بررسی اثرات فراکسیون‌های عصاره گیاه ریحان *Ocimum bacilicum* بر سندرم محرومیت مرفین در موش

حسین حسین‌زاده[1]*، محمد رمضانی[2]، زهرا آفرین[3]

۱- استاد، گروه فارماکودینامی و سم‌شناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی و دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد
۲- استاد، گروه بیوتکنولوژی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده بوعلی، دانشکده داروسازی مشهد، مشهد
۳- داروساز، گروه فارماکودینامی و سم‌شناسی دانشکده داروسازی مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد
*آدرس مکاتبه: مشهد، دانشکده داروسازی، صندوق‌پستی: ۹۱۷۷۵ - ۱۳٦۵، نمابر: ۸۸۲۳۲۵۱ (۰۵۱۱)
پست الکترونیک: hosseinzadehh@mums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۵ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۷/٦

چکیده

مقدمه: اثر ضددردی گیاه ریحان به اثبات رسیده است. این اثر گیاه در روش صفحه داغ، توسط نالوکسان مهار شده است.

هدف: به منظور مشخص نمودن اجزای مؤثر و فعال عصاره تام گیاه ریحان در کاهش علایم سندرم محرومیت مرفین که با نالوکسان القاء شد، فراکسیون‌سازی عصاره تام صورت گرفت.

روش بررسی: برای ایجاد وابستگی، موش را به مدت سه روز به صورت زیرجلدی تحت تزریق مرفین سه بار در روز به ترتیب با دوزهای ۵۰، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار داده شد و در روز چهارم آخرین دوز مرفین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و پس از دو ساعت نالوکسان (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تزریق شد. تزریق عصاره نیز نیم ساعت پس از آخرین تزریق مرفین صورت گرفت و تعداد پرش‌ها یک دقیقه پس از تزریق نالوکسان به مدت نیم ساعت شمارش شد. عصاره متانولی گیاه در آب سوسپانسیون شد و با کلروفرم استخراج شد و به دو جزء آبی و کلرفرمی تقسیم شد. فاز کلرفرمی پس از تغلیظ با حلال آب - متانول (۹:۱) سوسپانسیون شد و با اتردوپترول استخراج شد. دوز به کار رفته در مورد تمام عصاره‌ها ۱٤٦۰ - ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود.

نتایج: عصاره‌های متانولی، کلرفرمی و اتردوپترولی در مقایسه با عصاره‌های آبی و هیدروالکلی اثرات کاهندگی بیشتری در تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت داشتند. برای جداسازی بیشتر فراکسیون اتردوپترولی از کروماتوگرافی ستونی استفاده شد. فعالیت فراکسیون حاصل از ستون، ٤ مرتبه فعال تراز عصاره تام بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مشخص نمودند که عصاره گیاه ریحان و به خصوص اجزاء غیرقطبی آن قادرند علایم سندرم محرومیت مرفین را کاهش دهند.

گل‌واژگان: ریحان، ***Ocimum basilicum***، وابستگی به مرفین، فراکسیونه کردن، دیازپام، سندرم محرومیت

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]

مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاهی است علفی یک‌ساله، معطر دارای ساقه منشعب از قاعده و به ارتفاع ۱۵ تا ٤٥ سانتی‌متر، برگ‌ها متقابل، بیضوی، نوک تیز با کناره دندانه‌دار و گل‌هایی معطر به رنگ‌های سفید گلی و گاهی بنفش و مجتمع به صورت دسته‌های ٤ تا ٦تایی در طول قسمت انتهایی ساقه قرار دارند و برای مصارف درمانی برگ و شاخه‌های گلدار به کار می‌رود [۱].

ریحان حاوی ترکیبات متعددی همچون مونوترپن‌ها (carrone، cineole، fenchone، geraniol، linanol، myrcene و thujone)، سزکویی ترپنوئید (caryophyllene و farnesol)، تری ترپنوئید (ursolic acid) و فلاونوئید (apigenin) می‌باشد [٤-۲].

کاربردهایی که برای برگ گیاه در معطر ساختن اغذیه عنوان شده سابقه‌ای طولانی دارد. در طب سنتی دم کرده آن اثر ضد تشنجی، نیرو دهنده، مقوی، مدر، تقویت کننده عمل دستگاه هاضمه، از بین برنده نفخ، سرگیجه، دل پیچه و سرفه دارد [۱]. اثرات فارماکولوژی متعددی برای ریحان همچون ضدمیکروبی و ضدپرتوزوئری مانند ضد ژیاردیا [٥]، تریپانوسیدال [٦]، ضد ویروس [۲]، ضد هلیکوباکتر پیلوری [۷]، و همچنین دارای اثر ضد اکسیدان [۸]، ضدهیپرلیپیدمی [۹] و شل‌کننده عضلات تراشه خوکچه [۱۰] می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات اخیر که شامل مهار اسیدهای آمینه تحریکی توسط عصاره گیاه و نیز اثرات ضددردی این گیاه که در روش صفحه داغ، توسط نالوکسان مهار شده [۱٤،۱٥] احتمالاً عصاره ریحان قادر به تداخل با سیستم اوپیوئیدی است. اسیدهای آمینه تحریکی در ایجاد سندروم محرومیت نقش دارند [۱۱] و لینالول موجود در گیاه فعالیت گلوتامات را در آزمایش‌های برون‌تنی (به عنوان آنتاگونیست رقابتی L-گلوتامات) و در آزمایش‌های درون تنی (تشنج ناشی از *NMDA* و *Quin* را بلوک می‌کند)، تعدیل می‌کند و سبب کاهش آزاد شدن گلوتامات می‌شود [۱۲،۱۳]. با توجه به موارد فوق اثر عصاره و فراکسیون‌های این گیاه بر روی سندروم محرومیت به مرفین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوان

موش سفید نر با وزن ۲/٥ ± ۲٥ گرم از آزمایشگاه فارماکولوژی دانشکده داروسازی مشهد (اتاق حیوانات) تهیه شد. حیوانات در شرایط ۱۲/۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی در دمای ۲ ± ۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتاق حیوانات دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد نگهداری شدند. در تمام آزمایش‌ها، اصول اخلاقی رفتار با حیوانات رعایت شد.

جمع‌آوری گیاه و خشک کردن

گیاه کامل ریحان (*Ocimum basilicum* L.) از مزارع اطراف مشهد خریداری شد و توسط موزه گیاه‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد توسط آقای جوهرچی کارشناس این مرکز شناسایی و بعد از جمع‌آوری گیاه در سایه و به دور از نور خورشید خشک و سپس به کمک آسیاب خرد شد و یک نمونه هرباریومی از آن در هرباریوم دانشکده داروسازی مشهد با شماره هرباریوم [۰۱-۱٥۰۲-۱٥۳] نگهداری شد.

عصاره‌گیری به روش سوکسله و تهیه عصاره تام

مقدار ۳۰۰ گرم از پودر گیاه خشک شده پس از توزین به منظور حذف چربی و رزین و رنگدانه به مدت ۱۲ ساعت با اتردوپترول (٦۰-٤۰) در دستگاه سوکسله چربی‌زدایی شد. پس از آن به منظور تهیه عصاره در دستگاه سوکسله پودر خشک شده داخل کارتوش ریخته شد و به مدت ۱۲ ساعت مجدداً با متانول عصاره‌گیری انجام شد. پس از سرد شدن دستگاه عصاره متانولی به دست آمده صاف شده و داخل پلیت‌های شیشه‌ای ریخته و پس از خشک شدن توزین شد. بر روی عصاره حاصل، آزمایش‌های فارماکولوژیکی و فیتوشیمیایی انجام شد.

جداسازی عصاره کلرفرمی (ObC)

روی عصاره تام خشک آب مقطر ریخته و با کلرفرم (۳ بار هر بار ۱۰۰ میلی لیتر) داخل قیف دکانتور استخراج انجام شد.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]

فازهای کلرفرمی و آبی از هم جدا شد و برای هر فاز جداگانه حذف حلال صورت گرفت.

جداسازی فراکسیون‌های کلرفرمی ناشی از مرحله قبل

عصاره کلرفرمی ابتدا در مخلوطی از آب – متانول (۱:۹) حل شده و سپس با اتردوپترول **(ObE)** (۶۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد) استخراج شده و به کمک قیف دکانتور دو فاز قطبی و غیرقطبی از یکدیگر جدا شد. هر دو فاز آبی و آلی (اتری) حذف حلال شدند. عصاره آلی خهت انجام آزمایش‌های حیوانی در مخلوط آب مقطر و توئین ۸۰ حل شد.

کروماتوگرافی ستونی فاز اتردوپترولی

ابتدا ۱۰۰ گرم پودر سیلیکاژل ۶۰ با اندازه ۰/۰۴۰ – ۰/۰۱۵ میلی‌متر مخصوص ستون کروماتوگرافی در اتردوپترول سوسپانسیون شد. از فشار گاز نیتروژن برای تسریع در سرعت جریان حلال استفاده شد. این امر به وسیله رابط از کپسول نیتروژن با فشار kps ۶۸۰ تأمین شد. فراکسیون اتردوپترولی به ستون اضافه شد و سپس حجم‌های مختلف از سیستم حلال (اتردوپترول – متانول) افزوده شد و فراکسیون‌ها (۵۰ میلی‌لیتر) از زیر ستون جمع‌آوری شد. پس از خشک کردن فراکسیون‌ها بر روی آن اندکی استن ریخته و به ویال ۵ درجه سلسیوس منتقل شد. در مجموع ۱۶ فراکسیون جمع‌آوری شد. بر روی پلیت فعال تهیه شده از قبل به کمک لوله موئینه از هر یک از فراکسیون‌های ۱ تا ۱۶ یک لکه قرار داده شد، سپس در تانک کروماتوگرافی با حلال مناسب (اتردوپترول: متانول) (۹ :۱) قرار داده شد. پس از اتمام پیشروی حلال، پلیت‌ها در حرارت آزمایشگاه خشک شد و سپس به وسیله معرف اسید سولفوریک غلیظ در آب مقطر (۱:۱) اسپری شد. کروماتوگرام به دست آمده در زیر UV نیز بررسی شد. آنچه مشاهده شد میزان پیشروی یکسان لکه‌های ۱ تا ۸ و ۹ تا ۱۶ بود که بر این اساس فراکسیونهای ۱ تا ۸ با هم مخلوط شد و فراکسیون A نامیده شد. فراکسیونهای ۹ تا ۱۶ نیز با هم مخلوط شدند و فراکسیون ObF نامیده شد. این فراکسیون‌ها به همان شیوهٔ قبل با دوزهای ۱۵۰، ۵۸۰، ۱۰۲۰ و ۱۴۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های وابسته تزریق شد.

انجام آزمایش‌های فیتوشیمیایی

غربالگری فیتوشیمیایی عصاره توسط مواد و واکنشگرهای زیر انجام پذیرفت. برای تعیین وجود آلکالوئیدها از معرف دراژندروف و برای فلاونوئیدها از منیزیم و اسید کلریدریک و برای اثبات وجود تانن از محلول ۱ درصد ژلاتین و ۱۰ درصد کلرید سدیم استفاده شد و وجود ساپونین از طریق توانایی تولید کف مورد آزمایش قرار گرفت [۱۶].

روش ایجاد وابستگی به مرفین در موش نر

برای ایجاد وابستگی گروه‌هایی شامل ۸ حیوان مورد استفاده قرار گرفت. ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش، موش‌ها را به اتاق آزمایش منتقل کرده و در روز بعد، تزریق مرفین به موش‌ها صورت گرفت. موش‌ها روزانه سه دوز مرفین (۵۰، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت زیرجلدی به ترتیب در ساعات ۸ و ۱۱ و ۱۴ دریافت کردند. (دوز بالای سوم جهت جلوگیری از ایجاد سندرم محرومیت در شب می‌باشد) این کار به مدت ۳ روز انجام شد و در روز چهارم دوز انتهایی مرفین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت زیرجلدی تزریق شد [۱۷،۱۸].

روش ایجاد سندرم محرومیت در موش‌ها و شمارش پرش‌ها

سندرم محرومیت به وسیله تجویز آنتاگونیست گیرنده اوپیوئیدی (نالوکسان) ایجاد شد. نالوکسان به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به صورت داخل صفاقی تجویز شد. ۲ ساعت پس از تزریق آخرین دوز مرفین، تزریق نالوکسان صورت گرفت. هر کدام از موش‌ها زیر یک بشر قرار گرفته و تعداد پرش‌ها پس از گذشت یک دقیقه از تزریق نالوکسان و به مدت ۳۰ دقیقه شمرده شد که نشانه سندرم محرومیت می‌باشد. درصد کاهش پرش‌ها نسبت به کنترل سنجیده شد [۱۷،۱۸].

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]

روش بررسی اثر عصاره گیاه روی سندرم محرومیت در موش‌ها

ابتدا جهت یافتن بهترین زمان تزریق عصاره، عصاره گیاه ۳۰ دقیقه قبل و بعد از آخرین دوز مرفین و ٦٠ دقیقه قبل از آخرین دوز مرفین به میزان ١٤٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد که طبق نتایج به دست آمده بهترین زمان تزریق ۳۰ دقیقه پس از آخرین دوز مرفین بود. طبق آزمایش‌های اولیه با توجه به سمیت گیاه حداکثر دوز قابل تحمل ١٤٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم انتخاب شد. دوز های بعدی ۷۰، ٤٠ و ۱۰ درصد این دوز یعنی ۱۰۲۰، ۵۸۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم انتخاب شد.

عصاره در دوزهای ۱۵۰، ۵۸۰، ۱۰۲۰ و ١٤٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی نیم ساعت پس از تجویز آخرین دوز مرفین تجویز شد. اثر عصاره روی تعداد پرش‌های ایجاد شده در موش‌های وابسته در مدت ۳۰ دقیقه به صورت Mean ±SEM بیان شدند.

در گروه شاهد منفی نرمال سالین حاوی توئین ۸۰ (۵ درصد) و در گروه شاهد مثبت دیازپام با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شد.

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شده است. پس از انجام ANOVA، و در صورت معنی‌دار بودن آن از تست Tukey – Kramer استفاده شد. نتایج با $p< ۰/۰۵$ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

از ۱۰۰ گرم پودر خشک آسیاب شده گیاه ریحان در مرحله اول عصاره‌گیری ۲۰/۳ گرم عصاره تام به دست آمد. در مرحله دوم عصاره‌گیری ٦/۸۲ گرم عصاره خشک کلرفرمی و ۱۳/۲ گرم عصاره آبی به دست آمد. در مرحله سوم عصاره‌گیری ۰/۷۳ گرم عصاره خشک اتردوپترولی و ۲/۲۹ گرم عصاره خشک آب: متانولی (۹ : ۱) به دست آمد.

اثرات عصاره‌ها و فراکسیون‌ها بر سندرم محرومیت بر روی موش

اثر عصاره

تمامی گروه‌های عصاره تام متانولی و دیازپام باعث مهار سندروم محرومیت شدند ($p< ۰/۰۰۱$). درصد محافظت عصاره ١٤٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ٥٦/٢ درصد و دیازپام ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۹۹ درصد بود (شکل شماره ۱).

تمامی گروه‌های عصاره کلرفرمی باعث کاهش تعداد پرش‌ها ناشی از سندروم محرومیت به مرفین شدند. درصد محافظت عصاره ١٤٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم برابر ۸۲/۸ درصد و عصاره ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم برابر ۳۲/۸۱ درصد بود (شکل شماره ۲).

تمامی گروه‌های عصاره آبی نسبت به کنترل منفی تعداد پرش‌ها را کاهش دادند ولی مشاهده شد که با کاهش دوز عصاره، درصد محافظت کمی افزایش یافته است.

درصد محافظت عصاره ١٤٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ٣٤/٤ درصد و در دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حدود ٦٧/٢٠ به دست آمد (شکل شماره ۳).

بررسی نتایج عصاره آبی – متانولی نشان داد که تمامی گروه‌های عصاره نسبت به کنترل منفی تعداد پرش‌ها را کاهش دادند اگرچه این اثر نسبت به گروه‌های دیگر کمتر بود. درصد محافظت عصاره ١٤٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم حدود ۲۵ درصد، و عصاره ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حدود ٤/٧ درصد به دست آمد (شکل شماره ٤).

تمامی گروه‌های عصاره اتردوپترولی نسبت به کنترل منفی کاهش چشمگیری را در تعداد پرش‌های در مقایسه با عصاره آب– متانولی از خود نشان دادند. درصد محافظت عصاره ١٤٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم حدود ٦٥/٦ گرم و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حدود ٤٠/٦ به دست آمد (شکل شماره ۵).

نتایج به دست آمده از جداسازی فراکسیون‌ها و بررسی اثر آنها بر تعداد پرش‌ها

فراکسیون‌های ۱ تا ۸ حاصل از کروماتوگرافی ستونی که به نام فراکسیون A نامگذاری شد طبق بررسی‌های به عمل آمده

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]

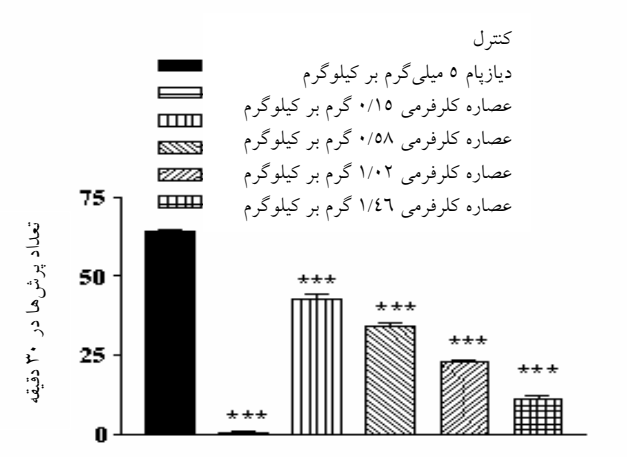
به عنوان رنگدانه مشخص شد و فاقد اثـرات مـؤثر بـر کـاهش علایم سندرم محرومیت می‌باشند.

فراکسیون‌های ۹ تا ۱۶ پـس از انجـام کروماتوگرافی لایـه نازک و تعیین R_f با هم مخلوط شدند و فراکـسیون بـه دسـت آمده (ObF) جهت بررسی اثر بر روی تعداد پرش‌ها در مـوش مورد آزمایش قرار گرفت. در این آزمـایش تمـامی گـروه‌هـای عصاره نسبت به کنترل منفی کـاهش تعـداد پـرش‌هـا را نـشان دادند. درصد محافظت عـصاره ۱٤٦۰ میلـی‌گـرم بـر کیلـوگرم حدود ۹۵/۱ درصد و عصاره ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حـدود ۹۲/۲ درصد به دست آمد (شکل شماره ٦).

نتایج حاصل از بررسی اثر دوزهای مختلف فراکسیون رقیق شده بر موش وابـسته بـه مـرفین (mg/kg, i.p. ۲۰، ٦۰، ۱۱۰، ۱۵۰) بررسی شدند ولی کاهش چشمگیری مشاهده نشد.

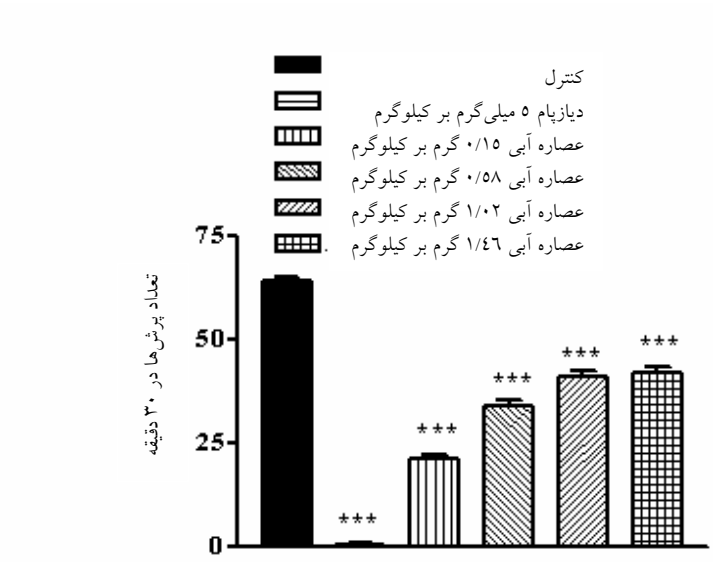
درصد محافظت عصاره ۱۱۰ میلی‌گرم بر کیلـوگرم حـدود ٦۰/۹٤ درصـد، و عـصاره ۲۰ میلـی‌گـرم بـر کیلـوگرم حـدود ٤۵/۳ درصد به دست آمد (شکل شماره ۷).

شکل شماره ۱- اثر عصاره آبی تام متانولی گیاه ریحان بر تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت در موش. نتایج به صورت میانگین تعداد پرش‌ها + خطای معیار ۸ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱>p***.

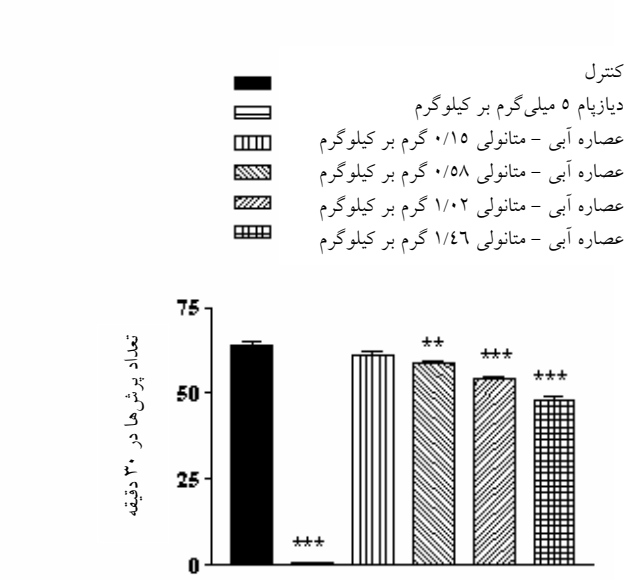


شکل شماره ۲- اثر عصاره کلرفرمی گیاه ریحان بر تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت در موش. نتایج به صورت میانگین تعداد پرش‌ها + خطای معیار ۸ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱>p***.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]



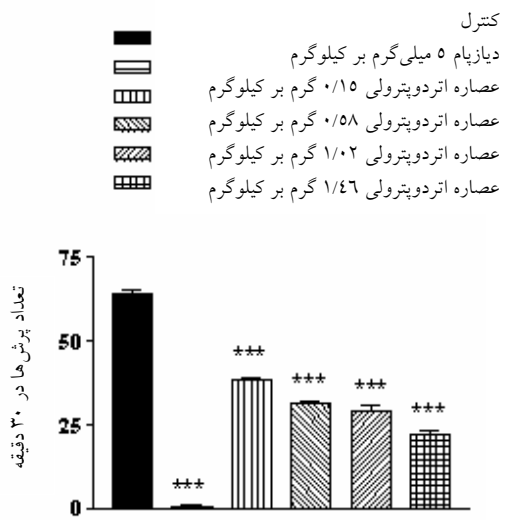
شکل شماره ۳- اثر عصاره آبی گیاه ریحان بر تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت در موش. نتایج به صورت میانگین تعداد پرش‌ها + خطای معیار ۸ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: $p<0/001$ *.**



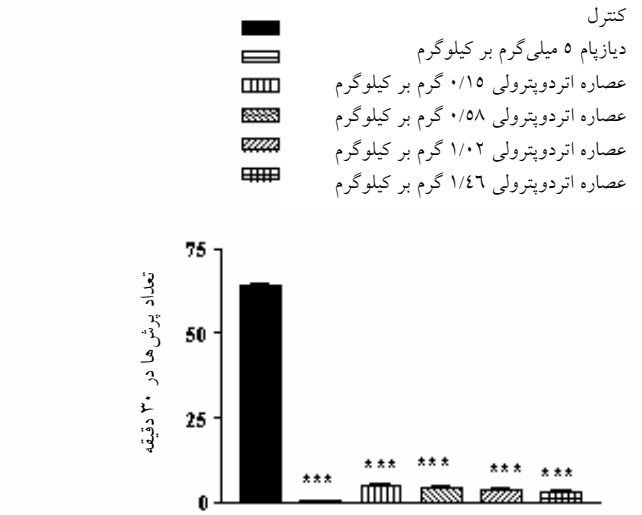
شکل شماره ٤- اثر عصاره آبی- متانولی گیاه ریحان بر تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت در موش. نتایج به صورت میانگین تعداد پرش‌ها + خطای معیار ۸ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: $p<0/001$ *.**

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]

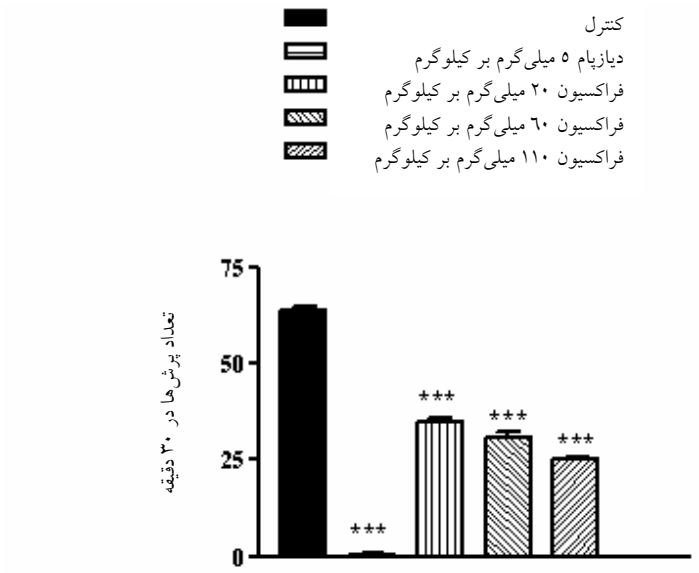


شکل شماره ۵- اثر عصاره اتردو پترولی گیاه ریحان بر تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت در موش. نتایج به صورت میانگین تعداد پرش‌ها + خطای معیار ۸ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱>p *.**



شکل شماره ٦- اثر فراکسیون‌های سیستم حلال اتردوپترول - متانول گیاه ریحان بر تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت در موش. نتایج به صورت میانگین تعداد پرش‌ها + خطای معیار ۸ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱>p *.**

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]



شکل شماره ۷- اثر فراکسیون‌های سیستم حلال اتردوپترول - متانول رقیق شده گیاه ریحان بر تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت در موش. نتایج به صورت میانگین تعداد پرش‌ها + خطای معیار ۸ موش بیان شده است. مقایسه با کنترل. آزمون توکی: ۰/۰۰۱>p *.**

نتایج حاصل از آزمایش‌های فیتوشیمیایی

نتایج حاصل از آزمون شیمیایی به شرح زیر بود:

جدول شماره ۱- نتایج به دست آمده از آزمایش‌های فیتوشیمیایی گیاه ریحان

نوع عصاره	آلکالوئید	تانن	ساپونین	فلاونویید
عصاره متانولی	+	+	+	+
عصاره اتردوپترولی	+	+	+	+
فراکسیون ObF	-	+	+	+

بحث

با توجه به مکانیسم‌های دخیل در بروز علایم سندرم محرومیت، ترکیباتی قادر به کاهش علایم سندرم محرومیت هستند که بتوانند سیستم‌های درگیر را تعدیل کنند یا سبب تحریک سیستم‌های مهاری شوند. عوامل و سیستم‌هایی همچون آدنوزین [۱۹]، سیستم آدرنرژیک [۲۰]، سیستم دوپامینرژیک [۲۱]، اسیدهای آمینه تحریکی [۱۱،۲۲] و مهارکننده‌های *PKC* [۲۳] می‌توانند بر روی سندروم محرومیت نقش داشته باشند.

اثر ضددردی عصاره الکلی اندام هوایی ریحان و اثر ضددردی فراکسیون‌های اندام هوایی گیاه ریحان قبلاً بررسی شده‌اند [۱۴،۱۵] و چون این اثرات با تزریق نالوکسان مهار می‌شوند نتیجه‌گیری شد که بر گیرنده‌های اوپیوییدی مؤثرند. با نتایج این مطالعه مشخص شد که عصاره متانولی، عصاره کلرفرمی، عصاره اتردوپترولی و فراکسیون ObF سبب کاهش چشمگیر علایم سندرم محرومیت شدند. یعنی جزء یا اجزاء مؤثر ترکیباتی غیرقطبی‌اند. در مطالعاتی که قبلاً بر روی اثرات

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]

ضدوابستگی اوپیوییدی انجام شده نیز ترکیبات مؤثر اکثراً ترکیباتی غیرقطبی شناسایی شده‌اند [۱۸،۲٤].

از آنجایی که اثرات عصاره ریحان بر روی سیستم دوپامینرژیک قبلاً بررسی شده است [۲۵] و اثرات ترکیبات آنتاگونیست D_2 بر روی سندرم محرومیت مرفین نیز مطالعه شده است [۲۱] احتمالاً یکی از مکانیسم اثرات فراکسیون ObF از طریق آنتاگونیزه کردن گیرنده دوپامینی می‌باشد.

در این مطالعه اثرات فراکسیون‌های گیاه ریحان بر سندرم محرومیت مرفین بررسی شد. در این بررسی فراکسیون‌های مختلف این گیاه سبب کاهش علایم سندرم محرومیت شدند که به صورت کاهش در تعداد پرش‌های موش وابسته به مرفین تحقق یافت. به علت اثر کاهندگی بیشتر برخی از عصاره‌ها عمل جداسازی بر روی آنها صورت گرفت. این مطالعه نشان داد که عصاره آبی با افزایش دوز از طریق یک سری مکانیسم‌های خاص باعث ایجاد اثرات تحریکی شد. احتمالاً جزیی در این عصاره موجود بوده که باعث بروز اثرات آنتاگونیستی گردیده است.

با مقایسه بین فراکسیون آبی و فراکسیون کلرفرمی، اثرات کاهندگی بهتری برای فراکسیون کلرفرمی نسبت به آبی مشاهده شد. لذا جداسازی بر روی فراکسیون کلرفرمی صورت گرفت. عصاره‌های حاصل از استخراج در این مرحله شامل فراکسیون اتردوپترولی و فراکسیون هیدروالکلی بودند که فراکسیون اتردوپترولی اثرات به مراتب بهتری نسبت به فراکسیون هیدروالکلی نشان داد. به همین دلیل جداسازی بر روی این فراکسیون انجام شد. لازم به ذکر است که قبل از این مرحله فراکسیون اتردوپترولی با دوزهای کمتر از ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز به موش تزریق شد و باز هم اثرات کاهندگی مشاهده شد.

اثرات فراکسیون نهایی (ObF) حاصل از فراکسیونه کردن جزء اتردوپترولی نیز بررسی شد که اثرات کاهندگی بسیار چشمگیری مشاهده شد به طوری که اثرات دوزهای ۱٤٦۰ و ۱۰۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقریباً نزدیک به اثرات کاهندگی دیازپام بود. این فراکسیون با دوزهای کمتر از ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز تزریق شد که مجدداً اثرات کاهندگی ملاحظه شد.

بررسی اثرات فراکسیون‌های گیاه ریحان در کاهش تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت مرفین

اثرات عصاره متانولی تام بر کاهش تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت مرفین مطالعه شد. عصاره در محدوده دوزهای ۱٤٦۰، ۱۰۲۰، ۵۸۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثرات وابسته به دوز نشان داد.

برای بررسی اثرات فراکسیون‌ها بر تعداد پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت عصاره تام متانولی تهیه و فراکسیونی که جداسازی شد. یک فاز آبی یک فاز آلی به دست آمد. بر طبق نتایج به دست آمده، فاز آلی توانست اثرات کاهندگی مناسبی را در محدوده دوزهای ۱٤٦۰، ۱۰۲۰، ۵۸۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ایجاد کند که طبق مطالعه انجام شده این اثر وابسته به دوز می‌باشد. علاوه بر این فاز آبی نیز مورد بررسی قرار گرفت. این عصاره نیز اثرات کاهندگی از خود نشان داد و لیکن با توجه به اثر کمتر آن نسبت به عصاره آلی و همچنین ایجاد کمی اثرات تحریکی با افزایش دوز، مطالعه بعدی بر روی عصاره کلرفرمی انجام شد. اثرات تحریکی عصاره آبی با افزایش دوز احتمالاً مربوط به وجود یک جزء در عصاره می‌باشد که دارای اثرات آنتاگونیستی است.

در مرحله بعد نیز با استخراج مجدد فاز کلرفرمی تشکیل شد که هر دو مورد بررسی قرار گرفتند. فاز آبی در این مرحله در محدوده دوزهای ۱٤٦۰، ۱۰۲۰، ۵۸۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثرات کاهندگی وابسته به دوز ایجاد نمود. اثرات کاهندگی ObE نیز مطالعه و مشخص شد که این فاز در محدوده دوزهای ۱٤٦۰، ۱۰۲۰، ۵۸۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثرات کاهندگی بسیار خوبی و وابسته به دوز ایجاد کرد. با توجه به اثرات کاهندگی خوب فاز اتردوپترولی و با توجه به اینکه این مرحله آخرین مرحله جداسازی بود برای بررسی بیشتر میزان اثرات کاهندگی این فاز با دوزهای ۱۵۰،

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]

۱۱۰، ٦۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز به موش تزریق شد. مشاهده شد که اثرات کاهندگی در محدوده دوزهای فوق وابسته به دوز و لیکن با تفاوتی اندک نسبت به مرحله قبل بود.

با توجه به نتایج به اثرات بسیار خوب عصاره اتردوپترولی از این عصاره برای ستون کروماتوگرافی استفاده شد. فراکسیون ObF حاصل از ستون کروماتوگرافی اثرات بسیار خوبی در کاهش تعداد پرش‌ها داشته که تا حد زیادی مشابه اثر دیازپام بود.

ارزیابی نتایج فیتوشیمیایی گیاه ریحان

برخی گیاهان مانند زعفران [۲٦]، رزماری [۲۷]، زومریا [۲۸] و زرشک [۲۹] باعث کاهش نشانه های سندروم محرومیت می‌شوند. با بررسی‌های انجام شده وجود تانن، ساپونین و فلاونوئید در هر سه گروه عصاره تام متانولی، عصاره اتردوپترولی و فراکسیون نهایی (ObF) مشاهده شد. تانن‌ها ترکیباتی هستند که در اکثر گیاهان به مقدار زیادی موجودند و دارای اثرات سطحی و فاقد اثرات سیستمیک هستند لذا در کاهش علایم سندرم محرومیت فاقد اثر می‌باشند. ساپونین نیز ترکیباتی با قطبیت فراوان هستند که در فرم گلیکوزیدی فاقد توانایی عبور از سد خونی مغزی و اعمال اثر بر گیرنده‌های اوپیوییدی می‌باشند. فلاونوئیدها نیز طیف وسیعی از ترکیبات غیرقطبی تا قطبی را شامل می‌شوند که خصوصیات مختلفی را به آنها نسبت داده‌اند. فرم‌های گلیکوزیدی فلاونوئیدی در اتر نامحلول هستند، بنابراین اثرات دیده شده مربوط به وجود ترکیبات دیگری است که نیاز به بررسی بیشتر دارد. از طرفی با توجه به اثرات ترپن‌ها بر سیستم اعصاب مرکزی و با توجه به اینکه اجزای اصلی اسانس ریحان لینالول، سینئول و ائوژنول می‌باشند [۳۰] و برای این ترکیبات اثرات ضدصرعی [۳۱]، خواب‌آوری [۳۲] سداتیو و شل‌کنندگی عضلانی [۳۳،۳٤] که نشان‌دهنده اثر این ترکیبات در سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد و از طرفی کلیه این ترکیبات محلول در چربی بوده و بنابراین در عصاره اتری وجود خواهد داشت، لذا به احتمال زیاد این ترکیبات مسئول در کاهش علایم سندرم محرومیت می‌باشند.

خلاصه نتیجه نهایی

بر اساس نتایج فیتوشیمیایی و فراکسیونه کردن عصاره متانولی گیاه ریحان می‌توان مکانیسم‌های گوناگونی را در این امر دخیل دانست.

با توجه به نتایج موجود مشخص شد که عصاره گیاه ریحان حاوی ترکیباتی است که قادرند علایم سندرم محرومیت مرفین را کاهش دهند. فراکسیونه کردن گیاه مشخص نمود که ترکیب (ات) فعال گیاه غیرقطبی‌اند زیرا فاز کلرفرمی (ObC) نتایج بهتری نشان داد. با ادامه فراکسیونه کردن فعالیت بیشتر فاز اتردوپترولی (ObE) نسبت به فاز هیدروالکلی مشخص شد. یعنی فراکسیونه کردن نهایی سبب انتقال جزء (اجزاء) فعال به فاز اتردوپترولی شد. کروماتوگرافی ستونی فراکسیون ObE سبب ایجاد فراکسیون ObF شد. این فراکسیون حداقل ٤ مرتبه فعال‌تر از عصاره تام بود. کارایی ObF تقریباً با دیازپام به عنوان کنترل مثبت یکسان بود البته قدرت اثر ObF به مراتب کمتر از دیازپام بود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشکده داروسازی جهت تامین منابع مالی این تحقیق تشکر و قدر دانی می نمایند. این مقاله قسمتی از پایان‌نامه دانشجویی مقطع داروسازی بوده است.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]

منابع

1. Zargari A. Medicinal Plants. Vol. 4, 6th ed. Tehran University Publication. Tehran. 1997, pp: 47-51.

2. Chiang LC, Ng LT, Cheng PW, Chiang W and Lin CC. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*. 2005; 32: 811 - 6.

3. Sajjadi SE. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *Daru* 2006; 14: 128 - 30.

4. Telci I, Bayram E, Yilmaz G and Avci B. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). *Biochem. Systematics Ecol.* 2006; 34: 489 - 97.

5. De Almeida I, Alviano DS, Vieira DP, Alves PB, Blank AF, Lopes AHCS, Alviano CS and Rosa MDSS. Antigiardial activity of *Ocimum basilicum* essential oil. *Parasitol. Res*. 2007; 101: 443 - 52.

6. Santoro GF, Cardoso MG, Guimaraes LG, Mendonca LZ and Soares MJ. *Trypanosoma cruzi*: activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Exp. Parasitol*. 2007; 116: 283 - 90.

7. Nakhaei MM, Malekzadeh F, Khaje-Karamoddin M and Ramezani M. In vitro anti-Helicobacter pylori effects of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) and purple basil (*Ocimum basilicum* var. purpurascens). *Pakistan J. Biol. Sci*. 2006; 9: 2887 - 91.

8. Gulcin I, Elmastas M, Aboul-Enein HY. Determination of antioxidant and radical scavenging activity of Basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) assayed by different methodologies. *Phytother. Res.* 2007; 21: 354 - 61.

9. Amrani S, Harnafi H, Bouanani Nel H, Aziz M, Caid HS, Manfredini S, Besco E, Napolitano M and Bravo E. Hypolipidaemic activity of aqueous *Ocimum basilicum* extract in acute hyperlipidaemia induced by triton WR-1339 in rats and its antioxidant property. *Phytother. Res.* 2006; 20: 1040 - 5.

10. Boskabady MH, Kiani S and Haghiri B. Relaxant effects of *Ocimum basilicum* on guinea pig tracheal chains and its possible mechanism (s). *Daru* 2006; 13: 28 - 33.

11. Zhu H, Rockhold RW and Ho IK. The role of glutamate in physical dependence on opioids. *Jpn. J. Pharmacol.* 1998; 76: 1 - 14.

12. Elisabetsky E. Brum LF and Souza, DO. Anticonvulsant properties of linalool in glutamat-related seizure models. *Phytomedicine* 1999; 6: 107 - 13.

13. Brum LF, Elisabetsky E and Souza DO. Effects of linalool on [(3) H] MK801 and [(3)H] muscimol binding in mouse cortical membranes. *Phytother. Res.* 2001; 15: 422 - 5.

14. Khanna N, Bhatia J. Antinociceptive action of Ocimum sanctum (Tulsi) in mice: possible mechanisms involved. *J Ethnopharmacol*. 2003 88:293-6.

15. Venâncio AM, Onofre AS, Lira AF, Alves PB, Blank AF, Antoniolli AR, Marchioro M, Estevam Cdos S, de Araujo BS. Chemical composition, acute toxicity, and antinociceptive activity of the essential oil of a plant breeding cultivar of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Planta Med*. 2011; 77: 825 - 9.

16. Treas GE and Evans WC. Pharmacognosy, 12th ed. Eastbourne; Bailliere Tindall. 1983, pp: 421 – 4.

17. Rezayat M, Azizi N, Zarrindast MR. On the mechanism (s) cholecystokinin of (CCK): receptor stimulation attenuates morphine dependence in mice. *J. Pharmacol. Toxicol*. 1997; 81: 124 - 9.

18. Ramezani M, Hosseinzadeh H, Mojtahedi K. Effects of *Ferula gummosa* Boiss. fractions on

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]

morphine dependence in mice. *J. Ethnopharmacol*. 2001; 77: 71 - 5.

19. Michalska E and Malec D. Agonist and antagonists of adenosine receptors and morphine withdrawal syndrome in rats. *Pol. J. Pharmacol.* 1993; 45: 1 - 9.

20. Ambrosio E, Iglesias V, Garcia-Lecumberri C, Orensanz L and Alguacil LF. Effect of yohimbine on the development of morphine dependence in the rat: lack of involvement of cortical beta-adrenoceptor modifications. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 1997; 56: 487 - 91.

21. Funada L and Shippenberg TS. Different involvement of D_1 and D_2 dopamine receptors in the expression of morphine withdrawal signs in rats. *Behav. Pharmacol.* 1996; 7: 448 - 53.

22. Gonzalez P, Cabello P, Germany A, Norris B and Contreras E. Decrease of tolerance to, and physical dependence on morphine by, glutamate receptor antagonists. *Eur. J. Pharmacol*. 1997; 332: 257 - 62.

23. Tokuyama S, Feng Y, Wakabayashi H and Ho IK. Possible involvement of protein kinases in physical dependece on opioids: study using protein kinase C inhibitors, H7 and H8. *Eur. J. Pharmacol*. 1995; 284: 101 - 7.

24. Hosseinzadeh H, Lary P. Effect of *Salvia leriifolia* Benth. leaf extract on morphine dependence in mice. *Phytother. Res*. 2000; 14: 1 - 4.

25. Sakina M, Dandiya P, Hamdard M and Hameed A. Preliminary psychopharmacological evaluation of *Ocimum sanctum* leaf extract, *J. Ethnopharmacol*. 1990; 28: 143 - 50.

26. Hosseinzadeh H and Jahanian Z. Effect of *Crocus sativus* L. (saffron) stigma and its constituents, crocin and safranal, on morphine withdrawal syndrome in mice. *Phytother. Res.* 2009; 24: 726 - 30.

27. Hosseinzadeh H and Nourbakhsh M. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts extract on morphine withdrawal syndrome in mice. *Phytother. Res.* 2003; 17: 938 - 41.

28. Hosseinzadeh H, Ramezani M and Ghorbani M. Effect of Zhumeria *majdae* Rech. F. & Wendelbo aerial parts extracts and fractions on morphine withdrawal syndrome in mice. *J. Med. Plants* 2007; 6: 48 - 60.

29. Nassiri-Asl M, Hosseinzadeh H and Mortazavi SR. Effects of *Berberis vulgaris* fruit extracts and its active component, berberine, on morphine dependence, hypnosis and locomotor activity in mice. *Pharmacologyonline* 2007; 1: 190 - 202.

30. Ismail M. Central Properties and Chemical Composition of *Ocimum basilicum* Essential Oil. *Pharmac. Biol*. 2006; 44: 619 – 26.

31. MacDonald RL and Kelly KM. Antiepileptic drug, mechanisms of action. *Epilepsia.* 1995; 36: 502 – 12.

32. Robbers JE, Speedie MK and Tyler VE. Terpenoids. In: Santos FA, Rao VS, eds., Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology. Williams & Wilkins. New York. 1996, pp: 79 – 104, 375.

33. Boissier JR, Simon P and Le Bourhis B Experimental psychotropic effect of isomeric cis and trans-anetholes. *Therapie.* 1967; 22: 309 – 23.

34. Dallmerier K and Carlini EA. Anesthetic, hypothermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. *Pharmacol.* 1981; 22: 582 – 93.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.31.7]