دوز سمی، اثری بر روی کاهش علائم سندرم ترک مرفین ندارد و احتمالاً ترکیب دیگری از این گیاه دارای تأثیر بر روی علائم سندرم ترک می‌باشد. داروی کلونیدین نیز

2. Azadbakht M. [Classification of Medicinal Plants.] Persian. Shiraz: Teimorzade Publication; 1998: 95-212.
3. Brunton L, Hardman JG, Limbird LE. Goodman & Gilman's the pharmacologic basis of

- therapeutics. 10<sup>th</sup> ed. New York: McGraw Hill Publication; 2001.
4. Zargari A. [Pharmaceutical Plants]. 7<sup>th</sup> ed. Tehran: Tehran University; 1993: 72-79.
  5. Hsieh MT, Su SH, Tsai HY, et al. Effects of palmetine on motor activity and the concentration of central monoamines. *Jpn J Pharmacol* 1993; 61(1): 1-5.
  6. Leung WC, Zheng H, Huen M, et al. Anxiolytic-like action of orally administered dl-tetrahydropalmatine in elevated plus-maze. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27(5): 775-9.
  7. Shabrang S. [Survey of affects Turkish Berberis on reducing symptoms of morphine withdrawal in syrian mice] Persian [dissertation]. Shiraz: Medical University; 2001.
  8. Hartmann F, Poivier MF, Bourdel MC, et al. Comparison of acetorphan with clonidine for opiate withdrawal symptoms. *Am J Psychiatry* 1991; 143(5): 627-629.
  9. Chan AY, Lai CK. Tetrahydropalmatine poisoning: Diagnoses of nine adult overdose based on toxicology screens by HPLC with diode array detection and gas-chromatography-mass spectrometry. *Clin Chem* 1999; 45(2): 229-236.
  10. Zarrindast MR, Farzin D. Nicotine attenuates naloxone-induced jumping behaviour in morphine-dependent mice. *Eur J Pharmacol* 1996; 298(1): 1-6.
  11. Zafar S, Aftab Ahmad M, Siddiqui T. Protective role of Delphinium denudatum (Jadwar) against morphine induced tolerance and dependence in mice. *J Ethnopharmacol* 2001; (78): 95-98.
  12. Katzung BG, Masters SB, Trevor A. *J Basic & Clinical Pharmacology*. 5<sup>th</sup> ed. New York: McGraw Hill Publication; 1987: 811-826, 847-854.
  13. Cohen DL, Toro YD. A case of valerian-associated hepatotoxicity. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42(8): 961-962.
  14. Eadie MJ. Could valerian have been the first anticonvulsant? *Epilepsia* 2004; 45(11): 1338-1343.

## ***A survey of the effects of Raha<sup>®</sup> and Berberin medicine in toxic and sub toxic doses compare with Clonidine medicine on reducing symptoms of morphine withdrawal in Syrian mice***

**Ziba Livaghat<sup>1</sup>, Faegheh Bahaoddin-Beigi<sup>2</sup>, Mohammad.J Khoshnood<sup>3</sup>, Mojtaba Liyaghat<sup>4</sup>**

Received: 27/Sep/2009

Accepted: 24/Jun/2010

**Background:** Opiate withdrawal refers to the wide range of symptoms that occur after stopping or dramatically reducing opiate drugs after heavy and prolonged use. The aim of the present study was to determine the effects of *Raha* and Berberin medicine in toxic and sub toxic doses compare with Clonidine medicine on reducing symptoms of morphine withdrawal in Syrian mice.

**Materials and Method:** 140 Syrian mice (weight range 70-90 gr) were divided randomly into 2 groups; first group;  $n_1=35$  (receiving drug =21, control=14) & second group;  $n_2=105$  (receiving drug=91, control=14). Animals were treated by injected increasing doses of morphine sulfate for physical dependence. Then withdrawal syndrome was induced by administration of Naloxone. In order to evaluate the effect of *Raha* Berberin and Clonidine on morphine withdrawal syndrome in Syrian mice and also amount of total alkaloids and Berberin value in the *Raha*<sup>®</sup> were measured.

**Result:** Total of average of alkaloid and Berberin value was 120, 5.72 mg, respectively in 5 ml of the *Raha*<sup>®</sup>. The rate of alcohol in *Raha*<sup>®</sup> was shown by using the USP procedure which was 19.34 percent. Toxic doses of *Raha*<sup>®</sup> and Berberin were 4, 40 mg/kg, respectively. Results indicated that, *Raha* increases significantly the percent of occurrence of ptosis and immobility were compared with control group (distilled water receiver) ( $p=0.016$ ). The occurrence rate of sniffing, grooming and rearing behavior in *Raha* and Berberin treated groups compared with control group, within 15min period, was not found statistically significant ( $p=0.089$ ).

**Conclusion:** Based on our study both *Raha*<sup>®</sup> and Berberin in any dilution had no effect on reducing signs of opioid withdrawal syndrome. According to the lack of its effect in mice, further studies should be undertaken for prescription of this drug in human. [ZJRMS, 12(3):12-18]

**Keywords:** Withdrawal symptom, morphine, Raha, berberin, clonidine

1. Pharmacologist, Shiraz, Iran.

2. Assistant Professor of Pharmacology, Shiraz University of Medical Sciences and Health Services, Shiraz, Iran.

3. Assistant Professor of Toxicology, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences and Health Services, Shiraz, Iran.

4. Veterinarian, Shiraz, Iran.