مطالعه اثرات ضدسمیت گیاه پارکینسونیا اکولاتا بر زهر عقرب بوتتوس سالسئی (*Buthotus* (*Hottentota*) *saulcyi*) به صورت *in vitro* و *in vivo*

امیر جلالی[۱]، حسین وطن‌پور[۲]*، محسن باقری‌خلیلی[۳]، سیدعبدالمجید آیت‌اللهی[٤]، محمد کمالی‌نژاد[۵]

۱- استادیار، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه جندی شاپور، اهواز

۲- دانشیار، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۳- دکتر داروساز، محقق

٤- استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۵- گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان ولی‌عصر، تقاطع خیابان شهید عباسپور، کوچه شمس، پلاک ۱۰

صندوق‌پستی: ۱٤۱۵۵-٦۱۵۳، ساختمان شماره ۱ دانشکده داروسازی شهید بهشتی

تلفن: ۵-۸۸۷۷۳۵۲۱ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۷۹۵۰۰۸ (۰۲۱)

پست الکترونیکی: vatanpour@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۳/۱۰/۱۹ **تاریخ تصویب:** ۱۳۸٤/۵/٤

چکیده

مقدمه: امروزه به طب سنتی به عنوان یک طب تکمیلی، اهمیت به سزایی داده می‌شود. شواهد موجود در طب سنتی ما، گویای استفاده از گیاه پارکینسونیا اکولاتا[۱] در درمان گزش ناشی از عقرب است.

هدف: با توجه به استفاده از این گیاه در طب سنتی و بررسی درمان‌های جایگزین در درمان عقرب‌گزیدگی، در این مطالعه سعی شد که اثرات فارماکولوژیک و ایمونولوژیک این گیاه در درمان عقرب گزیدگی به صورت برون‌تنی[۲] و درون‌تنی[۳] بررسی شود.

یافته‌ها: در مطالعات فارماکولوژیک ***in vitro*** با استفاده از محلول آبی و فاقد ذرات ناخالصی عصاره بر ارگان ایزوله عضله دو بطنی گردن جوجه[٤]، مشخص شد که عصاره دارای خاصیت آگونیستی نسبی کلینرژیک بوده و در حضور آگونیست قوی استیل‌کولین به صورت آنتاگونیست رقابتی عمل می‌نماید، اما تغییر قابل ملاحظه و معنی‌داری در خنثی‌سازی اثر سم عقرب بوتتوس سالسئی[۵] بر روی سیستم عصبی- عضلانی ندارد. در آزمایش‌های ***in vivo*** بر روی موش سوری نیز مشخص شد که عصاره این گیاه تاثیری بر از بین رفتن اثرات سم عقرب و مانع از مرگ یا به تاخیر انداختن میانگین زمان مرگ موش‌ها نمی‌شود. در آزمایش‌های **Gel Diffusion** نیز نشان داده شد که واکنش ایمونولوژیک بین سم چهار عقرب خطرناک مهم ایران و عصاره این گیاه وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان می‌دهند که استفاده از گیاه پارکینسونیا اکولاتا به منظور خنثی‌سازی اثرات سم و نهایتاً درمان عقرب گزیدگی، روش موثر و مطمئنی به نظر نمی‌آید.

گل‌واژگان: گیاه، ***Parkinsonia aculeate***، عقرب‌گزیدگی، ***Buthotus saulcyi***

---

[1] *Parkinsonia aculeate* L. [2] *in vitro* [3] *in vivo* [4] CBC [5] (*Buthotus* (*Hottentota*) *saulcyi*)

مقدمه

عقرب‌گزیدگی و درمان آن یکی از مشکلات پزشکی بسیاری از کشورهای دنیا از جمله ایران می‌باشد [۱]. زهر عقرب دارای تعدادی از سموم پلی‌پپتیدی موثر بر روی برخی از کانال‌ها، مخصوصاً کانال‌های سدیم وابسته به ولتاژ و پتاسیم و نیز آنزیم‌ها و مواد شیمیایی مختلف دیگر است [۲،۳،٤]. البته علی‌رغم تفاوت‌های زئولوژیکی و تفاوت در ساختمان شیمیایی سموم عقرب، علایم و نشانه‌های کلینیکی عقرب‌گزیدگی در افراد و حیوانات آزمایشگاهی تقریباً مشابه ایجاد می‌نمایند و علت مرگ بیشتر به علت نارسایی قلبی و ادم ریوی پس از گزش با عقرب گزارش شده است [۵،٦،۷]. تظاهرات گزش عقرب بیشتر به علت تاثیر بر روی کانال‌های یونی و آزاد شدن نروترانسمیترها در انسان می‌باشد [۸،۹]. مهم‌ترین این تظاهرات شامل درد در محل گزش، تظاهرات نرولوژیک، قلبی – عروقی و ریوی می‌باشد [۱۰].

روش درمانی عقرب‌گزیدگی در برخی کشورهای عقرب خیز، به شرایط محیطی و امکانات پزشکی محل وجود عقرب ارتباط دارد. در بسیاری از کشورها از سرم پلی‌والان تهیه شده برای چند گونه خطرناک عقرب آن ناحیه استفاده می‌شود. علاوه بر روش‌های درمانی استاندارد موجود، از دیرباز انسان از گیاهان برای برطرف کردن بسیاری از علایم گزش جانوران سمی مخصوصاً مار، در بسیاری از نقاط دنیا با پراکندگی بالای جانوران سمی استفاده می‌کرده است [۱۱،۱۲]. در تعدادی از انتشارات سال‌های اخیر به اثرات درمانی برخی گیاهان در درمان گزش جانوران سمی از جمله عقرب اشاره شده است [۱۳،۱٤،۱۵]. به نظر می‌رسد ترکیبات شیمیایی موجود در این گیاهان که مسؤول اثر رفع اثرات گزش جانوران سمی هستند، ترکیبات کاملاً شناخته شده‌ای نباشند ولی Pereira و همکارانش معتقد هستند که برخی از ترکیبات موجود در گیاهانی که به طور سنتی برای درمان گزش مار در برزیل استفاده می‌شوند، مانند بتاسیتوسترول[1] و برخی از فلاونوییدها مانند کوئرستین[2] دارای اثرات ضدالتهابی برطرف‌کننده تظاهرات گزش مار می‌باشند [۱٦]. نکته قابل توجه این است که بسیاری از این گیاهان علاوه بر گزش مار، در تسکین علایم گزش عقرب که معمولاً فاقد اثرات التهابی همانند گزش مار است، نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند.

فلور گیاهی ایران به علت تنوع آب و هوایی و شرایط خاک مناطق اکولوژیک متفاوت، از تنوع قابل ملاحظه‌ای برخوردار است. نام علمی گیاه مورد استفاده به افتخار جان پارکینسون داروساز انگلیسی که در قرن ۱٦ و ۱۷ می‌زیسته، انتخاب شده است [۱۷]. این گیاه به شکل درختچه از تیره Leguminosae و زیر تیره Caesalpinaceae یا گل ارغوان می‌باشد. این گیاه بومی نواحی حاره آمریکا است و در هند، پاکستان و جنوب ایران نیز یافت می‌شود. در طب سنتی ایران از این گیاه به عنوان تب بر، التیام‌دهنده و ضددرد ذکر شده و پوست آن در صنعت کاغذسازی کاربرد دارد [۱۸،۱۹]. در برخی از مناطق جنوبی کشور از برگ و سرشاخه‌های هوایی گیاه برای خنثی‌سازی اثرات سم عقرب‌های مختلف به صورت ضماد استفاده می‌شود. برخی تحقیقات فیتوشیمی انجام شده بر روی این گیاه مشخص کرده که دارای C گلیکوزیدهایی از جمله Epi-orientin و Parkinsonin A و Parkinsonin B در گل و برگ گیاه می‌باشد [۲۲، ۲۱، ۲۰]. همچنین معلوم شده که دانه این گیاه دارای اسید آمینه‌های مختلف از جمله تریپتوفان می‌باشد [۲۳]. در مطالعه انجام شده سال ۱۹۷٤ نشان داده شد که عصاره غلیظ شده دارو به صورت خوراکی و ضماد دارای اثر ضدهاری[1] است [۲٤].

عقرب بوتتوس سالسئی[2] یکی از عقرب‌های خطرناک در ایران می‌باشد [۲۵]. از آنجایی‌که عقرب‌گزیدگی از مشکلات مهم بهداشتی کشور ما است و به غیر از آنتی ونوم پلی والان تهیه شده در موسسه رازی، روش درمانی کاملاً مشخص، موثر، اختصاصی و سریع برای جلوگیری از عوارض موضعی و سیستمیک عقرب‌گزیدگی وجود ندارد [۲٦،۲۷] و همچنین به منظور بررسی دقیق اثر گیاه در درمان عقرب‌گزیدگی، اثرات عصاره تهیه شده از گل و برگ‌های گیاه *Parkinsonia*

---

[1] β-sitosterol
[2] quercetin

[1] Antirabies
[2] *Buthotus* (*Hottentota*) *saulcyi*

aculeate بر فعالیت عصبی - عضلانی و اثرات عقرب‌گزیدگی، با روش‌های مختلف فارماکولوژیک و ایمونولوژیک به طور *in vitro* و *in vivo* بررسی شد.

مواد و روش‌ها

متانول (مرک)[1]، استیل کولین کلراید، d-Tubocurarine (Sigma)، منیزیم کلراید، پتاسیم کلراید، سدیم کلراید، کلسیم کلراید هیدراته، گلوگز، سدیم بی‌کربنات، فسفات دی هیدروژن سدیم و متانل (همگی از مرک)، آگار Bacto (Difco)، مرتیولات Lilly، سرم ضد عقرب پلی‌والان (تهیه شده از موسسه سرم سازی رازی)، سم ٤ عقرب *Buthotus saulcyi*، *Odontobuthus doriae*، *Androctunus crassicauda* و *Scorpio maurus* تهیه شده از موسسه رازی، بخش جانوران سمی.

جمع‌آوری و شناسایی گیاه

برگ‌های گیاه در خرداد ماه از باغ کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه و پس از شناسایی، نام علمی آن توسط گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تایید شد.

تهیه عصاره به روش خیساندن در الکل

برای استخراج از روش ماسراسیون[1] یا خیساندن با متانول خالص استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰ گرم از برگ‌های گیاه توزین و عصاره‌گیری در سه مرحله، هر مرحله سه روز (جمعاً ۹ روز) توسط ۹۰۰ میلی‌لیتر الکل متانول خالص (۳۰۰ میلی‌لیتر در هر مرحله) انجام شد. عصاره تهیه شده پس از صاف شدن توسط دستگاه دوار تقطیر در خلا، تغلیظ و توسط حرارت معمولی آزمایشگاه و مکان مناسب، کاملاً تغلیظ و خشک شد. عصاره‌گیری در سه مرحله انجام شد و میانگین مقدار عصاره نهایی تغلیظ شده تهیه شده از هر ۱۰۰ گرم پودر برگ گیاه ۰/۷ ± ۸/٦ گرم (۸ درصد) محاسبه شد.

روش آماده‌سازی سم خام لیوفلیزه

به منظور استخراج و آماده‌سازی زهر عقرب، ابتدا مقدار معینی از پودر لیوفلیزه سم عقرب (۵ میلی‌گرم) تهیه شده به طریق تحریک الکتریکی در موسسه رازی کرج، در ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی کاملاً حل و با روش دیالیز در مدت ٤۸ ساعت، قسمت محلول حاوی پروتئین‌های سمی عقرب از موکوپروتئین‌های نامحلول جدا شد. محلول به دست آمده به مدت ۳۰ - ۱۰ دقیقه در دور ۵۰۰۰ rpm سانتریفوژ قرار داده و محلولی با حجم حدودی ۵ میلی‌لیتر برای آزمایش‌های فارماکولوژیک یا ایمونولوژیک تهیه شد. از غلظت استوک (۱ mg/ml) برای تهیه غلظت‌های مختلف سم در هر مرحله آزمایش استفاده گردید.

آزمایش‌های برون‌تنی (*in vitro*)

برای بررسی اثرات عصاره بر روی انتقال عصبی - عضلانی از عضله دو بطنی پشت گردن جوجه[1] جوجه‌های ۷ -۳ روزه، استفاده شد. این جفت عضله طبق روش ارایه شده به وسیله *warriner* و *Ginsborg* در ۱۹٦۰ جدا و پس از قرار گرفتن در داخل ارگان بس به دستگاه فیزیوگراف متصل می‌شدند [۲۸]. بر اساس منحنی دوز-پاسخ عصاره بر CBC، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره جهت آزمایش‌های *in vitro* انتخاب و استفاده شد.

تحریکات الکتریکی توسط یک محرک الکتریکی با ولتاژ ۱۰ ولت، فرکانس ۰/۱ هرتز و طول مدت (Width) ۰/۱ میلی‌ثانیه بر روی عضله اعمال و جهت ثبت انقباضات نیز از ترانسدیوسر ایزومتریک و دستگاه فیزیوگراف مدل MKllS-Narco – Biosystem استفاده شد.

آزمایش‌های فارماکولوژیکی درون‌تنی (*in vivo*)

در *in vivo* تمامی آزمایش‌ها بر روی موش سوری نر، نژاد آلبینو به وزن ۱ ± ۲۰ گرم انجام شد. تزریق به شکل وریدی یا زیر جلدی و به حجم ۰/۲۵ میلی‌لیتر صورت پذیرفت.

آزمایش ایمونولوژیک (تست Gel Diffusion)

این آزمایش مبتنی بر واکنش (تشکیل رسوب) بین یک آنتی‌بادی و ایجاد کمپلکس آنتی ژن – آنتی‌بادی می‌باشد. در این آزمایش، احتمال واکنش بین عصاره گیاه و سم ٤ عقرب خطرناک ایرانی *Buthotus saulcyi*، *Odontobuthus doriae*، *Androctunus crassicauda* و *Scorpio maurus* در مقابل شاهد پلی آنتی‌ونوم تهیه شده از موسسه رازی، بررسی شد. در این روش چهار چاهک (با حجم یکسان ۰/۲۵ میلی‌لیتر) در اطراف و یک چاهک در وسط آگار بر روی ۳ ظرف شیشه‌ای درست

[1] Maceration

[1] Chick Biventer Cervicies (CBC)

شد. در چاهک‌های اطراف ظروف شیشه‌ای، سم ٤ عقرب و در چاهک وسط ظرف ۱ غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی گیاه، ظرف شماره ۲ غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی گیاه و در ظرف شماره ۳Poly anti scorpion venom به عنوان شاهد، قرار داده شد.

نتایج

۱- آزمایش‌های *in vitro*

۱-۱ اثر عصاره بر روی عضله جدا شده: ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان مناسب‌ترین غلظت از عصاره مورد استفاده قرار گرفت. همان‌گونه که در شکل شماره ۱ نشان داده شده است، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره، حداکثر پاسخ توئیچ (انقباضات سریع عضلانی) در عضله CBC ایجاد کرده است. ضمناً عصاره در غلظت‌های بیشتر باعث کاهش تدریجی در خط پایه[1] و نتیجتاً کوچک شدن پاسخ‌های توئیچ به تحریکات الکتریکی غیر مستقیم (عصب) CBC می‌شود.

۱-۲ اثر استیل کولین با غلظت‌های مختلف در حضور ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره: برای بررسی اثر غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره بر روی منحنی دوز- پاسخ استیل کولین، منحنی دوز- پاسخ غلظت‌های $۱۰^{-۵}$، $۱۰^{-٤}$، $۱۰^{-۳}$، $۱۰^{-۲}$ و $۱۰^{-۱}$ مولار استیل کولین قبل و بعد از افزودن عصاره رسم شد. برای کنترل در این آزمایش، از محلول $۱۰^{-۱}$ مولار استیل کولین استفاده شد (شکل شماره ۲). با توجه به جابجایی منحنی دوز - پاسخ استیل کولین به سمت راست در حضور عصاره، می‌توان گفت که عصاره گیاه در مقابل آگونیست قوی استیل کولین یک اثر آنتاگونیستی اعمال می‌نماید.

۱-۳ بررسی اثرات عصاره در حضور سم عقرب بوتتوس سالسئی بر روی عضله: اثر سم خام بر عضله به تنهایی و همراه با عصاره گیاه بر روی CBC بررسی شد. غلظت سم در این آزمایش ۵۰μg/ml (LD_{50} =۵۰μg/mouse) که حدود ۳۰ ثانیه بعد از افزودن غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره، به حمام بافتی اضافه می‌شد. همان‌طوری که در شکل شماره ۳ نشان داده شده است کاهش مشاهده شده در ارتفاع انقباضات آهسته (کونترکچر) سم پس از افزودن عصاره به محیط، معنی‌دار ($p<$ ۰/۰۵) نبوده است. به همین‌ترتیب نیز تغییر در ارتفاع توئیچ سم، پس از افزودن عصاره به محیط نیز تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهد.

۲- آزمایش‌های *in vivo*

قبل از انجام آزمایش از بی‌خطر بودن غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از محلول عصاره گیاه به روش‌های مختلف وریدی، صفاقی و خوراکی با محاسبه LD_{50}، اطمینان حاصل شد.

۲-۱ اثر تزریق وریدی سم عقرب به تنهایی و همراه با عصاره گیاه بر روی موش سوری:

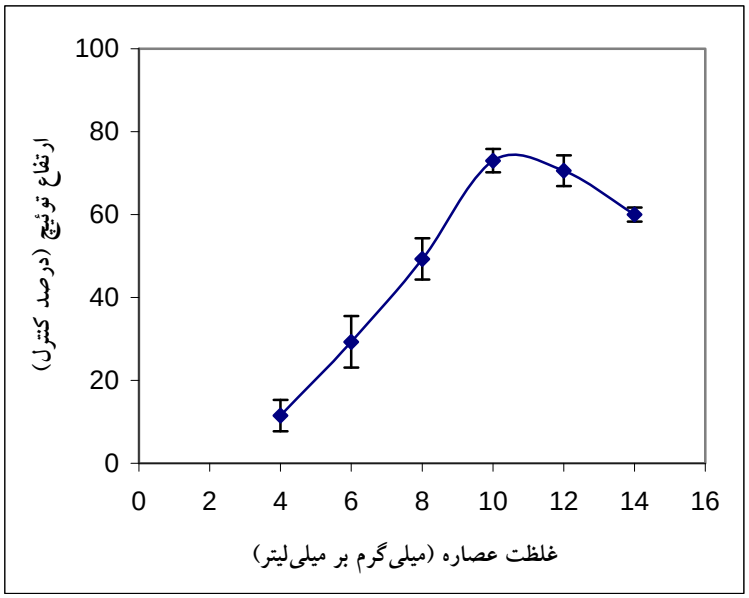
با توجه به LD_{50} سم عقرب از طریق وریدی که در بخش سم‌شناسی موسسه رازی ۵۰μg/mouse گزارش شده است [۲۵]، در این آزمایش حداقل کشندگی سم برای همه موش‌ها ۱۰۰ μg در نظر گرفته شد (جدول شماره ۱). قبل از انجام این آزمایش متوسط زمان مرگ موش‌ها پس از تزریق وریدی و زیر جلدی به ترتیب ۳۰ ثانیه و ۳۵ دقیقه محاسبه شد. نتایج نشان می‌دهد که تزریق وریدی سه غلظت ۵۰ μg/mouse، ۱۰۰ و ۱۵۰ سم همراه با مقادیر مختلف ۲/۵، ٤ و ٤/۵ میلی‌گرم عصاره تغییر محسوسی در میانگین زمان مرگ تزریق وریدی غلظت ۱۰۰ μg/mouse به تنهایی سم ایجاد نمی‌کند.

۲-۲ اثر سم عقرب به صورت زیر جلدی و عصاره از راه وریدی: در این آزمایش سم عقرب با غلظت‌های مختلف با حجم ۰/۲۵ میلی‌لیتر به صورت زیر جلدی در ناحیه کشاله ران موش سوری تزریق و بلافاصله ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به صورت وریدی در موش‌ها تزریق شد که نتایج نشان‌دهنده عدم تاثیر و تغییر محسوس در میانگین زمان مرگ موش‌ها می‌باشد (جدول شماره ۲).

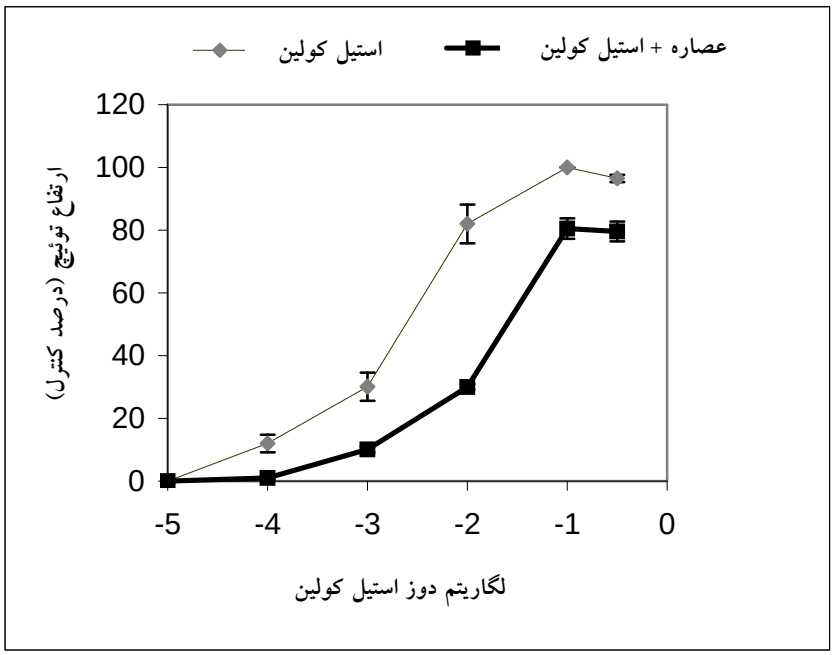
۲-۳ اثر سم عقرب همراه با عصاره گیاه به صورت زیر جلدی: در این آزمایش اثر عصاره در ناحیه تزریق، بررسی شده است. حجم کل تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر می‌باشد که ۰/۲۵ میلی‌لیتر آن عصاره با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۰/۲۵ میلی‌لیتر آن را سم عقرب تشکیل می‌دهد. با توجه به نتایج جدول شماره ۳، تغییر قابل توجه‌ای در زمان مرگ مشاهده

[1] Baseline

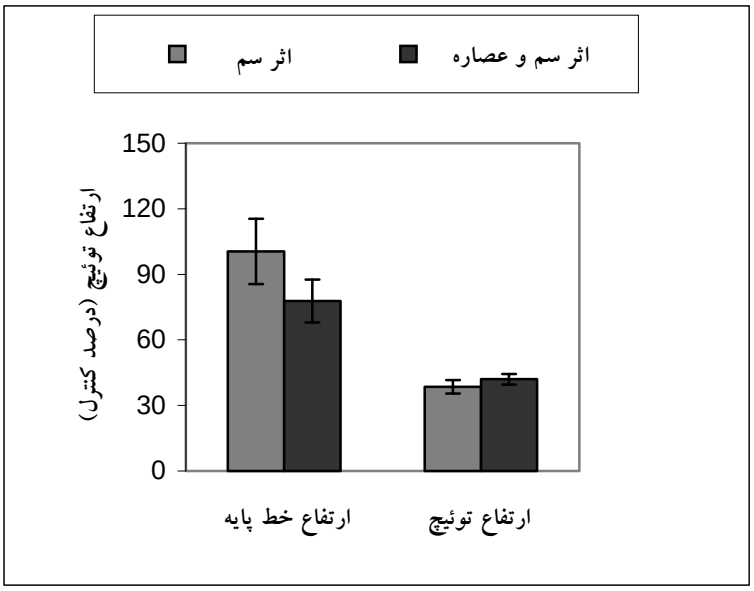
نمی‌شود و وجود عصاره همراه با سم عقرب تاثیری بر زمان مرگ نداشته است.



شکل شماره ۱- اثر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه بر روی ارتفاع انقباض‌های عضلانی سریع (توئیچ) CBC در پاسخ به تحریکات الکتریکی غیرمستقیم (عصب) در مقایسه با حالت کنترل بدون عصاره. نتایج به صورت Mean.± S. E. M. در ٦ آزمایش می‌باشد. همان‌طوری که در شکل مشخص است غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره حداکثر پاسخ توئیچ را در عضله CBC ایجاد کرده است.



شکل شماره ۲- اثر غلظت‌های مختلف استیل کولین به تنهایی ◆ و همراه غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره ■ بر ارتفاع انقباضات سریع عضلانی CBC در پاسخ به تحریکات الکتریکی غیرمستقیم. نتایج به صورت Mean ± S. E. M. در ٦ آزمایش می‌باشد. جابجایی منحنی دوز - پاسخ استیل کولین به سمت راست در حضور عصاره، می‌تواند نشان‌دهنده اثر آنتاگونیستی عصاره در برابر استیل کولین باشد.



شکل شماره ۳- اثرات غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر سم به تنهایی■ و همراه غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره ■ بر ارتفاع انقباض‌های آهسته عضلانی (خط پایه) و انقباضات سریع عضلانی CBC در پاسخ به تحریکات الکتریکی غیرمستقیم. نتایج به صورت Mean ± S. E. M. در ٤ آزمایش می‌باشد. کاهش انقباض‌های آهسته ایجاد شده و تغییر در ارتفاع توئیچ سم در حضور عصاره با p< ۰/۰۵ معنی‌دار نبوده است.

جدول شماره ۱- اثرات تزریق وریدی (دم) زهر عقرب به تنهایی و مخلوط با عصاره گیاه بر روی میانگین زمان مرگ موش سوری (میانگین زمان مرگ از ٤ بار آزمایش محاسبه شده است). نتایج نشان‌دهنده عدم تاثیر معنی‌دار (p< ۰/۰۵) تزریق وریدی عصاره در جلوگیری از تاثیر تزریق وریدی زهر و تاخیر زمان مرگ در موش‌ها می‌باشد.

مقدار سم تزریقی (µg/0.25ml/mice)	مقدار عصاره تزریقی (mg)	شماره موش	نتیجه	میانگین زمان مرگ (ثانیه)
۱۰۰	–	۱	+	۳۰
		۲	+	۳۲
۱۰۰	۲/۵	۱	+	۳۵
		۲	+	۳۰
۱۰۰	٤	۱	+	۳۵
		۲	+	۲٦
۱۵۰	۲/۵	۱	+	۲۵
		۲	+	۳۵
۵۰	٤	۱	+	۳۵
		۲	–	–

+: بیانگر مرگ موش

-: بیانگر زنده ماندن موش

جدول شماره ۲- اثرات تزریق زیر جلدی سم عقرب در ناحیه کشاله ران موش سوری و غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره به صورت وریدی از طریق دم بر روی میانگین زمان مرگ موش سوری (میانگین زمان مرگ از ٤ بار آزمایش محاسبه شده است). نتایج نشان‌دهنده عدم تاثیر معنی‌دار (p<۰/۰۵) تزریق وریدی عصاره در جلوگیری از تاثیر تزریق زیر جلدی زهر و تاخیر زمان مرگ در موش‌ها می‌باشد.

مقدار سم تزریقی (µg/0.25ml/mice)	شماره موش	نتیجه	میانگین زمان مرگ (دقیقه)
۳۰۰	۱	+	۳۰
	۲	+	۲۲
٤۰۰	۱	+	۲۵
	۲	+	۲۷
۵۰۰	۱	+	۱۲
	۲	+	۱۳

+: بیانگر مرگ موش

-: بیانگر زنده ماندن موش

جدول شماره ۳- اثرات تزریق همزمان دو غلظت مختلف سم همراه با غلظت mg/ml/0.25ml ۱۰ عصاره از طریق زیر جلدی در ناحیه کشاله ران بر روی میانگین زمان مرگ موش سوری (میانگین زمان مرگ از ٤ بار آزمایش محاسبه شده است). نتایج نشان‌دهنده عدم تاثیر معنی‌دار (p<۰/۰۵) تزریق هم‌زمان عصاره بر جذب زهر و به تاخیر انداختن زمان مرگ موش‌ها می‌باشد.

مقدار سم تزریقی (µg/0.25ml/mice)	شماره موش	نتیجه	میانگین زمان مرگ (دقیقه)
۳۰۰	۱	+	۳۵
	۲	+	۳۲
٤۰۰	۱	+	۲۵
	۲	+	۳۱

+: بیانگر مرگ موش

-: بیانگر زنده ماندن موش

۳- نتایج آزمایش‌های ایمونولوژیک: اگر چه احتمال ایجاد واکنش از نوع آنتی‌بادی و آنتی‌ژن بین عصاره گیاه و عقرب اندک به نظر می‌رسید [۲۵]، اما جهت اطمینان این آزمایش نیز انجام شد. در این آزمایش از سم چهار عقرب خانواده بوتیده که عمدتا در کشور ما باعث مرگ افراد می‌شود، استفاده شد. در وسط چاهک شیشه‌ای شماره سه، پلی آنتی سرم ریخته شد که با هر چهار نوع سم آزمایش شده ایجاد خطوط رسوبی می‌نماید. نتایج نشان‌دهنده عدم واکنش ایمونولوژیک بین عصاره گیاه و سم چهار عقرب تیره بوتیده می‌باشد.

بحث

در یک لیست، به بسیاری از گیاهان مورد استفاده در عقرب‌گزیدگی در بسیاری از نقاط دنیا که عقرب‌گزیدگی در آنجا یکی از مشکلات اصلی بهداشتی است، اشاره شده است. این لیست شامل تنها گیاهان گل‌دار[1] می‌باشد که به صورت الفبایی تنظیم شده است. از مهم‌ترین این جنس‌ها می‌توان به *Allium*، *Carica*، *Cyperus*، *Euphorbia*، *Solamum* اشاره کرد [۲۹]. اشاره به اثرات درمانی گیاهان در درمان عقرب‌گزیدگی تنها به چند مطالعه محدود می‌باشد [۳۰،۳۱،۳۲،۳۳] و بسیاری از تحقیقات انجام شده تاکنون در بیان و وجود دلیل مقایسه‌ای مناسب، ارزیابی یا بررسی دقیق علمی در زمینه اثر بخشی گیاهان در درمان عقرب‌گزیدگی نتیجه نداشته است. بایستی دقت کرد که بررسی اثرات مستقیم محافظتی (آنتی‌ونوم) گیاهان بر روی زهر جانوران سمی مستلزم داشتن اطلاع و شناسایی تمام ترکیبات گیاه که می‌توانند اثر ترکیبات خاص زهر (Toxins) بر روی گیرنده‌ها و یا کانال‌های خاص را مهار می‌کنند، می‌باشد. همچنین با توجه به افزایش قابل ملاحظه آزادسازی نروترانسمیترها به ویژه استیل کولین در زمان گزش عقرب که مسؤول بسیاری از اثرات کلینیکی گزش عقرب می‌باشند، بایستی به اثرات احتمالی آنتاگونیستی یا تداخل گیرنده‌های کاتکولامینی با ترکیبات گیاه توجه شود. همچنین لازم است وجود احتمال تحریک سیستم ایمنی توسط گیاه که می‌تواند منجر به خنثی‌سازی یا فاگوسیت پپتیدهای سمی زهر عقرب شود و یا واکنش مستقیم عصاره گیاه با زهر عقرب نیز در نظر گرفته شود. با این‌حال بدیهی است که اطلاع در مورد گیاهانی که می‌توانند در درمان گزش عقرب سودمند باشند، بسیار اندک است. ایران یکی از مناطق با پراکندگی و موارد گزش بالای عقرب است که عقرب‌گزیدگی یکی از مشکلات اصلی بهداشتی کشور ما می‌باشد. بدون شک اعتبارسازی با روش‌های علمی کاربرد برخی گیاهان که برای درمان عقرب‌گزیدگی در طب سنتی کشور مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌تواند در یافتن یک درمان جایگزین[1] برای درمان مرسوم پزشکی که همیشه موثر نبوده است همراه با درمان با آنتی ونوم ضدعقرب‌گزیدگی تهیه شده در موسسه رازی، مفید باشد.

به همین دلیل از آنجایی‌که در طب سنتی ما استفاده از گیاه پارکینسونیا آکولاتا در رفع اثرات عقرب‌گزیدگی مطرح شده است، در این مطالعه سعی شد با استفاده از روش‌های مختلف فارماکولوژیک و ایمونولوژیک پیشنهادی اثرات عصاره این گیاه در خنثی‌سازی اثرات زهر عقرب بررسی و مطالعه شود.

اثرات تحریکی سم عقرب بر روی عضلات اسکلتی به صورت انقباض و توئیچ عضلانی یا فیبریلاسیون می‌باشد که نتیجه اثرات تحریکی مستقیم سم بر روی گیرنده‌های کلینرژیک بافت عضلات و یا نتیجه تاثیر بر اعصاب حرکتی به علت آزادشدن نروترانسمیترها است [٤،٣٤]. به همین دلیل در بررسی مقایسه‌ای اثرات زهر بر بافت از غلظت‌های مختلف استیل کولین استفاده شد [٣٤]. سیستم عصبی - عضلانی موسوم به عضله مخطط دو بطنی گردن جوجه، شامل هر دو نوع فیبرهای آهسته و نیز سریع منقبض شونده است، و به همین خاطر دارای پاسخ متفاوت نسبت به استیل کولین خارجی است. به همین جهت از این عضله برای بررسی اثر داروها و سموم بر انتقال عصبی - عضلانی استفاده می‌شود [۲۸]. با توجه به منحنی دوز- پاسخ غلظت‌های مختلف عصاره، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که دارای بهترین پاسخ در ارتفاع انقباض‌های توئیچ در پاسخ به تحریک الکتریکی عصب بود به عنوان غلظت مناسب در آزمایش‌های انتخاب شد. اما همان‌گونه در نتایج آزمایش‌های *in vitro* نشان داده شد، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره سبب تغییر معنی‌دار ارتفاع انقباضات توئیچ سم نسبت به کنترل در CBC

[1] Flowering plants

[1] Alternative treatment

و انقباض‌های آهسته (خط پایه) در فیبرهای عضلانی نمی‌شود. در حالی‌که این غلظت انتخابی عصاره سبب شیفت معنی‌دار منحنی دوز – پاسخ استیل کولین به سمت راست می‌شود که می‌تواند بیانگر اثرات آنتاگونیستی نسبی عصاره بر روی گیرنده‌های نیکوتینی باشد. اگرچه مطالعات مشابه در این زمینه دیده نشد لیکن در نتایج آزمایش‌های *in vitro* اثرات مشخص عصاره گیاه بر سیستم انتقال عصبی – عضلانی و احتمالاً کولینرژیک مشاهده می‌شود. اگر چه این اثرات می‌تواند مورد توجه باشد، اما نمی‌تواند تغییر قابل ملاحظه‌ای و معنی‌داری ($p<$ ۰/۰۵) در اثر زهر سم عقرب بوتتوس سالسئی بر روی انتقال عصبی – عضلانی که عمدتاً از طریق پس سیناپسی تاثیر می‌گذارد، شود.

پس از اطمینان از عدم سمی و کشنده بودن غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره با حجم ۰/۵ میلی‌لیتر به روش‌های مختلف تزریقی و خوراکی در آزمایش‌های *in vivo*، سم عقرب با غلظت ۱۰۰ µg/ml وریدی به جهت اطمینان از کشندگی آن (با در نظر گرفتن LD_{50})، به تنهایی تزریق شد و متوسط زمان مرگ موش‌ها ۳۰ ثانیه به دست آمد. با تزریق وریدی همزمان این مقدار سم همراه با مقادیر مختلف عصاره و با توجه به احتمال بروز اثر تاخیری عصاره، تزریق وریدی عصاره ۱۰ دقیقه قبل از تزریق سم نیز انجام شد که در هر دو حالت تغییر معنی‌داری در زمان مرگ موش‌ها در مقایسه با کنترل (تزریق زهر به تنهایی) مشاهده نگردید (نتایج آورده نشد).

پس از مشاهده عدم تاثیر تزریق همزمان وریدی عصاره با سم در پیشگیری از مرگ حیوان، توجه به این مساله که شاید عصاره نمی‌تواند جلوی اثرات سریع سم را بگیرد و اگر سم در زمان طولانی‌تری جذب و اثر کند، عصاره احتمالاً اثرات خنثی‌کنندگی خود را اعمال نماید، معطوف شد. لذا به علت جذب آهسته سم از راه زیر جلدی، مقادیر مختلف سم از راه زیر جلدی (چند برابر مقدار حداقل کشندگی در تزریق وریدی) و متقابلاً عصاره از راه وریدی تزریق گردید که در مقایسه با تزریق زیر جلدی به تنهایی سم، تفاوتی معنی‌داری در زمان مرگ موش‌ها ملاحظه نشد. در یک آزمایش دیگر مخلوط عصاره با سم نیز به صورت زیر جلدی تزریق و نشان داده شد که وجود عصاره همراه با سم در ناحیه تزریق نیز در پیشگیری از مرگ حیوان موثر نمی‌باشد. در آزمایش تکمیلی دیگر نیز جهت بررسی اثر جذبی یا مهاری عصاره بر جذب پوستی سم، سطح تزریق زیر جلدی زهر در حیوان با مقداری از عصاره خالص تغلیظ شده، پوشانده و پانسمان شد که در کاهش و به تاخیر انداختن اثرات کشندگی سم کاملاً بی‌تاثیر بوده است (نتایج آورده نشد). به منظور بررسی احتمال واکنش ایمونولوژیک میان ترکیبات گیاه و زهر عقرب، آزمایش ایمونولوژیک Gel Diffusion در برابر کنترل مثبت آنتی‌ونوم پلی والان تهیه شده در برابر ٦ عقرب خطرناک ایرانی موسسه رازی کشورمان انجام شد. در این آزمایش واکنش ایمونولوژیک بین سموم چهار عقرب خطرناک ایران و عصاره گیاه دیده نشد.

از مشاهدات فوق می‌توان به طور خلاصه نتیجه گرفت که عصاره گیاه احتمالاً با اثرات نسبی بر سیستم کولینرژیک و سوماتیک تا حدودی دارای اثرات آرام بخشی در اثرات موضعی زهر داشته باشد، لیکن قادر به خنثی‌سازی اثرات سیستمیک زهر وارد شده به بدن نمی‌باشد و لذا استفاده از گیاه پارکینسونیا آکولاتا در خنثی‌سازی اثرات سم عقرب و درمان عقرب‌گزیدگی روش کاملاً موثر و مطمئن نمی‌باشد.

منابع

1. Dehesa-Davila M, Possani LD. Scorpionism and serotherapy in Mexico. *Toxicon*. 1994; 32: 1015 - 1018.

2. Becerril B, Marangoni S, Possani LD. Toxins and genes isolated from scorpions of the genus *Tityus*. *Toxicon*. 1997; 35: 821 - 835.

3. De Roodt AR, Garcia SI, Salomon OD, Segre L, Dolab JA, Funes RF and de Titto EH. Epidemiological and clinical aspects of scorpionism by *Tityus trivittatus* in Argentina. *Toxicon*. 2003; 41: 971-977.

4. Osnaya-Romero N, de Jesus Medina-Hernandez T, Flores-Hernandez SS and Leon-Rojas G. Clinical symptoms observed in children envenomated by scorpion stings, at the children's hospital from the State of Morelos, Mexico. *Toxicon*. 2001; 39: 781-785.

5. Zlotkin E, Miranda F and Rochat H. Chemistry and Pharmacology of *Buthidae* Scorpion venoms In: Arthropod venoms. 1978, pp: 317-69.

6. Martin MF, Rochat H. Use of HPLC to demonstrate quantitative variation in components of venom from the scorpion *Androctonus australis* Hector. *Toxicon*. 1987; 25: 569-573.

7. Zare AM. Scorpion Venom Poisoning. Dep. Of Biochemistry and Physiology of L. T. M. Medical College Bombay. Ph.D. Thesis. 1992, pp: 27-47.

8. Garcia C, Becerril B, Selisko B, Delepierre M and Possani LD. Isolation, characterization and comparison of a novel crustacean toxin with a mammalian toxin from the venom of the scorpion *Centruroides noxius* Hoffmann. *Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol*. 1997; 116: 315-322.

9.Ismail M. The scorpion envenoming syndrome. *Toxicon*. 1995; 33: 825-858.

10. Freire-Maia L, Campos JA and Amaral CF. Approaches to the treatment of scorpion envenoming. *Toxicon*. 1994; 32: 1009-1014.

11. Hutt MJ and Houghton PJ. A survey from the literature of plants used to treat scorpion stings. *J Ethnopharmacol*. 1998; 60: 97 - 110.

12. Uawonggul N, Chaveerach A, Thammasirirak S, Arkaravichien T, Chuachan C and Daduang S. Screening of plants acting against *Heterometrus laoticus* scorpion venom activity on fibroblast cell lysis. *J. Ethnopharmacol*. 2006; 103: 201-207.

13. Mors WB. Plants against snake-bites. *Mem Inst. Oswaldo Cruz*. 1991; 86 Suppl 2: 193.

14. Martz W. Plants with a reputation against snakebite. *Toxicon*. 1992; 30: 1131-1142.

15. Houghton PJ and Osibogun IM. Flowering plants used against snakebite. *J. Ethnopharmacol*. 1993; 39: 1-29.

16. Pereira NA, Pereira BM, do Nascimento MC, Parente JP and Mors WB. Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as snake venom antidotes; IV. Protection against *jararaca* venom by isolated constituents. *Planta Med*. 1994; 60: 99-100.

۱۷. ثابتی هومن. *درختان و درختچه‌های ایران*. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳٦٦. صفحه ۱۱۳.

۱۸. زاهدی اسماعیل. *واژه‌نامه گیاهان*. چاپ دوم. انتشارات دانشگاه تهران. مرداد ۱۳۷۳. صفحه ۱۳۲.

۱۹. زرگری علی. *گیاهان دارویی*. چاپ چهارم. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳٦۷. جلد ۲. صفحه ۱۳۹ – ۱۳۸.

20. Bhatia VK and Seshadri TR. Constitution of orientin, epi-orientin, and their methyl ethers. *Phytochemistry*. 1967; 6: 1033-1034.

21. Bhatia VK, Gupta SR and Seshadri TR. C-Glycosides of *Parkinsonia aculeate*. *Current of Sci*. 1965; 34: 634-638.

22. Bhatia VK, Gupta SR and Seshadri TR. C-Glycosides of the leaves of *Parkinsonia aculeate*. *Tetrahedron*. 1966; 22: 1147-1152.

23. Besson E and Chopin J. C-Glycosides from *Parkinsonia aculeate*. *Phytochemistry*. 1980; 19: 2787 - 2788.

24. Trivedi Vp and Schemes H. Preliminary studies of Garur buti (*Parkinsonia aculeate*) as an antirabic agent. *Q Journal of Crude Drug Res*. 1974; 12: 2022 - 2028.

۲۵. فرزان‌پی رضا. عقرب شناخت. مرکز نشر دانشگاهی تهران. ۱۳٦٦. صفحه ۲۷٤ – ۲۷۵.

۲٦. فرزان‌پی رضا. عقرب‌گزیدگی و پیامدهای آن. مجله پژوهش و سازندگی. زمستان ۱۳۷٤. شماره ۲۵. صفحه ۱۲۵–۱۲۳.

27. Harrisons. Principles of internal medicine. Vol. 2. 12th Ed. 1991, pp: 190.

28. Ginsberg, Warriner. The isolated Biventer Cervices nerve-muscle preparation. *Br. J. Pharmac.* 1960; 15: 410 - 411.

29. Brummit, R.K. Vascular Plant Families and Genera. Royal Botanic Gardens Kew, London, 1960. p. 754.

30. Afifi FU, Al-Khalil S, Aqel M, Al-Muhteseb MH, Jaghabir M, Saket M and Muheid A. Antagonistic effect of *Eryngium creticum* extract on scorpion venom *in vitro*. *J. Ethnopharmacol*. 1990; 29: 43-49.

31. Vasconcelos F, Sampaio SV, Garofalo MA, Guimaraes LF, Giglio JR and Arantes EC. Insulin-like effects of *Bauhinia forficata* aqueous extract upon *Tityus serrulatus* scorpion envenoming. *J. Ethnopharmacol*. 2004; 95: 385-392.

32. Jimenez-Ferrer E, Reynosa-Zapata I, Perez-Torres Y and Tortoriello J. The secretary effect of the poison from *Centruroides limpidus* limpidus on the pancreas of mice and the antagonistic action of the *Bouvardia ternifolia* extract. *Phytomedicine*. 2005; 12: 65-71.

33. Jimenez-Ferrer JE, Perez-Teran YY, Roman-Ramos R and Tortoriello J. Antitoxin activity of plants used in Mexican traditional medicine against scorpion poisoning. *Phytomedicine*. 2005; 12: 116-122.

34. Vatanpour H, Rowan EG and Harvey AL. Effects of scorpion (*Buthus tamulus*) venom on neuromuscular transmission *in vitro*. *Toxicon*. 1993; 31: 1373-1384.