



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

التداخل الدوائي بين الترامادول و الكلورفينيرامين على مستوى تسكين الألم والسلوك العصبي في نموذج الفئران

علي إسماعيل ذنون المشهداني

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الأدوية والسموم البيطرية

بإشراف

الأستاذة الدكتورة

غادة عبد المنعم فارس

التداخل الدوائي بين الترامادول و الكلورفينيرامين
على مستوى تسكين الألم والسلوك العصبي
في نموذج الفئران

رسالة تقدم بها

علي إسماعيل ذنون المشهداني

إلى

مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل

في اختصاص الطب البيطري / الادوية والسموم البيطرية

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

بإشراف

الأستاذ الدكتورة

غادة عبدالمنعم فارس

II

(وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِنْ مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَى بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَى رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَنْ يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَلَى كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ).

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

{سورة النور، الآية (45)}

إقرار المشرف

أشهد أن إعداد هذه الرسالة قد جرى بإشرافي في جامعة الموصل، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص الطب البيطري/ الادوية والسموم البيطرية.

التوقيع:

المشرف: أ. د. غادة عبدالمنعم فارس

التاريخ: / /

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ " التداخل الدوائي بين الترامادول والكلورفينيرامين على مستوى تسكين الألم والسلوك العصبي في نموذج الفئران " تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم: أ.م. د. رافع عبد الغني يحيى

التاريخ: / /

إقرار رئيس فرع الفلسفة والكيمياء الحياتية والادوية

بناءً على التوصيتين المقدمتين من المشرف والمقوم اللغوي، أرشح هذه الرسالة

للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ. د. نشأت غالب مصطفى

التاريخ: / /

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات المقدمة من قبل المشرف والمقوم اللغوي ورئيس فرع الفلسفة والكيمياء الحياتية والادوية أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ. د. رعد عبدالغني السنجري

إقرار لجنة المناقشة / /

نشهد بأننا أعضاء لجنة التقويم والمناقشة قد اطلعنا على هذه الرسالة وناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 12 / 12 / 2022 وانه جدير بنيل شهادة الماجستير في اختصاص الادوية والسموم البيطرية.

عضو لجنة المناقشة
أ.م. د. منى حازم ابراهيم
التاريخ / /

عضو لجنة المناقشة
أ.م. د. سهام عجمي وادي
التاريخ / /

عضو لجنة المناقشة (المشرف)
أ.د. غادة عبدالمنعم فارس
التاريخ / /

رئيس لجنة المناقشة
أ.م. د. يعرب جعفر موسى
التاريخ / /

قرار مجلس الكلية

اجتمع مجلس كلية الطب البيطري بجلسته المنعقدة في / / 2023م
وقرر منحه شهادة الماجستير في الادوية والسموم البيطرية.

عميد الكلية
أ.د. ظافر محمد عزيز
التاريخ : / /

مقرر مجلس الكلية
أ.د. رعد عبدالغني السنجري
التاريخ : / /

شكر وتقدير

بسم الله الرحمن الرحيم، والصلاة والسلام على خير خلق الله سيدنا محمد وعلى آله وصحبه
الطيبين الطاهرين....

فبعد أن أنهيت دراستي لا يسعني إلا أن أحمد الله وأشكره على رحمته التي وسعت كل شيء
وأسأله ان يعم الخير والسلام على عراقنا.

كما لا يسعني بعد حمد الله والصلاة على رسول الله إلا أن أتقدم بجزيل الشكر والتقدير إلى
رئاسة جامعة الموصل وإلى عمادة كلية الطب البيطري والسيد رئيس فرع الفلسفة والكيمياء
الحياتية والأدوية لجهودهم المبذولة في توفير المواد والمستلزمات المطلوبة لإجراء البحث..

كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى مشرفتي على هذه الرسالة الدكتورة غادة عبدالمنعم فارس
التي مهدت لي طريق العلم والمعرفة والجهد الذي بذلته ومدت لي يد العون والمساعدة طول مدة
البحث.

كما يطيب لي أن أتقدم بالشكر والعرفان إلى كل من أسهم في إعانتي على إتمام التجربة،
لإساتذتي الأفاضل في قسم الادوية وكذلك الدكتورة غادة عبدالرحمن طاقة وأقدم اعتزازي وشكري
الجزيل إلى عائلتي واهلي واصدقائي لدورهم الكبير في دعمي مادياً ومعنوياً في أثناء مسيرة
البحث.

الباحث

الخلاصة

تشمل الفوائد المحتملة لإستخدام الأدوية بشكل مركبات القدرة على زيادة التأثيرات العلاجية وتقليل الآثار الجانبية المرافقة نتيجة لذلك تم إعطاء الترامادول والكلورفين معاً لتوفير تأثير تآزري مسكن للألم , ولتقليل الجرع المطلوبة فضلاً عن التخفيف من التأثيرات الجانبية لهما.

كان الهدف من دراستنا الحالية التقييم الكمي والنوعي للتداخل الدوائي بين الترامادول (المسكن الأفيوني التقليدي) والكلورفينيرامين (مضاد الهستامين H1) على مستوى التسكين من الألم الحراري (الصفیحة الساخنة) والألم الحشوي (منعكس التلوي) باستخدام نموذج الفئران. كانت الجرعة الفاعلة الوسطية المسكنة (الجف50) للترامادول والكلورفينيرامين كلاً لوحده والمعطاة عن طريق الحقن بالخلب 12.08 و 18.48 ملغم/كغم من وزن الجسم, على التوالي باستخدام طريقة الصعود والنزول بالجرعة وجهاز الصفیحة الساخنة. وظهرت الحيوانات علامات التسدير وعدم الحركة.

كانت الجرعة المميئة الوسطية (الجم50) الحادة للترامادول والكلورفينيرامين 146.85 , 92.38 ملغم/كغم من وزن الجسم, في الخلب على التوالي باستخدام الطريقة الصعود والنزول.

وبالإعتماد على الجف50 و الجم50 للترامادول والكلورفينيرامين كان المعيار العلاجي T.I. الترامادول 12 أعلى من الكلورفينيرامين 5 .

كان نوع التداخل بين العقارين تآزرياً على مستوى التسكين من الألم الحراري الحاد وتؤكد ذلك بحقن جرعة ثابتة من الكلورفينيرامين 18.4 ملغم/كغم بالخلب أدت إلى التقليل من الجف50 للترامادول لتصبح 3.15 ملغم/كغم في الخلب باستخدام طريقة الصعود والنزول.

تأكد التداخل التآزري بين العقارين باستخدام نسب مختلفة من الجف50 لكل عقار وإعطائهما معاً إذ أدى إلى التقليل من الجف50 للترامادول والكلورفينيرامين بنسبة 59 و 59 % عند حقنهما معاً بنسبة 0.5:0.5 و بنسبة 54 و 54 % عند حقنهما بنسبة 1:1 من الجف50 لكل منهما بالإعتماد على تحليل الايزوبولوكرافيك وقيمة مؤشر التداخل Y .

وكان التداخل تآزرياً على مستوى الألم الحشوي عند حقن العقارين معاً بالجرعة المضاعفة للجف50 تمثل بالمنع الكلي 100% للتلوي المحدث بحقن حمض الخليك بتركيز 1%

وبجرعة 0.1 مل/10غم في الخلب في اختبار منعكس التلوي مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة لكل عقار لوحده.

وأدى حقن الفئران بجرع متعددة من الترامادول 6 ، 12 و 24 ملغم/كغم في الخلب إلى تسكين الألم الحراري و بشكل معتمد على الجرعة وكانت جرعة 24 ملغم/كغم أفضل جرعة مسكنة سجلت أعلى تسكين للألم 58% عند الوقت 30 دقيقة من الحقن واستمر التسكين لغاية 4 ساعات بعد الحقن.

في حين كانت جرعة الكلورفينيرامين 36.8 ملغم/كغم في الخلب أفضل جرعة مسكنة لتسجل أفضل تسكين للألم عند الدقيقة 30 من الحقن واستمر التسكين لغاية 50 دقيقة بعد الحقن. نجح حقن الترامادول و الكلورفينيرامين معاً في الخلب بالجرع تحت المسكنة (3 , 4 ملغم/كغم) على التوالي في إحداث تسكين كامل للألم الحراري الحاد وبنسبة 100% مقارنة مع السيطرة ومع إعطاء كل عقار لوحده بالجرعة نفسها ولم يسجل أي تأثيرات جانبية مرافقة. أدى حقن الترامادول أو الكلورفينيرامين كلاً لوحده بجرعة (3 , 4 ملغم/كغم) في الخلب على التوالي إلى تثبيط معنوي في النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح وعدد مرات الوقوف على الأرجل الخلفية وفي الوقت اللازم لانتهاء اختبار الإنتحاء الأرضي السالب والزيادة المعنوية في وقت استجابة السكون الظهري مقارنة مع مجموعة السيطرة و أدى حقنهما معاً بالجرع نفسها إلى زيادة معنوية في التأثير المثبط على مستوى السلوك العصبي والنشاط الحركي مقارنة مع مجموعة السيطرة ومع إعطاء كل عقار لوحده.

وفي اختبار التحدي الدوائي, أدى حقن الترامادول والكلورفينيرامين كلاً لوحده أو معاً بجرعة (3 , 4 ملغم/كغم) من وزن الجسم, بالخلب على التوالي إلى انخفاض معنوي في وقت بدء النوم و زيادة معنوية في مدة النوم المحدث بالكيثامين والزايلازين مقارنة مع مجموعة السيطرة المعاملة بالكيثامين والزايلازين لوحده وأدى حقنهما معاً إلى انخفاض معنوي في وقت بدء النوم مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بكل عقار لوحده.

وكان التأثير المضاد للكآبة لمزيج الترامادول والكلورفينيرامين بالجرع المضاعفة للجف 50 لكل منهما أفضل من إعطائهما معاً بالجف 50 لتفوقه وبشكل معنوي في التقليل من مدة السكون في إختبار السباحة الإجباري وإختبار الذيل المعلق مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بكل عقار لوحده.

نستنتج الدراسة الحالية أن التداخل الدوائي بين الترامادول والكلورفينيرامين تأزرياً على مستوى التسكين من الألم الحاد الحراري والحشوي والتأثير المثبط على مستوى السلوك العصبي والنشاط الحركي فضلاً عن التأثير المضاد للكآبة. وإن إعطاء العقارين معاً بالجرع تحت الحادة وفر تسكيناً ممتازاً للألم مع عدم ترافق ذلك باي تأثيرات جانبية على الحيوانات وهذا قد يعد مفيداً في التطبيقات السريرية على حيوانات المزرعة.

تَبْتُ المحتويات

د	تَبْتُ المحتويات
ح	تَبْتُ الأشكال
ط	تَبْتُ الجداول
ي	تَبْتُ المختصرات
ك	تَبْتُ المصطلحات
3-1	الفصل الأول : المقدمة
22-4	الفصل الثاني : استعراض المراجع
4	1-2 التركيب الكيميائي للترامادول
4	2-2 آلية عمل الترامادول
6	3-2 الحركة الدوائية للترامادول
9	4-2 التأثيرات الدوائية والاستخدامات السريرية للترامادول
11	5-2 التأثيرات الجانبية للترامادول
12	6-2 التداخلات الدوائية للترامادول
15	7-2 الكلورفينيرامين
16	8-2 آلية عمل الكلورفينيرامين
17	9-2 الحركة الدوائية للكلورفينيرامين
18	10-2 التأثيرات الدوائية و الاستخدامات السريرية للكلورفينيرامين
20	11-2 التأثيرات الجانبية للكلورفينيرامين
21	12-2 التداخل الدوائي للكلورفينيرامين
44-23	الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل
23	1-3 الحيوانات المستخدمة
23	2-3 الأدوية والمواد الكيميائية المستخدمة
24	3-3 الأجهزة المستخدمة
24	1-4-3 التجربة الأولى: تحديد الجرعة الفاعلة الوسطية (الجف ₅₀) Median effective dose (ED ₅₀) المسكنة للألم الحاد لكل من الكلورفينيرامين والترامادول لوحدهما أو معاً باستخدام طريقة الصعود والنزول (Dixon, 1980) في الفئران
24	أ- تحديد الجف ₅₀ المسكنة للألم الحاد للكلورفينيرامين لوحده
25	ب- تحديد الجف ₅₀ المسكنة للألم الحاد للترامادول لوحده
26	ج- تحديد الجف ₅₀ المسكنة للألم الحاد للترامادول عند إعطائه مع الكلورفينيرامين بجرعة ثابتة
28	2-4-3 التجربة الثانية: تحليل نوع التداخل الدوائي بين الترامادول و

	الكورفينيرامين على مستوى التسكين من الألم الحاد في الفئران باستخدام تحليل الايزوبولوجرافك Isobolographic analysis
28	أ- تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الترامادول و الكورفينيرامين عند إعطائهما معا بنسبة 1:1 من الجف50 لكل منهما
30	ب- تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الترامادول و الكورفينيرامين عند إعطائهما معا بنسبة 0.5:0.5 من الجف50 لكل منهما
31	3-4-3 التجربة الثالثة: تحديد وقت بدء التسكين من الألم الحاد ومدته Onset and duration of analgesia لجرع مختلفة من الترامادول في الفئران (تحديد أفضل جرعة مسكنة للألم الحاد وأفضل وقت لإحداث التسكين من الألم) (Dose response and time relationship)
32	3-4-4 التجربة الرابعة: تحديد وقت بدء التسكين من الألم الحاد ومدته Onset and duration of analgesia لجرع مختلفة من الكورفينيرامين في الفئران (تحديد أفضل جرعة مسكنة للألم الحاد وأفضل وقت لإحداث التسكين من الألم) (Dose response and time relationship)
33	3-4-5 التجربة الخامسة: تحديد فعالية الترامادول او الكورفينيرامين او العقارين معا في تقليل الألم الحشوي (منعكس التلوي) (Writhing reflex) في الفئران
34	3-4-6 التجربة السادسة: تأثير إعطاء الجف25 للترامادول والكورفينيرامين معا في مستوى احداث التسكين من الألم الحاد في الفئران باستخدام جهاز الصفيحة الساخنة
35	3-4-7 التجربة السابعة: تحديد الجرع المميطة الوسطية (الجم50) الحادة Median lethal dose (LD₅₀) للترامادول أو الكورفينيرامين كلاً لوحده في الفئران باستخدام طريقة الصعود والنزول up-and-down method
35	أ - الجم50 الحادة للترامادول في الفئران
36	ب - الجم50 الحادة للكورفينيرامين في الفئران
36	3-4-8 التجربة الثامنة: تحديد درجة الأمان Drug safety للترامادول او الكورفينيرامين المحقون في الخلب للفئران
36	أ- تحديد درجة الأمان للترامادول المحقون في الخلب للفئران
37	ب - تحديد درجة الأمان للكورفينيرامين المحقون في الخلب للفئران
37	3-4-9 التجربة التاسعة: تآثر إعطاء الترامادول او الكورفينيرامين او العقارين معا في السلوك العصبي والنشاط الحركي للفئران
40	3-4-10 التجربة العاشرة: التحدي الدوائي Pharmacological challenge باستخدام الكيتامين والزايلازين في الحيوانات المعاملة بالجرع الواطنة من الترامادول او الكورفينيرامين او العقارين معا
40	3-4-11 التجربة الحادية عشرة: تقييم التأثير المضاد للكآبة Antidepressant effect للترامادول والكورفينيرامين كل لوحده او معا.
44	3-8 التحليل الإحصائي

72-45	الفصل الرابع: النتائج
45	1-4 التجربة الأولى: تحديد الجرعة الفاعلة الوسطية (الجف ₅₀) Median effective dose (ED ₅₀) المسكنة للألم الحاد لكل من الكلورفينيرامين والترامادول لوحدهما أو معاً باستخدام طريقة الصعود والنزول (Dixon, 1980) في الفئران
45	أ - تحديد الجف ₅₀ المسكنة للألم الحاد للكلورفينيرامين لوحده
46	ب - تحديد الجف ₅₀ المسكنة للألم الحاد للترامادول لوحده
46	ج- تحديد الجف ₅₀ المسكنة للألم الحاد للترامادول عند اعطائه مع الكلورفينيرامين بجرعة ثابتة
48	2-4 التجربة الثانية: تحليل نوع التداخل الدوائي بين الترامادول و الكلورفينيرامين على مستوى التسكين من الألم الحاد في الفئران باستخدام تحليل الايزوبولوجرافك Isobolographic analysis
48	أ- تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الترامادول و الكلورفينيرامين عند إعطائهما معاً بنسبة 1:1 من الجف ₅₀ لكل منهما
50	ب - تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الترامادول و الكلورفينيرامين عند إعطائهما معاً بنسبة 0.5:0.5 من الجف ₅₀ لكل منهما
52	3-4 التجربة الثالثة: تحديد وقت بدء التسكين من الألم الحاد ومدته Onset and duration of analgesia لجرع مختلفة من الترامادول في الفئران (تحديد أفضل جرعة مسكنة للألم الحاد وأفضل وقت لإحداث التسكين من الألم) (Dose response and time relationship)
56	4-4 التجربة الرابعة: تحديد وقت بدء التسكين من الألم الحاد ومدته Onset and duration of analgesia لجرع مختلفة من الكلورفينيرامين في الفئران (تحديد أفضل جرعة مسكنة للألم الحاد وأفضل وقت لإحداث التسكين من الألم) (Dose response and time relationship)
60	5-4 التجربة الخامسة: تحديد فعالية الترامادول او الكلورفينيرامين او العقارين معاً في تقليل الألم الحشوي (منعكس التلوي) (Writhing reflex) في الفئران
62	6-4 التجربة السادسة: تأثير إعطاء الجف ₂₅ للترامادول و الكلورفينيرامين معاً في مستوى احداث التسكين من الألم الحاد في الفئران باستخدام جهاز الصفيحة الساخنة
63	7-4 التجربة السابعة: تحديد الجرعة المميّنة الوسطية (الجم ₅₀) الحادة Median lethal dose (LD ₅₀) للترامادول أو الكلورفينيرامين كلاً لوحده في الفئران باستخدام طريقة الصعود والنزول up-and-down method
63	أ - الجم ₅₀ الحادة للترامادول في الفئران
64	ب - الجم ₅₀ الحادة للكلورفينيرامين في الفئران
65	8-4 التجربة الثامنة: تحديد درجة الأمان Drug safety للترامادول او الكلورفينيرامين المحقون في الخلب للفئران

65	أ- تحديد درجة الأمان للترامادول المحقون في الخلب للفئران
65	ب - تحديد درجة الأمان للكلورفينيرامين المحقون في الخلب للفئران
66	9-4 التجربة التاسعة: تاثر إعطاء الترامادول او الكلورفينيرامين او العقارين معاً في السلوك العصبي والنشاط الحركي للفئران
68	10-4 التجربة العاشرة: التحدي الدوائي Pharmacological challenge باستخدام الكيتامين والزايلازين في الحيوانات المعاملة بالجرع الواطنة من الترامادول او الكلورفينيرامين او العقارين معاً
69	11-4 التجربة الحادية عشرة: تقييم التأثير المضاد للكآبة Antidepressant effect للترامادول والكلورفينيرامين كل لوحده او معاً
86-73	الفصل الخامس: المناقشة
88-87	الفصل السادس: الاستنتاجات والتوصيات
87	1-6 الاستنتاجات
88	2-6 التوصيات
114-89	المصادر
115	الملاحق
115	الملحق 1 جدول قياس الجرعة الفاعلة والمميتة الوسطية

تَبْتُ الاشكال

الصفحة	العنوان	الشكل
9	التركيب الكيميائي للترامادول و متايبض الترامادول	1-2
22	التركيب الكيميائي للكلورفينيرامين	2-2
27	جهاز الصفيحة الساخنة Hot plate	1-3
39	صندوق الميدان المفتوح	2-3
43	صندوق اختبار الذيل المعلق (TST)	3-3
43	حوض سباحة اختبار السباحة الاجباري (FST)	4-3
50	تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الكلورفينيرامين والترامادول عند إعطائهما معا بنسبة 1:1	1-4
52	تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الكلورفينيرامين والترامادول عند إعطائهما معا بنسبة 0.5:0.5	2-4
55	منحنى التسكين من الألم الحاد للترامادول بجرع مختلفة و في اوقات مختلفة	3-4
55	النسبة المئوية لتسكين الألم الحاد (أعلى تأثير ممكن مسكن للألم) Maximal possible effect (MPE) للجرع المختلفة من الترامادول المحقون في خلب الفرنان	4-4
59	منحنى التسكين من الألم الحاد للكلورفينيرامين بجرع مختلفة في اوقات مختلفة	5-4
59	النسبة المئوية لتسكين الألم الحاد (أعلى تأثير ممكن مسكن للألم) Maximal possible effect (MPE) للجرع المختلفة من الكلورفينيرامين المحقون في الخلب في الفرنان	6-4
62	النسبة المئوية للانخفاض في عدد مرات التلوي للترامادول أو الكلورفينيرامين كلا لوحده او معا	7-4

تَبْتُ الجداول

الصفحة	العنوان	الجدول
45	تحديد الجفء 50 المسكنة للألم للكلورفينيرامين عن طريق الحقن في الخلب في الفئران	1-4
46	تحديد الجفء 50 المسكنة للألم للترامادول عن طريق الحقن في الخلب في الفئران	2-4
47	تحديد الجفء 50 المسكنة للألم للترامادول عن طريق الحقن في الخلب في الفئران عند إعطائه مع الكلورفينيرامين بجرعة ثابتة	3-4
49	تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الكلورفينيرامين والترامادول عند إعطائهما معا بنسبة 1:1	4-4
51	تحليل نوعية التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الكلورفينيرامين والترامادول عند إعطائهما معا بنسبة 0.5:0.5	5-4
54	تحديد أفضل جرعة مسكنة للألم و وقت بدء تسكين الألم للترامادول المحقون في الخلب في الفئران	6-4
58	تحديد أفضل جرعة مسكنة للألم و وقت بدء تسكين الألم للكلورفينيرامين المحقون في الخلب في الفئران	7-4
61	تحديد فعالية الترامادول او الكلورفينيرامين او العقارين معا في تقليل الألم الحشوي (منعكس التلوي) (writhing reflex) في الفئران باستخدام الجرع المضاعفة للجفء 50 المسكنة للألم لكلا العقارين	8-4
63	تأثير أعطاء الجفء 25 للترامادول والكلورفينيرامين معا في مستوى إحداث التسكين من الألم الحاد في الفئران باستخدام جهاز الصفيحة الساخنة	9-4
64	تحديد الجفء 50 الحادة للترامادول في الفئران	10-4
64	تحديد الجفء 50 الحادة للكلورفينيرامين في الفئران	11-4
65	تحديد درجة الأمان Drug safety للترامادول او الكلورفينيرامين المحقون في خلب الفئران	12-4
67	تأثير الترامادول او الكلورفينيرامين لوحيدهما او معا في السلوك العصبي والنشاط الحركي, الإبتعاء الأرضي السالب وإختبار فترة الإستجابة للسكون الظهري في الفئران	13-4
69	التحدي الدوائي pharmacological challenge بالكيثامين و الزايلازين	14-4
72	معدل مدة السكون التراكمية لإختبار السباحة الإجباري FST وإختبار الذيل المعلق TST	15-4

قائمة المختصرات

المختصر	المعنى
BBB	Blood brain barrier
CNS	Central nervous system
FST	Forced swim test
GABA	Gama aminobutyric acid
I.P.	Intraperitoneal
I.V.	Intravenous
ED₅₀	Median effective dose
LD₅₀	Median lethal dose
MRP2	Multidrug resistance associated protein 2
NSAID	Non-steroidal anti-inflammatory drug
NORT	Norepinephrine transporter
OCT1	Organic cation transporter 1
OTC	Over the counter
PNS	Peripheral nervous system
SSRI	Selective serotonin reuptake inhibitors
SNRI	Serotonin Norepinephrine reuptake inhibitors
SERT	Serotonin transporter
TST	Tail suspension test
T.I.	Therapeutic index

تَبْتُ المصطلحات

المصطلح	المعنى
Monoamines	أحادي الأمين
Eye wiping test	إختبار مسح العين
Opioid drugs	ادوية افيونية
Antidepressants	ادوية مضادة للكآبة
Insomnia	أرق
Off label use	إستخدام بدون تصريح
Afferent neurons	أعصاب واردة
Peak plasma concentration	أعلى تركيز في بلازما الدم
Nociception	ألم
Abdominal pain	ألم البطني
Thermal pain	ألم الحراري
Visceral and Peripheral pain	ألم حشوي و محيطي
Anxiolytic effect	تأثير مضاد للقلق
Subtle effects	تأثيرات كامنة
Serotonin reuptake inhibition	تشبيط إعادة اخذ السيروتونين
Synergistic interaction	تداخل تآزري
Antagonistic interaction	تداخل تضادي
Additive interaction	تداخل جمعي
Tachycardia	تسارع ضربات القلب
Analgesia	تسكين من الألم
Upregulation	تكيف بالزيادة العددية
First-pass metabolism	تمرير الأولي لعملية الايض
Bioavailability	توافر حيوي
Central nervous system	الجهاز العصبي المركزي
Intrathecal injection	حقن داخل القَرَاب

Placental barriers	حواجز المشيمية
Prodrug	دواء أولي
Second messenger	رسول الثاني
Steroptype behavioral	سلوكيات نمطية
Dextro enantomer	الشكل المتماثل الموجب
Convulsion	صرع
Hot plate	صفيحة ساخنة
Pain threshold	عتبة الألم
Trigeminal nerve	عصب ثلاثي التوائم
Half life	عمر النصف
Conjugation	عملية الإقتران
Renal failure	فشل كلوي
Swiss albino mice	فئران سوسرية الأصل
Premature ejaculation	قذف المبكر
Tail clamp	قرص الذيل
Neuropathic pain	الم الاعتلال العصبي
Serotonin syndrome	متلازمة السيروتونين
Noxious stimuli	محفزات الضارة
Physiological normal saline	محلول الملح الفسلجي
Racemic mixture	مزيج رايسيمي
Nociceptive pathways	مسارات الألم
Afferent pain pathway	مسارات الألم الواردة
Anti-shivering	مضاد للرجفة
Euphoria	نشوة
Hallucination	هلوسة
Electroacupuncture	وخز بالإبر الكهربائية
Inflammatory mediators	وسائط التهابية
Behavioral despair	يأس سلوكي

الفصل الاول المقدمة

Introduction

يُعرّف الألم Pain بأنه إحساس وشعور مؤلم ينتج بشكل رئيس بسبب تلف الأنسجة. ويعرف مصطلح Nociception بأنه الألم المحدث بالمحفزات الضارة Noxious stimuli إذ يتم تحريض مسارات مستقبلات الألم Nociceptive pathways بالمنبهات الضارة (Treede, 2018; Subedi, 2019). ويصنف الألم الى ثلاثة اصناف منها الألم مسبب للألم Nociceptive pain الناتج عن أذى الأنسجة و ألم الإعتلال العصبي Neuropathic pain الناتج من أذى الأعصاب فضلا عن الألم العصبي Neuroplastic pain وسببه مرض في الجهاز الهيكلي- العضلي (Treede, 2018).

ويعرف التسكين من الألم Analgesia بأنه القابلية على إزالة الألم أو تخفيفه من دون أحداث فقدان للوعي (Kidd et al., 2007). فهو مرتبط بنقل الإحساس بالألم وبالمحفزات الضارة وهناك العديد من الأدوية المسكنة للألم والمتخصصة بإزالتها باعتماد آليات خاصة. وتشمل هذه الأدوية, الأدوية المسكنة المضادة للإلتهاب غير الستيرويدية NSAID والأدوية المضادة للكآبة Antidepressants والافيونات فضلاً عن الباراسيتامول (Anderson et al., 2022).

ويعد الترامادول عقاراً أفيونياً مصنعاً وقوياً يعمل كمسكن مركزي قوي للألم الحاد والمتوسط بواسطة آلية مزدوجة لتسكين الألم فهو مزيج مناظر Racemic mixture من الشكل الموجب (+) الذي يحدث التسكين عن طريق عمله كشاد Agonist لمستقبلات μ المركزية والمحيطية فضلاً عن تثبيطه لإعادة اخذ السيروتونين في حين الشكل السالب (-) للعقار يعمل بواسطة تثبيطه لإعادة أخذ النورابينفرين ومن ثم فان المزيج ينتج تأثيراً مسكناً تآزرياً Synergism ويعمل العقار بعد تأيضه في الكبد لينتج المادة الفعالة M1 المسؤولة عن الفعل المسكن للعقار وأشارت دراسات سابقة إلى أن استخدام الترامادول لوحده لا يوفر تسكيناً كافياً فضلاً عن التأثيرات الجانبية المرافقة لاستخدامه بشكل مزمن (Grond and Salbotzki, 2004; Raffa et al., 2012).

لذا فان الاستخدام المرافق للترامادول مع عقارات مسكنة أخرى يعمل على زيادة كفاءة التسكين مع التقليل من التأثيرات الجانبية المرافقة (Shah and Sorathia, 2020).

وقد أُشير إلى استخدام الترامادول مع الأدوية المسكنة مثل البراسيتامول (Somlaz and Kovalac, 2018), دايلوفيناك Diclofenac (Shah and Sorathia, 2020), كالكيثورولاك Ketorolac (Lin et al., 2019) والافيونات كالمورفين (Savadkoochi and Vesal, 2019). منتجاً تسكيناً ممتازاً للألم بجرع أقل مع تقليل الآثار الجانبية المرافقة لكل عقار (Shah and Sorathia, 2020).

وفحص استخدام مضادات الهستامين H1 من الجيل الأول مع الترامادول لتقييم الفعل المسكن لهذا المزيج. ولوحظ أن بعض هذه الأدوية مثل الدايفينهيدرامين Diphendramine أدى إلى التقليل من الفعل المسكن Antagonistic effect للترامادول في الفئران (Al-jader, 2011).

ويعد الكلورفينيرامين من مضادات الهستامين H1 من الجيل الأول التابع لمجموعة الالكيل امين Alkylamine والذي يستخدم بشكل واسع لعلاج حالات الحساسية في الحيوانات (Ali et al., 2020). وأشير حديثاً إلى الفعل المضاد للالتهاب للكلورفينيرامين (Westover et al., 2020). فضلاً عن الفعل المسكن للألم الحراري والحشوي على اعتبار أن مضادات الهستامين H1 تمتلك فعلاً مسكناً للألم بتأثيرها الضاد لمستقبلات H1 فضلاً عن فعلها المحفز لمستقبلات ميو μ الأفيونية (Raffa, 2001; Mobarakeh et al., 2002). فضلاً عن تثبيطهما لإعادة أخذ السيروتونين (Raffa et al., 2012; Hellbom, 2006).

ونظراً لحاجة التطبيقات السريرية المتزايدة إلى مزيج جديد مسكن قوي للألم يدوم لمدة طويلة وبأقل جرع وآثار جانبية مرافقة فقد كان الهدف من دراستنا الحالية تقييم تأثير الكلورفينيرامين وفحصه في الفعل المسكن للألم للترامادول على مستوى الألم الحراري والحشوي في نموذج الفئران, وفحص نوع التداخل الدوائي بين العقارين عند نسب مختلفة على مستوى التسكين من الألم الحاد. فضلاً عن الكشف عن التأثيرات السلوكية العصبية الكامنة والنتيجة من إعطاء العقارين كلاً لوحده أو معاً لمعرفة مدى أمان المزيج.

وتطرقت الدراسة إلى فحص الفعل المضاد للكآبة للعقارين كلاً لوحده أو معاً لفحص نجاح المزيج في إنتاج فعل مضاد للكآبة. وبالنهاية تم تقييم الفعل المسكن للعقارين كلاً لوحده أو معاً بجرع تحت المسكنة وتقييم كفاءتهما في إحداث تسكين آمن وقوي للاستفادة منه في الأغراض البحثية والسريرية.

ولتحقيق الاهداف في اعلاه شملت الدراساتنا عدة محاور

1. تحديد الجرعة الفاعلة الوسطية (الجف50) المسكنة للألم الحاد في الفئران للترامادول والكلورفينيرامين كلاً لوحده أو معاً باستخدام طريقة الصعود والنزول وجهاز الصفحة الساخنة.
2. تأثير إعطاء الكلورفينيرامين لوحده على الفعل المسكن للترامادول (على قيمة الجف50 له).
3. تقييم التداخل الدوائي بين العقارين على مستوى الألم الحراري باستخدام جهاز الصفحة الساخنة وبنسب مختلفة من الجف50 المسكنة لكل عقار.
4. فحص العلاقة بين الجرعة المختلفة والأوقات المختلفة لكل عقار لمعرفة أفضل جرعة مسكنة وأفضل وقت للتسكين لكل عقار.
5. فحص الفعل المسكن لجرع العقارين معاً عند اعطائهما معاً بجرع واطئة (تحت المسكنة) وتقييم كفاءة المزيج وامانه.
6. فحص وتقييم نوع التداخل بين العقارين على مستوى الألم الحشوي باستخدام اختبار التلوي المحدث بحمض الخليك.
7. فحص وتقييم درجة أمان العقارين.
8. فحص وتقييم تأثير العقارين كلاً لوحده او معاً في السلوك العصبي والنشاط الحركي باستخدام اختبار الميدان المفتوح فضلاً عن تقييم التوازن العصبي العضلي والخرطة المكانية باستخدام اختبار الإنتحاء الأرضي السالب وتقييم الذاكرة البعيدة للحيوان باختبار الاستجابة للسكون الظهري.
9. الكشف عن التأثيرات الكامنة للعقارين كلاً لوحده أو معاً في الجهاز العصبي المركزي باستخدام اختبار التحدي الدوائي.
10. فحص وتقييم الفعل المضاد للكأبة للعقارين كلاً لوحده أو معاً باستخدام اختبار الذيل المعلق واختبار السباحة الإجباري

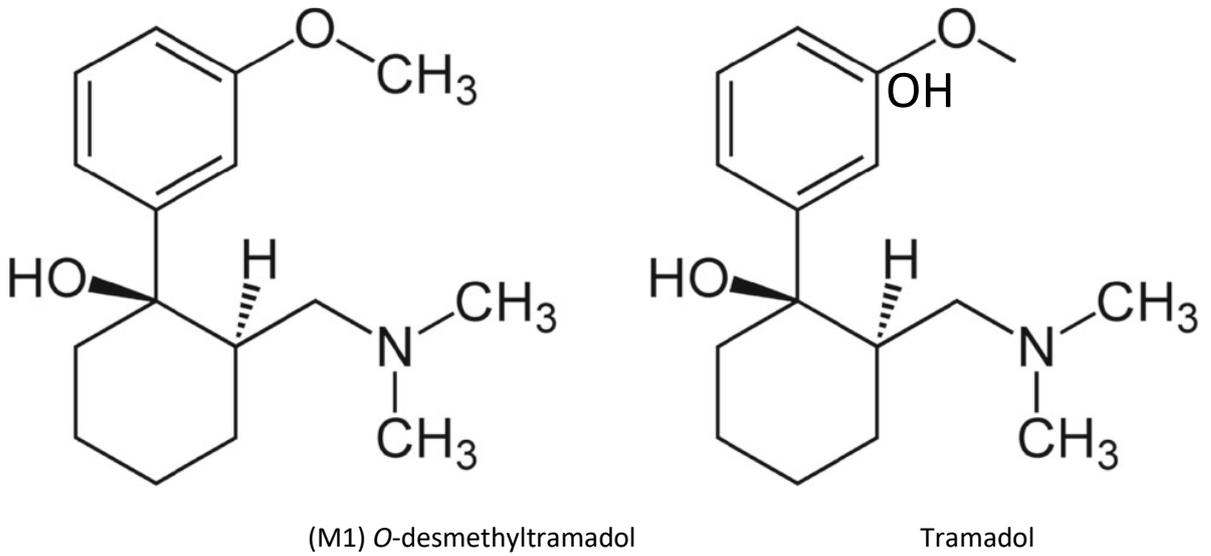
الفصل الثاني

استعراض المراجع

Review of Literature

الترامادول Tramadol

1-2 التركيب الكيميائي للترامادول



الشكل (2- أ) يوضح التركيب الكيميائي للترامادول و متأيض الترامادول

((+)-trans-2-[(dimethylamino)methyl]-1-(3-methoxy-phenyl)-cyclohexanol HCl)
(Dayer *et al.*, 1994; Subedi *et al.*, 2019)

2-2 آلية عمل الترامادول Mechanism of action

يملك الترامادول آلية عمل مزدوجة لتسكين الالام المتوسطة و الحادة عن طريق تأثيره في الجهاز العصبي المركزي Central nervous system إذ يتكون من مزيج من الشكلين المتماثلين Two enantomers ويمتلك كل شكل آلية عمل مختلفة ليكمل أحدهما الآخر، فالشكل المتماثل الموجب Dextro enantomer (+) يعمل عمل الافيونات كشاد Agonist لمستقبلات الميو μ -opioid receptors دون غيرها من انواع المستقبلات الافيونية الأخرى مثل الدلتا Delta والكابا Kappa (Raffa *et al.*, 1992). في حين وجد (Olson *et al.*, 2019) إن ال *O*-desmethyltramadol (المادة الفعالة للترامادول) تعمل كشاد

جزئي Partial agonist activity لمستقبلات كبا و/او دلتا الافيونية. فضلاً عن تثبيطه لإعادة أخذ السيروتونين Serotonin reuptake inhibitor بتثبيطه الناقل Serotonin transporter (SERT). أما الشكل المتماثل السالب (-) Levo enantiomer فيعمل عن طريق تثبيطه لإعادة أخذ النورادرينالين Noradrenaline reuptake inhibitor بتثبيطه للناقل Noradrenaline transporter (NORT) (Grond and Salbotzki, 2004; Raffa *et al.*, 2012). وبهذا يكون الشكل المتماثل الموجب أكثر فعالية في تسكين الألم من الشكل المتماثل السالب لآفته العالية لإرتباطه بالمستقبل الافيوني ميو، فألفة الشكل المتماثل الموجب لهذه المستقبلات تقدر بحوالي 100 مرة أكثر من الشكل المتماثل السالب (Hui-chen *et al.*, 2004; Armstrong *et al.*, 2009; Stamer *et al.*, 2011).

ويخضع الترامادول الى عملية التأييض في الكبد ليتحول إلى المادة الفعالة O-desmethyltramadol (M1) إذ تمتلك هذه المادة المتأيضة ألفة عالية لمستقبلات الميوميو الافيونية تقدر بحوالي 200 مرة أكثر من الترامادول نفسه (المادة الاساس) (Scott and Perry, 2000) وتعد هذه المادة المتأيضة هي المادة الفعالة المسكنة للألم للترامادول في بلازما الدم (Kukanich and Papich, 2011).

في حين أشار (Armstrong *et al.*, 2009) إلى ان متايض الترامادول N-O-desmethyltramadol (M5) يمتلك ألفة عالية لمستقبلات الميو الافيونية ومن ثم هو المسؤول عن الفعل المسكن للترامادول ووجد أن لمستقبلات السيروتونين 5HT_{2A} دوراً جزئياً في التسكين من الألم الحراري Thermal pain للترامادول اذ تعمد ضادات مستقبلات السيروتونين 5HT_{2A} antagonist كالكتانسيرين Ketanserin على تقليل التسكين من الألم الحراري للترامادول (Xie *et al.*, 2008).

إن هذه الخاصية الفريدة المزدوجة في العمل تجعل من الترامادول مسكناً مثالياً لكثير من حالات الألم الحادة والمتوسطة إذ ان الفعل المسكن للترامادول ناتج عن فعله المركزي وذلك بارتباطه بمستقبلات الميو الافيونية فضلاً عن تثبيطه لإعادة أخذ السيروتونين و النورادرينالين (Finkel *et al.*, 2009; Minami *et al.*, 2015).

فضلاً عن آلية عمل الترامادول في الجهاز العصبي المركزي وجد Adenosine A1 receptor ان الترامادول يحفز مستقبلات الادينوسين Adenosine A1 receptor في الجهاز العصبي المركزي والمحيطي والتي تسهم في تسكين الألم لإختبار

الفورمالين في الفئران. وأشار (Kilinc *et al.*, 2019) إلى أن حقن الترامادول مع الارتيكائين Articaine (مخدر موضعي) موضعياً يطيل من مدة تسكين الألم اذ يعمل الترامادول على كبح العصب الحسي والحركي Sensory and Motor nerve blockade. ويعتمد الترامادول ومتايبضه O-desmethyltramadol إلى تثبيط المستقبلات المسكارينية M1 اذ يكون السبب في تأثيره المضاد للكولين Anticholinergic effect (Shiraishi *et al.*, 2005; Nakamura *et al.*, 2001). فضلاً عن تثبيطه للمستقبلات النيكوتينية Nicotinic acetylcholine receptors والتي قد تكون السبب في الفعل المسكن للترامادول (Shiraishi *et al.*, 2002).

2-3 الحركة الدوائية للترامادول pharmacokinetic of tramadol

يتوفر عقار الترامادول بشكل امبولات 50 , 100 ملغم معدة للحقن الوريدي والعضلي وتحت الجلد وبشكل كبسولات وحبوب بتركيز 50 , 100 , 200 ملغم للجرعة الفموية ومتوفر أيضاً بشكل قطرات بتركيز 50 ملغم/0.5 مل فضلاً عن توفره بشكل تحاميل 100 ملغم للحقن الشرجي (Grond and Sablotzki, 2004). وبشكل لصقات جلدية (Saraswathi *et al.*, 2018).

تعد سرعة الامتصاص من الجهاز الهضمي عند إعطاء الترامادول عبر الفم من أهم خصائص الترامادول وينتقل سريعاً إلى الكبد قبل انتقاله إلى الدورة الدموية (Lintz *et al.*, 1998; Tegeder *et al.*, 1999). تمكن الكشف عن تركيز الترامادول في بلازما الدم بعد 15-45 دقيقة من إعطائه بجرعة 100 ملغم عن طريق الفم في أشخاص أصحاء ووصل إلى أعلى تركيز في بلازما الدم Peak plasma concentration بعد 1.5-2 ساعة من وقت اخذ الجرعة. و إن إعطائه بالجرعة وطريقة الإعطاء نفسها أربع مرات يومياً ولمدة 7 ايام أدى الى توافر حيوي عالٍ Bioavailability 90-100% , في حين كان التوافر الحيوي للجرعة المنفردة 68% ومن ثم فالجرع المتكررة تفوق الجرعة المنفردة (Liao *et al.*, 1992). وأعطى الحقن الشرجي للترامادول بجرعة 100 ملغم امتصاصاً كاملاً في 22 دقيقة ووصل أعلى تركيز في بلازما الدم في 3.3 ساعة وبتوافر حيوي 77% (Grond and Sablotzki, 2004) وإمتصاص الترامادول يكون بشكل تام وسريع عند حقنه بالعضلة بجرعة 50 ملغم ويصل لأعلى تركيز Cmax في 45 دقيقة (Lintz *et al.*, 1999). وأدى حقن الترامادول في الجرذان بالعضلة إلى إحداث تسكين من الألم لأكثر من 10 ساعات (Malonne *et al.*, 2000). وأشار (Zhang *et al.*, 2014) إلى الفرق

المعنوي في تركيز الترامادول في بلازما الدم C_{max} بالجرعة المعطاة عن طريق الأنف في الجرذان مقارنة مع الجرعة الفموية بسبب انخفاض انحلال العقار Drug
degradation في الجهاز الهضمي وعبوره الأيض المار الأولي في الكبد First-pass
metabolism عند إعطائه عن طريق الأنف. إن الإمتصاص والإنتشار السريع للترامادول
بمختلف طرق الإعطاء يشير إلى الفته العالية لمختلف الأنسجة High tissue
affinity فضلاً عن إرتباطه القليل ببروتينات الدم Plasma protein بنسبة 20%
(Buckingham, 2020). إن سبب الفرق في درجة الإمتصاص العالية 100% بمقارنة مع
التوافر الحيوي 70% للعقار في التجريع عن طريق الفم هو تعرضه للأيض المار الأولي et
(Parasrampur et al., وأشار (Saraswathi et al., 2018; Dhama et al., 2022)
2007) إلى أن تركيز الترامادول في بلازما الدم بعد التجريع عن طريق الفم يكون أقل ب 10
مرات من تركيزه في بلازما الدم بعد الحقن الوريدي. وينتشر الترامادول بشكل سريع في
مختلف الأنسجة و الأعضاء في الجرذان إذ وجد في الكلى والكبد والدماغ والطحال والرئة
(Bamigbade and Langford, 1998). ووجد أن تركيز الترامادول يصل إلى أعلى
مستوى له في الدماغ بعد 10 دقائق من الإعطاء عن طريق الفم في حين يستغرق 20-60 دقيقة
للمتايض M1 (Tao et al., 2002). ووجد ان نسبة الترامادول إلى المتايض M1
Tramadol/M1 ratio في الجرذان تكون بتركيز أعلى في الدماغ مقارنة مع تركيزها في
بلازما الدم (Grond and Sablotzki, 2004). ويجتاز الترامادول الحواجز المشيمية
Placental barriers عن طريق الوريد المشيمي و عزل الترامادول من حليب الأمهات
الوالدة حديثاً بعد إعطائها الترامادول خلال العملية القيصرية وبعدها (Gessek et al.,
2021).

يتأيض الترامادول في الحيوانات مثل الكلاب والجرذان بشكل أسرع من تأييضه في الإنسان.
إذ يتأيض بشكل سريع وتام في الكبد وتتم المسارات الأيضية الرئيسية بواسطة خمائر الكبد
Hepatic cytochrome P450 وينتج عن هذه العملية الأيضية 26 متايضاً مختلفاً (Wu et
al., 2001; Wu et al., 2002). وتكون هذه المسارات الأيضية بمرحلتين, الطور الأول
Phase I reaction وهي إزالة مجموعة المثل N and O - demethylation ويتكون بهذا
الطور 5 متايضات للترامادول من M1 إلى M5 في حين تكون عملية الطور الثاني Phase II
reaction من الأيض أو عملية الإقتران Conjugation بإضافة حامض الجلوكويورنيك
Glucouronidation أو إضافة الكبريت Sufation للمتايضات الخمسة الناتجة من الطور

الأول Demethylated compound (Grond and Sablotzki, 2004). يتكون المتايض M1 والذي يعد المادة الفعالة للترامادول بفعل خميرة CYP2D6 بعملية O – demethylation و تشارك خميرة CYP2D6 في تكوين المتايض M5 من المتايض M1 في حين تعمل الخمائر CYP3A4 و CYP2B6 على ال N – demethylation وتكوين المتايض الثانوي M2 (Subrahmanyam *et al.*, 2001). وأوضح (Kirchheiner *et al.*, 2008) الدور الاساس لخميرة CYP2D6 في أيض الترامادول وإنتاج المادة الفعالة وتأثيرها على التسكين والتأثيرات الجانبية للترامادول. وهذا ما أكده (Haufrond and Hantson, 2015) بعد إعطاء الترامادول لأشخاص يعانون من نقص لهذا الانزيم. وعليه يجب الأخذ بنظر الإعتبار التداخل الدوائي للترامادول على مستوى الأيض مع الادوية التي تثبط خميرة CYP2D6 مثل الكوينيدين Quinidine , الفلوكسيتين Fluoxetine والباروكستين Paroxetine وتأثيراتها على الاستجابة العلاجية للترامادول (Frost *et al.*, 2019; Long *et al.*, 2022). يعتمد تركيز المستقلب M1 في بلازما الدم على الناقل (OCT1) Organic cation transporter 1 إذ يقوم بنقل المستقلب M1 من الخلايا الكبدية الى بلازما الدم وبالعكس ومن ثم يمتلك تأثير عالٍ على تركيز المادة الفعالة للترامادول M1 وكفاءة الترامادول العلاجية (Tzvetkov *et al.*, 2011). يطرح الترامادول ومتأيضاته بشكل رئيس بواسطة الكلية ويفرز في الادرار بنسبة 12% , 15% , 4% للترامادول والمستقلبات M1 و M2 على التوالي وذلك بعد إعطاء الترامادول بجرعة 50 ملغم عن طريق الفم في الأشخاص الأصحاء وجمع عينات الادرار بعد 24 ساعة من الاعطاء (Paar *et al.*, 1997). في حين يكون طرح الترامادول ومتايضاته بنسبة 1% عن طريق القناة الصفراوية (Gong *et al.*, 2014). يكون عمر النصف Half life لطرح المستقلب M1 9 ساعات في حين يكون 6 ساعات للترامادول (Black *et al.*, 2010). ويكون البروتين Multidrug resistance associated protein 2 (MRP2) مسؤولاً عن طرح المستقلب Glucouronidated M1 metabolite عن طريق الكلية (Tzvetkov *et al.*, 2011). ويقل معدل طرح الترامادول ومتايضاته في الأشخاص الذين يعانون من اعتلال في الكلى أو الكبد (Bekjarovski *et al.*, 2012).

4-2 الاستخدامات السريرية للترامادول Clinical uses of tramadol

إن التأثير المسكن للترامادول مشابه لباقي الأفيونات Opioid drugs كالمورفين Morphine والبثيديين Pethidine والمبيريدين Meperidine والفينتانييل Fentanyl (Lee *et al.*, 1993). استخدم الترامادول كمسكن بديل للأفيونات (Thiels *et al.*, 2019) و الأدوية المضادة للالتهاب غير الستيرويدية في الأشخاص الذين يعانون من الإعتلال في الجهاز القلبي الوعائي و الجهاز الهضمي (Abel, 2010). وأعطى الترامادول تأثيراً مسكناً للألم معتمداً على الجرعة في الفئران الخاضعة لفحص الإحساس بالألم الحراري و الكيميائي (Raffa Thermal and Chemical induced pain *et al.*, 1992; Viviana *et al.*, 2020) واستمر التأثير المسكن للترامادول ولمدة 24 ساعة بعد حقنه بعضلة الأشخاص الأصحاء وجرعة 100 ملغم (Grond and Salbotzki, 2004) في حين حقنه بالوريد وبالجرعة نفسها للأشخاص الذين يمتلكون أيضاً عالياً للترامادول كان التسكين من الألم أفضل من إعطائه عن طريق الفم orally, وذلك لأن الترامادول دواء أولي Prodrug يعتمد على الأيض بشكل أساسي في إنتاج المادة الفعالة M1 المسكنة للألم (poulsen *et al.*, 1996; Dhama *et al.*, 2022) وهذا ما أكده Cannon *et al.*, 2010, إذ أشار إلى أن إعطاء الترامادول عن طريق الحقن Parenterally في الجرذان المعرضة لإختبارات الألم (الصفحة الساخنة وقرص الذيل) كان أكثر كفاءة في تسكين الألم مقارنة مع إعطائه عن طريق الفم بغض النظر عن الجرعة المعطاة . ويمتلك الترامادول تأثيراً مضاداً للكآبة Antidepressant بجانب تأثيره المسكن للألم, فقد كان فعالاً في علاج الكآبة Depression في الأشخاص الذين زودوا بجرع قليلة من الترامادول ولفترات زمنية طويلة (Bumpus, 2020). وكشف (Ostadhadi *et al.*, 2017; Askar *et al.*, 2018) التأثير المضاد للكآبة للترامادول في الفئران عند إخضاعها لإختبار السباحة الإجباري واختبار الذيل المعلق. فضلاً عن تأثيره المضاد للقلق Anxiolytic effect (Khakpai *et al.*, 2022; Soomro *et al.*, 2022). واستخدم الترامادول كعقار مسكن فعال في مجال الطب البشري والطب البيطري لعلاج حالات الألم الحاد والمزمن, فهو مسكن مثالي للحد من الألم المتوسط والشديد فضلاً عن استخدامه كعلاج للكآبة والقلق (Barakat, 2019; Edinoff *et al.*, 2021). واستخدم الترامادول كمسكن للألم المرافق لالتهاب العظم والمفاصل في القطط (Guedes *et al.*, 2018). فضلاً عن استخدامه كمسكن فعال بعد العمليات الجراحية في

الكلاب (Donati et al., 2021), المجترات والجمال (Smith et al., 2021) والقوارض (Udegbumam et al., 2015).

ان الخاصية التي يتميز بها الترامادول عن بقية الافيونات هي تسكينه للألم غير المترافقة بتثبيط الجهاز التنفسي (Wu and Wu, 2016). و استخدم الترامادول كمسكن بديل للافيونات (Thiels et al., 2019) و الأدوية المضادة للإلتهاب غير الستيرويدية في الأشخاص الذين يعانون من إعتلال في الجهاز القلبي الوعائي و الجهاز الهضمي (Abel, 2010). و أعطى الترامادول تسكيناً مشابهاً للمورفين في الأشخاص الذين لديهم حساسية ضد المورفين (Sahutoglu et al., 2018). ونجح الترامادول في اعطاء تسكيناً جيداً من الألم في الأشخاص الذين يعانون من التهاب المفاصل عند إعطائه مع الأدوية المضادة للإلتهاب غير الستيرويدية (April et al., 2019). وكذلك في جراحة الفم كقطع الأسنان فضلاً عن استخدامه كمخدر موضعي (Kalyan et al., 2020).

وأشار (Leppert, 2009) إلى دور الترامادول في التسكين من الألم المصاحب لأمراض السرطان. وعمد (Yuan et al., 2014) إلى استخدام جرعة قليلة من الترامادول مع الديكسميدتوميدين Dexmedetomidine للتسكين من الألم الناتج عن سرطان العظم في الجرذان.

وأعطى الترامادول تسكيناً فعالاً في الأشخاص الذين يعانون من الألم البطني Abdominal pain خلال العمليات الجراحية وبعدها عند حقنه في الخلب (Otutaha et al., 2020). ونجح الترامادول في اعطاء تسكين نموذجي لحالات الألم الناتجة عن الاعتلال العصبي Neuropathic pain والتي سببها الحروق أو تعقيدات داء السكر (Duehmke et al., 2017). فضلاً عن استخدامه كمسكن للمغص الكلوي الحاد (Subedi et al., 2019) Acute renal colic.

ونجح الترامادول كمضاد للرجفة Anti-shivering والتي تحدث بعد العمليات الجراحية ذات التخدير العام أو التخدير فوق الجافية Epidural or general anesthesia إذ يمكن استخدامه كبديل لكثير من الافيونات كالفتينيل و الميريدين و النالبوفين Nalbuphine والتي تستخدم لعلاج الرجفة بعد العمليات الجراحية في الانسان والحيوان على حد سواء (Jayaraj et al., 2019; Rabbani et al., 2020).

إن الإستخدام بدون تصريح Off label use للترامادول يعد من أحدث استخداماته كعلاج القذف المبكر Premature ejaculation في الرجال (Sharma et al., 2021).

5-2 Side effects of tramadol التأثيرات الجانبية للترامادول

تشتمل التأثيرات الجانبية الأكثر شيوعاً للترامادول في حالة استخدام العقار بالجرعة العلاجية على جملة علامات منها الدوار Dizziness , حكة , تعرق , صداع , غثيان Nausea , تقيؤ Vomiting , جفاف الفم , تسدير Sedation , نعاس Drowsiness والتعب Somnolence وتكون هذه التأثيرات شبيهة للتأثيرات الجانبية للافيونات ولكنها أقل حدوثاً وتأثيراً في الترامادول (Scott and Perry, 2000; Vazzana et al 2015).

وهناك تأثيرات جانبية أخرى مرافقة لإعطاء الترامادول ولكنها أقل شيوعاً كتأثيره في الجهاز العصبي المركزي وذلك عند إعطاء الترامادول لفترات طويلة كالنشوة Euphoria , العصبية Nervousness , اضطراب النوم والكوابيس Nightmares and Hallucination , الأرق Insomnia والهوسنة Sleeping disorders (Barsotti et al., 2003).

إن إعطاء الترامادول لمدمني الكحول أو استخدامه بجرع عالية أو مع الأدوية المخدرة Aneasthetic medication ممكن أن يحدث تثبيطاً في الجهاز التنفسي و صعوبة التنفس Dyspnoea على الرغم من أن الترامادول أقل تأثيراً في تثبيط الجهاز التنفسي و الإدمان مقارنة مع بقية الأدوية الأفيونية كالمورفين (Wu and Wu, 2016).

وسجل (Cox et al., 2010) بعد إعطاء الخيول جرعة سريعة من الترامادول حالة من ارتعاش العضلات Muscle twitching , تسارع ضربات القلب Tachycardia وارتجاف Tremors . و لوحظ أن إعطاء الترامادول بالجرع العالية و لفترات طويلة لتسكين الألم الناتج عن سرطان الثدي في النساء ترافق بظهور آثار جانبية تمثلت بالدوار , غثيان و القيء المصحوب بالإمساك Constipation (Besic et al., 2020).

ووجد ان السبب الرئيس لحدوث التأثيرات الجانبية الشديدة للترامادول كالصرع Seizures ومتلازمة السيروتونين Serotonin syndrome هو آلية عمل الترامادول المرتبطة بتثبيطه لإعادة أخذ أحادي الأمين Monoamines وهي السيروتونين والنورادرينالين عند أخذه بجرع عالية كالجرعة السامة Toxic dose أو عند إعطائه بشكل مرافق Co-administration مع الأدوية المضادة للكآبة من نوع مثبطات إعادة أخذ السيروتونين الإنتقائية SSRIs (Barann et al., 2006) سبب حدوث التقيؤ المرافق لإعطاء الترامادول بتثبيطه البروتين الناقل

للسيروتونين المسؤول عن إعادة أخذ السيروتونين ومن ثم زيادة تركيزه وتحفيزه لمستقبلات السيروتونين وحدث التقيؤ. ويعد تضيق حدقة العين أحد الآثار الجانبية والمؤشرات الأساسية للترامادول إذ يعتمد الترامادول على زيادة الضغط في الجمجمة والذي يكون السبب في تضيق حدقة العين لذا ينصح بعدم استخدامه في الأشخاص الذين يعانون من أذى أو ضغط عالٍ في الدماغ (Subedi *et al.*, 2019).

6-2 التداخلات الدوائية للترامادول *drug interaction of tamadol*

عند دراسة التأثير المسكن للترامادول نجح عقار السينارازين Cinnarizine (ضاد لمستقبلات الهستامين H1) (Kumar *et al.*, 2020), جابابنتين Gabapentin (شاد لمستقبلات GABA) (Miranda *et al.*, 2018), ديكلوفيناك Diclofenac (Shah and Sorathia, 2020) والمورفين (Savadkoochi and Vesal, 2019) كلاً لوحده في زيادة التأثير المسكن للترامادول. في حين قلل التأثير المسكن للترامادول كل من ضادات السيروتونين Serotonin antagonist كالاوندانسيترون Ondansetron والكيثانسيرين Ketanserin (Xie *et al.*, 2008; Bilgen *et al.*, 2022). وأوقف المضاد الأفيوني النالوكزون Naloxon مع اليوهامبين Yohimbine (ضاد مستقبلات الفا2) سوية الفعل المسكن للترامادول بشكل تام (Desmeules *et al.*, 1996). وهذا يؤكد فعل الترامادول كشاد لمستقبلات الميو الأفيونية و الفا2 الأدرينالية.

حقق الترامادول تداخلا تآزرياً Synergistic interaction مع معظم الأدوية المضادة للإلتهاب غير الستيرويدية كالكيثورولاك (Lin *et al.*, 2019), نابروكسين Naproxen (Satyanarayana *et al.*, 2004), السيليكوكسيب Celecoxib (Merlos *et al.*, 2018) والديكلوفيناك إذ يعتمد تثبيط COX1 inhibition إلى التقليل من مدخلات الألم الواردة إلى الجهاز العصبي المركزي ومن ثم يعزز من كفاءة الترامادول في الجهاز العصبي المركزي (Shah and Sorathia, 2020). فضلاً عن الميتاميزول Metamezol أو الديبيرون Dipyron و الاسيتامينوفين Acetaminophen إذ نجح هذا التداخل في التقليل من جرعة الترامادول العلاجية وتعزيز فعالية الترامادول المسكنة للألم الحشوي والمحيطي Visceral & Peripheral pain فضلاً عن التقليل من حدوث التأثيرات الجانبية للترامادول (Kemal *et al.*, 2007; Solmaz and Kovalac, 2018).

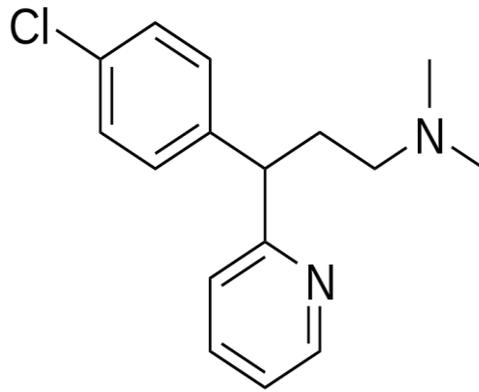
وأحدث الترامادول في الفئران (Taqa, 2013) وافراخ الدجاج (Shaban, 2013) تداخلاً تآزرياً في مستوى التسكين من الألم عند إعطائه مع الزايلازين Xylazine (شاد لمستقبلات الفا 2). إذ يسهم العقاران معاً في تنشيط مستقبلات G protein coupled receptors نوع Gi والتي تثبط مسارات الألم الواردة Afferent pain pathway خلال الحبل الشوكي للجهاز العصبي المركزي (Riedl et al., 2009). ويتشارك المديتومدين Medetomidine (شاد لمستقبلات الفا 2) والزايلازين آلية تداخل متشابهة مع الترامادول ومن ثم يكون تداخلهما تآزرياً (Mahmood, 2016). فضلاً عن التداخل التآزري للترامادول مع الكيتامين (ضاد لمستقبلات NMDA) في اختبارات الألم الحراري والكيميائي للفئران ورجح السبب إلى أن الترامادول يثبط مستقبلات NMDA فضلاً عن أن الكيتامين يعزز الفعل المسكن للترامادول بتحفيزه مستقبلات ميو الأفيونية (Chen et al., 2002; Gupta et al., 2011). في حين عزز الترامادول من الفعل المخدر والمسكن للألم لمزيج الكيتامين والزايلازين المستخدم في تخدير صغار الخنازير دون إحداث تثبيط للجهاز التنفسي (Ajadi et al., 2009). فضلاً عن زيادة فترة التخدير في الكلاب المخدرة بمزيج المديتومدين والكيتامين دون أن يترافق ذلك بأي تأثيرات جانبية على الجهاز القلبي-الوعائي (Choi et al., 2011). وكان تداخل الترامادول مع الكلوربرومازين Chlorpromazine (مهدئ) تآزرياً، فضلاً عن تخفيف التأثيرات الجانبية وتقليل الجرعة العلاجية لكلا العقارين عند إعطائهما في أفراخ الدجاج إذ كان التأثير تآزرياً عند إعطاء الجرعة المسكنة للترامادول مع الجرعة المسددة للكلوربرومازين في الجهاز العصبي المركزي والذي يعزز تسكين الألم (Aljbori et al., 2021).

وعند حقن الترامادول في الفئران مع الأدوية الأفيونية كالمورفين أحدث تداخلاً تآزرياً على مستوى التسكين من الألم الحشوي في إختبار التلوي Writhing test. في حين كان التداخل جمعياً Additive interaction مع الميثادون Methadone والفتنانيل على مستوى التسكين من الألم المحيطي Peripheral pain في إختبار الإحساس بالألم على الصفيحة الساخنة, إن هذا التداخل التآزري سببه تنشيط مختلف المستقبلات الأفيونية (كابا و دلتا) فضلاً عن تنشيط الترامادول لمستقبلات ميو الأفيونية (Miranda et al., 2014).

ويتداخل الترامادول مع بعض ادوية الجيل الأول الضادة للهستامين First generation H1 antihistamine تداخلاً تآزرياً كالسايبروهيتادين Cyproheptadine في إختبار الألم الحشوي للفئران عند الحقن في الخلب أو داخل القزَاب Intrathecal إذ إنه من المحتمل

مختلف مستقبلات السيروتونين 5HT receptors في الجهاز العصبي المركزي تشارك في تعزيز تسكين الألم للترامادول (Pinardi *et al.*, 1998). في حين أن السيناريزين Cinnarizine يكبح مستقبلات الكالسيوم Block calcium channel activity للخلايا العصبية والتي قد تكون لها الدور في التداخل التآزري مع الترامادول في تسكين الألم في اختبار قرص الذيل للجران (Kumar *et al.*, 2020), إذ قللت هذه العقارات جرعة الترامادول المسكنة للألم في كلا الاختبارين. في حين كان تداخل الترامادول مع الدايفينهيدرامين Diphenhydramine والبروميثازين Promethazine تداخلاً تضادياً Antagonistic interaction بسبب تثبيط هذه الأدوية لخميرة CYP2D6 والتي تعد أساسية في أيض الترامادول (Al-jader and Taqa, 2014; Liu *et al.*, 2014). وأشار (Frost *et al.*, 2019) إلى دور مثبطات خميرة CYP2D6 inhibitors في تقليل كفاءة الترامادول المسكنة للألم. في حين قللت الأدوية الضادة لمستقبلات السيروتونين 5HT receptor antagonist والضاة للتقيء كالاوندانسيترون Ondansetron والكيتانسيرين Ketanserin الفعّل المسكن للترامادول عند تداخلها معه (Xie *et al.*, 2008; Stevens *et al.*, 2015).

7-2 الكلورفينيرامين chlorpheniramine



الشكل (2-2) يوضح التركيب الكيميائي للكلورفينيرامين

3-(4-chlorophenyl)-N,N-dimethyl-3-pyridin-2-ylpropan-1- amine (Sanchaniya *et al.*, 2013)

يعد الكلورفينيرامين من مجموعة الألكيل أمين Alkylamine التي لها القابلية على عبور الحاجز الدموي الدماغي Blood-brain-barrier (BBB) (Kim et al., 2011). وله وزن جزيئي منخفض 274.79 وثابت تأين 9.1 PKa ويتألف من حلقة نافرة للماء Hydrophobic وسلسلة جانبية محبة للماء Hydrophilic (Ceschel et al., 1999). استخدم الكلورفينيرامين بشكل واسع في مجالي الطب البشري و البيطري وهو ضاد للهستامين من الجيل الأول 1st generation antihistamine. إن خاصية الأمان العالية للكلورفينيرامين جعلت استخدامه ناجحاً في علاج امراض الحساسية المختلفة إذ يعد العلاج الرئيس للشري Urticaria والتهاب الأنف التحسسي Allergic rhinitis وحمى القش Hay fever (Ali et al., 2020; Yehya et al., 2021). ويمتلك الكلورفينيرامين فعالية مثبتة لإعادة أخذ السيروتونين Serotonin reuptake inhibitor والتي تميزه عن معظم عقارات الجيل الأول الضادة للهستامين فضلاً عن استخدامه في معالجة القلق والكآبة (Hellbom, 2006). ويعد الزيميليدين Zimelidine كأول عقار لمجموعة مثبطات إعادة أخذ السيروتونين الانتقائية Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) وهو عبارة عن كلورفينيرامين تم تطويره كيميائياً ويستخدم لعلاج القلق والكآبة (Domino, 1999). فضلاً عن امتلاك الكلورفينيرامين خصائص مضادة للكولين Anticholinergic (Fang et al., 1998). وللكلورفينيرامين إمكانية التسكين من الألم الحشوي والمحيطي المحدث في الأعصاب الحسية (Mobarakeh et al., 2000; Khalilzadeh et al., 2017).

8-2 آلية عمل الكلورفينيرامين Mechanism of action

يصنف الكلورفينيرامين ضمن عقاقير ضادات الهستامين من الجيل الأول إذ يقوم بكبح مستقبلات الهستامين H1 receptor blocker الموجودة في النهايات العصبية للجهاز العصبي المحيطي (PNS) Peripheral nervous system والجهاز العصبي المركزي Central nervous system (CNS) وكذلك العضلات الملساء والخلايا الحبيبية (Baroody and Naclerio, 2000; Bacchetta and Gavazzi., 2003). وصنف الكلورفينيرامين كعقار يمتلك أعلى ألفة لمستقبلات الهستامين H1 مقارنة مع بقية عقارات ضادات الهستامين من الجيل الأول (Timmerman, 1999).

وأكدت إحدى الدراسات على أن لمستقبلات الهستامين H1 دور أساسي في الشعور والإدراك من الألم المحيطي والألم الحشوي إذ أعطى الكلورفينيرامين والذي يعد ضاداً متخصصاً لهذه المستقبلات تسكيناً للألم في الفئران التي أخضعت لإختبارات الألم المختلفة كإختبار الصفيحة الساخنة وإختبار التلوي المحدث بحمض الخليك (Mobarakeh *et al.*, 2000).

وأشارت دراسة أخرى (Khalilzadeh *et al.*, 2017) إلى أن الفعل المسكن للألم للكلورفينيرامين ناتج عن تنشيطه للمستقبلات الأفيونية المركزية Activation of opioid receptor in CNS و للكلورفينيرامين فعل مسكن للألم يضاهي فعل العقارات المسكنة المضادة للإلتهاب غير الستيرويدية ويستخدم في علاج ألم المفاصل وألم هشاشة العظام والألم الحشوي ويرجع السبب الرئيس لفعله المسكن كونه يعمل كضاد للهستامين Antihistaminergic effect فضلاً عن فعله كضاد للادرينالين anti-adrenergic effect بكبحه لمستقبلات الفا-1 (Takahashi *et al.*, 2016). وتعد آلية تثبيطه لإعادة أخذ السيروتونين هي الخاصة التي تميز الكلورفينيرامين عن معظم ضادات الهستامين من الجيل الأول وتعطيه خصائص طبية وتأثيرات علاجية متميزة كعلاج القلق والكآبة (Hellbom, 2006; Miyata *et al.*, 2011). وللكلورفينيرامين تأثيرات علاجية أخرى كتثبيطه للمستقبلات المسكارينية بشكل تنافسي Competitive muscarinic receptor inhibition والتأثير الضاد للكولين (Choi *et al.*, 2019).

ونجح الكلورفينيرامين في إحداث التخدير الموضعي Spinal anesthesia وبشكل أقوى ولمدة أطول من المخدر الموضعي ميبيفاكائين Mepivacaine عند حقنه داخل القراب Intrathecal injection وتقوم على المخدر الموضعي ميبيفاكائين في إحداث غلق للأعصاب الحسية والإحساس بالألم Nociceptive/sensory blockage (Tzeng *et al.*, 2015). وربط (Galeotti *et al.*, 2002) آلية عمل ضادات الهستامين من الجيل الأول كأدوية مخدرة موضعية بتحفيزها للآلية المرتبطة بالبروتينات المثبطة Gi proteins إذ أشار (Yeh, 1986) إلى أن تثبيط نشاط هذه البروتينات يمنع التأثير المسكن للنواقل العصبية كالكايبا GABA, بيتا اندورفين Beta endorphins, كاتيكولامينات Catecholamines والبيورينات Purines فضلاً عن التسكين المحدث بالمسكنات المعروفة كالأفيونات ومضادات الكآبة وشادات الفا الأدرينالية.

9-2 الحركية الدوائية للكلورفينيرامين Pharmacokinetic

يتمص الكلورفينيرامين بشكل جيد من الأمعاء عند إعطائه عن طريق الفم ويخضع لعملية التأيض الأولي في الكبد قبل وصوله إلى بلازما الدم ومن ثم يؤثر على تركيزه في بلازما الدم وتوافره الحيوي، فقد وجدت دراسة أن التوافر الحيوي للكلورفينيرامين المعطى لأشخاص أصحاء عن طريق الفم حوالي 25-40% بسبب التأثير العالي لعملية الأيض المار الأولي في الكبد (Vivek et al., 2017). ولاحظ (Hiep et al., 2001) أن تركيز المتماثل الموجب للكلورفينيرامين في بلازما الدم كان أعلى من تركيز المتماثل السالب في الجردان وذلك عند إعطاء المزيج الرايسمي Racemic mixture للكلورفينيرامين عن طريق الفم، فضلاً عن اختلاف هذه التراكيز عند إعطاء الكلورفينيرامين عن طريق الحقن بالوريد وربط الأسباب بالايض المار الأولي في الكبد. ويصل الكلورفينيرامين أعلى تركيز له في بلازما الدم C_{max} خلال 3 ساعات بعد إعطائه عن طريق الفم وبتوافر حيوي 35% بعد إعطائه بجرعة 10 ملغم بشكل محلول عن طريق الفم للأطفال (Pathirana et al., 2018). وكان معدل عمر النصف لإنتشار Distribution half life الكلورفينيرامين 0.28 ساعة ومعدل عمر النصف لطرحة Elimination half life 3.62 ساعة عند إعطائه بجرعة 0.5 ملغم/كغم عبر الوريد في الخيول (Kuroda et al., 2013).

يتأيض الكلورفينيرامين في الكبد وتستحوذ خميرة ال CYP2D6 على عملية أيضه إذ لها الدور الأساسي في عملية إزالة الميثيل من التركيب الكيميائي للكلورفينيرامين N-dealkylation وإستبداله وتحويله إلى مركبين مستقلبين Monodesmethyl and Didesmethyl Chlorpheniramine (Yasuda et al., 2002). ويطرح الكلورفينيرامين بشكل رئيس عن طريق الكلية وسجل (Yasuda et al., 1995) عمر النصف لطرحة الكلورفينيرامين 13.9-43.4 ساعة بعد إعطائه عن طريق الفم بجرعة منفردة في الأشخاص الأصحاء.

10-2 التأثيرات الدوائية و الاستخدامات السريرية للكلورفينيرامين

استخدم الكلورفينيرامين بشكل آمن وفعال كضاد للهستامين منذ عام 1950 لعلاج حالات الحساسية، وهو علاج شائع لحد كبير باستخدامه دون وصفة طبية Over the counter (OTC) لكثير من الحالات كالسعال Cough نزلات البرد Common cold و الربو Asthma والحكة المزمنة Urticaria فضلاً عن علاج الكآبة (Rizvi et al., 2022).

وعالج الكلورفينيرامين الأمراض الجلدية التحسسية Allergic dermatoses في الكلاب والقطط إذ عدَّ أنسب وأفضل علاج لهذه الحالات (Scott and Miller, 1999). وفي علاج الشري في الخيول (Kuroda *et al.*, 2013).

وأستخدم الكلورفينيرامين مع الاسيتامينوفين Acetaminophen والكافيين Caffeine وحمض الاسيتيل سالسيليك Acetylsalicylic acid في علاج الألم الناتج عن الشقيقة Migraine (Voicu *et al.*, 2017) وألم الظهر الحاد (Voicu *et al.*, 2019). في حين أعطى تسكيناً تجريبياً في الجرذان إذ أستخدم كبديل عن البوبيفاكائين Bupivacaine في اختبار الألم الجلدي Cautenous pain وأعطى مدة تسكين أطول مقارنة معه (Chiu *et al.*, 2020). وأشار (Lin *et al.*, 2018) إلى نجاح الكلورفينيرامين و بالجرعة المنخفضة في تعزيز التسكين من الألم المحدث بالوخز بالإبر الكهربائية Electroacupuncture.

وفحص التأثير المسكن للألم للكلورفينيرامين في تجربة اختبار الألم الحشوي في الجرذان, إذ أدى حفته إلى الإنخفاض المعنوي في عدد مرات التلوي لإختبار التلوي بكمض الخليك ومن ثم نجح في إحداث التسكين من الألم الحشوي (Zanboori *et al.*, 2008). وأمتلك الكلورفينيرامين القدرة على رفع عتبة الألم Pain threshold في اختبار الصفيحة الساخنة وأحدث التسكين من الألم الحراري فوق الصفيحة الساخنة في الفئران (Mobarakeh *et al.*, 2000). كما أشار (Sun *et al.*, 1985) إلى أنه ضادات الهستامين ومن ضمنها الكلورفينيرامين تعطي تسكيناً معنوياً في اختبار قرص الذيل Tail clamp في الفئران.

وأعطى الكلورفينيرامين تأثيراً مضاداً للقلق في الفئران (Miyata *et al.*, 2011). فضلاً عن نجاحه في إحداث التأثير المضاد للكآبة في الفئران التي أخضعت لإختبار السباحة الإجباري Tail suspension test وإختبار الذيل المعلق (Shakiba *et al.*, 2018). (Hirano *et al.*, 2007).

و أستخدم الكلورفينيرامين بعد العمليات الجراحية للجهاز البولي كأستصال السرطان من المثانة البولية, إذ أعطى تأثيراً مضاداً للمسكارين Antimuscarinic و الذي قلل بدوره من شدة وحدوث عدم الراحة الناتجة من إدخال قسطرة الإحليل Urethral catheter (Huh *et al.*, 2021). ونجح الكلورفينيرامين كبديل للسايكليزين Cyclizine (ضاد مستقبلات H1) بعد العمليات الجراحية كمضاد للتقيء (Morita *et al.*, Antiemetic).

2004). فضلاً عن استخدامه كموسع للقصبات الهوائية Bronchodilator بشكل رذاذ Aerosolized في الأشخاص الذين يعانون من الربو (Chugh *et al.*, 2020). وأظهر الكلورفينيرامين تأثيراً فعالاً في علاج دوار الحركة Motion sickness إذ استخدم بطريقة اللسقات الجلدية Transdermal patches (Buckey *et al.*, 2004).

11-2 التأثيرات الجانبية للكلورفينيرامين

صنفت منظمة الدواء و الغذاء العالمية FDA الكلورفينيرامين ضمن الفئة Category B (Church *et al.*, 2010), إذ لم يظهر أي تأثيرات مسخية في الدراسة على الحيوان (Lis-swiety *et al.*, 2006). وأعد (Kar *et al.*, 2012) الكلورفينيرامين عقاراً آمناً ضمن مجموعة الجيل الأول الضادة للهستامين إذ يمكن استخدامه في الحمل.

يعد التسدير التأثير الجانبي الأكثر شيوعاً للكلورفينيرامين الناتج عن الفته العالية للدهون More lipophilic إذ تمكنه هذه الخاصية من عبور الحاجز الدموي الدماغي BBB والتأثير على الجهاز العصبي المركزي CNS (Karamanakos *et al.*, 2004).

في حين وجدت دراسات أخرى أن إعطاء الكلورفينيرامين من الممكن أن يؤدي إلى تأثيرات جانبية أقل حدوثاً كالدوار Dizziness والصداع Headeach وفقدان الشهية Loss of appetite وبشكل نادر يؤدي إلى خلل في الحركة Dyskinesia وإرتجاف Tremors ورؤية مزدوجة Diplopia (Schuller and Turkewitz, 1986; Simons and Simons, 2011; Mahdy and Webster, 2011).

فضلاً عن التأثيرات الجانبية والتي سببها التأثير الضاد للكولين Anticholinergic للعقار كجفاف الفم والأغشية المخاطية Dry mouth and Mucous membrane, صعوبة التبول Dysurea, الضعف الجنسي Impotence, تسارع ضربات القلب Tachycardia, والإمساك (Simons, 2004). فضلاً عن إحداثه ضعف الإدراك Cognitive impairment (Okamura *et al.*, 2000). وأوضح (Choi *et al.*, 2019) إمكانية حدوث الحساسية المفرطة Anaphylaxis ضد الكلورفينيرامين و بشكل نادر والتي يجب أن تؤخذ بنظر الاعتبار.

وسجل (Guo *et al.*, 2022) حدوث فشل كلوي Renal failure نتيجة انحلال الربيدات Rhabdomyolysis والذي سببه الضرر المفرط في النسيج العضلي عند إعطاء

الكلورفينيرامين بجرعة فموية عالية Overdose. فضلاً عن أن الجرعة العالية للكلورفينيرامين قد تسبب متلازمة السيروتونين Serotonin syndrome او الإختلاجات Convulsions (Karamanakos, 2007; Murao et al., 2008). وسجلت حالات إدمان على الكلورفينيرامين عند استخدامه لفترات طويلة (Schifano et al., 2021).

2-12 التداخل الدوائي للكلورفينيرامين

يتداخل الكلورفينيرامين دوائياً مع العقارات الأفيونية Opioid مثل المورفين تداخلاً تآزرياً, إذ قلل الكلورفينيرامين الجرعة اللازمة من المورفين لحدوث التسكين من ألم المغص الكلوي فضلاً عن منع حدوث التأثيرات الجانبية للمورفين كالغثيان والتقيؤ (Ziapor et al., 2017). وكشف (Sun et al., 1985) أن الكلورفينيرامين عزز الفعل المسكن للألم للمورفين في إختبار قرص الذيل في الفئران. وأن إعطاء الكلورفينيرامين مع المورفين نجح في تعزيز الفعل المسكن للألم الحراري (إختبار الصفيحة الساخنة) والألم الميكانيكي (إختبار قرص الذيل) والألم الكيميائي (إختبار الفورمالين) في الفئران (Mobarakeh et al., 2002).

وأستخدم الكلورفينيرامين مع الكودائين Codeine والمثيلفيدرين Methylphedrine والكافيين لعلاج السعال ونزلات البرد, إذ قلل الكلورفينيرامين من جرعة الكودائين والتأثيرات الجانبية له (Schifano et al., 2021). فضلاً عن التداخل الدوائي التآزري بين الكلورفينيرامين والهيدروكودون Hydrocodone لعلاج السعال غير المنتج للرشح (Sloan et al., 2019).

وعزز الكلورفينيرامين التسكين من الألم لداء الشقيقة (Voicu et al., 2017) والألم الحاد لأسفل الظهر عند استخدامه بجرع منخفضة مع الاسيتامينوفين (Voicu et al., 2019). وكان التداخل الدوائي للكلورفينيرامين مع الايبوبروفين Ibuprofen تآزرياً أيضاً وأعطى تسكيناً فائقاً من الألم باقل الجرع لكلا العقارين فضلاً عن الحد من حدوث التأثيرات الجانبية ومن ثم أدى إعطاء العقارين معاً إلى تقليل الجرعة المعطاة وزيادة مدة التسكين من الألم (Meltzer et al., 2004).

وأحدث الكلورفينيرامين تخديراً متوازناً مع أدوية التخدير كالكيتامين والاسيبرومازين
Acepromazine في الجرذان ومن ثم من الممكن استخدامه كعقار قبل العمليات الجراحية
(Hajighahramani, 2016). وقلل الكلورفينيرامين من جرعة الترامادول المستخدمة بعد
العمليات الجراحية لإزالة حصى الإحليل للحد من عدم الراحة والألم بسبب استخدام قسطرة
المثانة (In et al., 2021).

وأنتج الكلورفينيرامين تداخلاً جمعياً مع الاتروبين Atropine في علاج حالات التسمم
بالديكلورفوس Dichlorvos في الجرذان (Owunari and Chika, 2021).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1-3 الحيوانات المستخدمة

إستخدم في جميع تجارب هذه الدراسة 191 فأر بالغ بعمر شهرين سوسرية الأصل swiss albino mice من كلا الجنسين جهزت من بيت الحيوان التابع لكلية الطب البيطري / جامعة الموصل, وتم تربيتها وتكاثرها في أقفاص (17 × 20 × 30) سم³, وفي ظروف قياسية من تهوية ودرجة حرارة (22 ± 2) م° ودورة ضوئية 10 ساعة ضوء 14 ساعة ظلام و جهزت بالعلف والماء بشكل منتظم مع التبديل الدوري للفرشة.

2-3 الادوية والمواد الكيميائية المستخدمة :

1. الترامادول Tramadol HCL 100mg/2ml بتركيز 5% بشكل امبولات من إنتاج شركة DUPHARMA , ماليزيا.
2. الكلورفينيرامين Chlorpheniramine maleate بشكل مسحوق نقي Pure powder جهاز من قبل شركة Pioneer pharmaceutical العراق, السليمانية.
3. حمض الخليك Acetic acid من إنتاج شركة TEDIA, الولايات المتحدة الامريكية.
4. الزايلازين بتركيز 2% من إنتاج شركة Inter chemie, هولندا.
5. الكيتامين بتركيز 10% من إنتاج شركة Dutch Farma, المانيا.
6. الفلوكسيتين Fluoxetine 20mg tablet من إنتاج شركة Gerot Lannach, النمسا.
7. المحلول الملحي الفسلجي physiological normal saline من انتاج شركة Marksans pharma, الهند.

3-3 الأجهزة المستخدمة :

1. جهاز الصفيحة الساخنة Hot plate نوع MR Hei-Standard من إنتاج شركة Heidolph, المانيا.
2. محرار ليزري ASWAR , الصين.
3. ساعة إيقاف Stop watch , الصين.
4. ميزان الكتروني حساس نوع AEADAM, المانيا.

3-4 التجارب:

3-4-1 التجربة الأولى: تحديد الجرعة الفاعلة الوسطية (الجف50) Median effective dose (ED₅₀) المسكنة للألم الحاد لكل من الكلورفينيرامين والترامادول لوحدهما أو معاً باستخدام طريقة الصعود والنزول (Dixon, 1980) في الفرن

أ- تحديد الجف50 المسكنة للألم الحاد للكلورفينيرامين لوحده

في هذه التجربة أختيرت عشوائياً ، خمسة فئران بالغة بعمر شهرين ، ذات أوزان تراوحت ما بين (22-32) غرام. في البداية أخضع كل حيوان وبشكل مفرد لإختبار الألم الحاد باستخدام جهاز الصفيحة الساخنة Hot plate (الشكل 3-1) عند درجة حرارة 56° م. إذ تم وضع الحيوان بشكل منفرد على الصفيحة الساخنة وثبت الوقت (بالتواني) الذي يبدأ عندها الحيوان برفع اليد أو لعقها Licking of paw و/أو القفز Jumping في محاولة لتجنب الألم الحراري، وبعد هذا مؤشراً للإحساس بالألم وتسمى المدة (بالتواني) منذ وضع الحيوان على الصفيحة الساخنة الى أن يبدأ باللعق أو رفع اليد و/أو القفز بال latency (Sampaio et al., 2020) . وكان أقصى وقت مسموح لبقاء الحيوان فوق الصفيحة الساخنة cutoff time هو 20 ثانية تفادياً لتعرض الحيوان لأي حرق أو تلف في الأنسجة (Roy et al., 2019).

تم بعدها حقن الحيوان الأول بجرعة أولية من الكلورفينيرامين (20 ملغم/كغم، من وزن الجسم، في الخلب) وبحجم حقن 5 مل/كغم وأختيرت هذه الجرعة بالإعتماد على التجارب الأولية فضلاً عن بحوث سابقة (Zendehdel et al., 2011). وأعيد فحص الحيوان نفسه

فوق الصفيحة الساخنة لتسجيل الوقت (بالتواني) الذي يبدأ عنده الحيوان برفع اليد أو لعقها و/أو القفز بعد 15 دقيقة من حقن جرعة الكلورفينيرامين وكان مقدار الزيادة والنقصان في جرعة الكلورفينيرامين اللاحقة بمقدار ثابت (5 ملغم/كغم) في حالة حدوث التسكين من الألم أو عدم حدوثه أي ما يعادل (25%) من قيمة الجرعة الأولية. وأستخدم الرمز X لتحديد القيمة النهائية الموجبة (التسكين من الألم) والرمز O للقيمة السالبة (عدم حدوث التسكين). ويتكرر الصعود والنزول في مقدار جرعة الكلورفينيرامين اللاحقة ولثلاث حيوانات فقط بعد حدوث أول تغير تم حساب الجف50 المسكنة للألم الحاد للكلورفينيرامين بالإعتماد على الجدول (Dixon, 1980) لاستخراج القيمة الجدولية الملحق (1) وباستخدام المعادلة الآتية :

$$ED_{50} = XF + Kd$$

حيث تمثل :

ED_{50} : الجرعة الفاعلة الوسطية المسكنة للألم (الجف50)

XF : الجرعة الأخيرة المستخدمة في التجربة

K : مقدار القيمة المستخرجة من الجدول المرفق في الملحق (1)

d : مقدار الزيادة والنقصان (الثابت) في الجرعة المعطاة.

ب- تحديد الجف50 المسكنة للألم الحاد للترامادول لوحد

أستخدمت ستة فئران بالغة بعمر شهرين، أختيرت بشكل عشوائي وتراوحت أوزانها ما بين (25-34) غرام، أجري عليها إختبار الألم الحاد المذكور في التجربة السابقة بإستخدام جهاز الصفيحة الساخنة وعند درجة الحرارة نفسها للتوصل إلى مقدار الجف50 المسكنة للألم الحاد للترامادول، إذ تم حقن الفأر الأول عن طريق الخلب بجرعة أولية من الترامادول (10ملغم/كغم، من وزن الجسم) بالإعتماد على التجارب الأولية فضلاً عن بحوث سابقة (Mishra et al., 2020). وأعيد فحص التسكين من الألم (بالتواني) بعد 15 دقيقة من حقن الحيوان نفسه بالترامادول. وكان مقدار الزيادة والنقصان في جرعة الترامادول اللاحقة 2.5 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب (أي ما يعادل 25% من مقدار الجرعة الأولية). ويتكرر الصعود والنزول بالجرع اللاحقة ولثلاث فئران فقط بعد أول تغيير تم حساب قيمة الجف50 المسكنة للألم الحاد للترامادول بإعتماد المعادلة والجدول المذكور في التجربة السابقة.

ج _ تحديد الجف50 المسكنة للألم الحاد للترامادول عند إعطائه مع الكلورفينيرامين بجرعة ثابتة

تم تحديد الجف50 المسكنة للألم الحاد للترامادول عند إعطائه مع جرعة ثابتة من الكلورفينيرامين في الفئران بطريقة الصعود والنزول (Dixon, 1980) وذلك لمعرفة مدى تأثير الجرعة الثابتة من الكلورفينيرامين الجف50 له في مقدار الجف50 للترامادول عند إعطائهما معاً في الوقت نفسه.

استخدم في هذه التجربة سبعة فئران بالغة اختيرت عشوائياً تراوحت أوزانها ما بين (23-32) غرام. وتم حقن العقارين في نفس الوقت في الخلب إذ حقن الحيوان الأول بالترامادول بجرعة أولية 10 ملغم/كغم، من وزن الجسم إستناداً إلى أبحاث سابقة (Mishra *et al.*, 2020) وعلى التجربة السابقة وكانت الزيادة والنقصان (الصعود والنزول) في جرعة الترامادول اللاحقة 2.5 ملغم/كغم أي ما يعادل 25% من قيمة جرعة الترامادول الأولية، في حين ثبتت جرعة الكلورفينيرامين على طول التجربة 18.4 ملغم/كغم. وباستخدام جهاز الصفيحة الساخنة تم تحديد وقت الإستجابة للإحساس بالألم الحاد (بالتواني) وعند درجة حرارة 56°م أجري هذا الفحص لكل فأر في التجربة عند كل جرعة (الجرعة الثابتة من الكلورفينيرامين والمختلفة من الترامادول) قبل حقن العقارين معاً في الخلب ثم أعيد الفحص بعد 15 دقيقة من حقنهما معاً في الحيوان نفسه. وبإتماد طريقة الصعود والنزول ولثلاثة حيوانات فقط بعد حدوث أول تغيير وباستخدام قيم الجدول المذكور من قبل (Dixon.,1980) المرفق بالملحق (1) والمعادلة المذكورة سابقاً، تم تحديد الجف50 للترامادول عند إعطائه مع جرعة ثابتة من الكلورفينيرامين.



الشكل (1-3) جهاز الصفيحة الساخنة Hot plate

3-4-2 التجربة الثانية: تحليل نوع التداخل الدوائي بين الترامادول و الكلورفينيرامين على مستوى التسكين من الألم الحاد في الفئران باستخدام تحليل

الايروبولوجرافك Isobolographic analysis

أ. تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الترامادول و الكلورفينيرامين عند إعطائهما معا بنسبة 1:1 من الجف 50 لكل منهما

اختبرت عشوائياً ستة فئران بعمر شهرين تراوحت أوزانها ما بين (25-34) غرام. في البداية وقبل حقن العقارين تم تسجيل الوقت اللازم للإحساس بالألم (بالتواني) للفار الأول وذلك بوضعه فوق جهاز الصفيحة الساخنة وبدرجة حرارة 56° م . ثم حقن الحيوان نفسه بالجف 50 للترامادول المحسوبة مسبقاً في التجربة الأولى (12 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب) وأعيد حقنه مباشرة بالجف 50 للكلورفينيرامين (18.4 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب) والمحسوبة في التجربة الأولى أيضاً. وبعد مرور 15 دقيقة على حقن العقارين معاً أعيد فحص الإحساس بالألم الحراري للفار نفسه بوضعه على جهاز الصفيحة الساخنة وبالطريقة نفسها المذكورة بالتجربة الأولى. وسجل الوقت اللازم للإحساس بالألم المتمثل برفع اليد أو لعق باطن اليد و/أو القفز بالتواني. ومن ثم سجلت النتيجة النهائية وهي إما حدوث التسكين من الألم أو فشله. وكان مقدار الزيادة أو النقصان (الصعود والنزول) في الجف 50 للترامادول والكلورفينيرامين في حالة حدوث أوفشل التسكين من الألم في الحيوانات اللاحقة بمقدار ثابت هو (3 و 4.6) ملغم/كغم على التوالي. وبتكرار الصعود والنزول في مقدار الجف 50 اللاحقة للعقارين ولثلاثة فئران فقط بعد حدوث أول تغيير وباستخدام الجدول المذكور من قبل (Diixon, 1980) والمعادلة المذكورة سابقاً تم حساب الجف 50 لكل من الترامادول والكلورفينيرامين عند إعطائهما معاً عند هذه النسبة ولكل عقار فضلاً عن تحديد نوع التداخل الدوائي بين العقارين عند هذه النسبة (1:1) باستخدام تحليل الايزوبولوجرافك ومعادلة مؤشر التداخل الدوائي Y index .

تحليل نوع التداخل الدوائي بين العقارين باستخدام تحليل الايزوبولوجرافك

Isobolographic analysis

تم تثبيت الجف50 للترامادول لوحده على برنامج الإكسيل Excel من جهة المحور السيني في حين تم تثبيت الجف50 للكلورفينيرامين على المحور الصادي وبرسم خط قطري diagonol line تم الربط بين هاتين الجرعتين ثم حددت النقطة التي تلتقي عندها جرعتا الترامادول والكلورفينيرامين عند إعطائهما معاً بنسبة 1:1 من الجف50 لكل منهما وملاحظة مكان وقوعها بالنسبة للخط الواصل بين الجف50 للترامادول وتلك للكلورفينيرامين كل لوحده. فإذا أشر وقوع هذه النقطة فوق الخط (إلى الخارج أو الاعلى) فالتداخل بين العقارين تضادياً Antagonistic interaction. أما وقوعها أسفل (للداخل) الخط فدلالة على ان التداخل تداخل تآزري Synergistic interaction في حين وقوعها على الخط الواصل بين جرعتي العقارين فمؤشراً على أن التداخل الدوائي بين العقارين تداخلاً جمعياً (اضافي) Additive interaction وتمت هذه الحسابات اعتماداً على التحليل البياني Isobolographic analysis (Puig et al., 1996; Tallarida, 2002) والمعتمد لفحص نوع التداخل الدوائي بين الأدوية المختلفة. وللتأكد من نوع التداخل بين العقارين تم استخدام معادلة مؤشر التداخل الدوائي Interaction Index وبالاعتماد على قيمة Y المستخرجة من المعادلة

$$Y = da/Da + db/Db$$

حيث تمثل

Da: الجف50 للترامادول لوحده

Db: الجف50 للكلورفينيرامين لوحده

da, db: الجف50 للعقارين عند إعطائهما معاً

فإذا كانت قيمة Y

$Y = 1$ لا يوجد تداخل بين العقارين (Additive or No interaction)

$Y = 1$ أقل من 1 التداخل بين العقارين تداخل تقوية (تآزري)

(Synergism)

$Y = 1$ أكبر من 1 التداخل بين العقارين تداخل تضادي (Antagonism)

(Puig et al.,1996; Tallarida, 2002)

وتم حساب نسبة الإنخفاض بالجف50 المسكنة للألم الحاد عند هذه النسبة 1:1 باستخدام

المعادلة الآتية:

النسبة المئوية للإنخفاض في الجف50 المسكنة للألم = الجف50 للعقار لوحده- الجف50 للعقار (في حالة تداخل) / الجف50 للعقار × 100 (Mbiantcha)
(et al., 2018).

ب - تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الترامادول و الكلورفينيرامين عند إعطائهما معاً بنسبة 0.5:0.5 من الجف50 لكل منهما

استخدم في هذه التجربة خمسة فئران بعمر شهرين أختيرت عشوائياً وتراوحت أوزانها بين (29-33) غرام. في البداية وقبل حقن العقارين سجل الوقت اللازم لحدوث الألم (بالتواني) للفأر الأول بوضعه على جهاز الصفيحة الساخنة بدرجة حرارة 56°م. ثم حقن الحيوان نفسه بالعقارين معاً بنسبة 0.5:0.5 من الجف50 المسكنة للألم لكل من الترامادول و الكلورفينيرامين (6 : 9.2) ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب على التوالي وبعد 15 دقيقة من الحقن أعيد فحص الفأر نفسه بوضعه على جهاز الصفيحة الساخنة وكما ذكر سابقاً وتم تسجيل النتيجة النهائية وهي التسكين أو عدم التسكين من الألم. وكان مقدار الزيادة والنقصان في الجف50 للكلورفينيرامين وتلك للترامادول بمقدار ثابت وإعتماداً على هذه النسبة (1.5 ، 2.3) ملغم/كغم، في الخلب وعلى التوالي. وبتكرار طريقة الصعود والنزول في مقدار الجرعة لكلا العقارين ولثلاثة فئران فقط بعد حدوث أول تغير (التسكين أو عدم التسكين من الألم) تم حساب الجف50 لكل من الترامادول و الكلورفينيرامين عند إعطائهما معاً بنسبة 0.5:0.5 من الجف50 لكل منهما ومن ثم تحديد نوع التداخل الدوائي بينهما عند هذه النسبة باستخدام التحليل البياني ومعادلة مؤشر التداخل المذكورة سابقاً وبالطريقة نفسها فضلاً عن تسجيل أي تأثيرات جانبية تظهر على الفئران في أثناء معاملتها بالجرع المختلفة من العقارين في أثناء فترة التجربة.

**3-4-3 التجربة الثالثة: تحديد وقت بدء التسكين من الألم الحاد ومدته
Onset and duration of analgesia لجرع مختلفة من الترامادول في**

الفئران (تحديد أفضل جرعة مسكنة للألم الحاد وأفضل وقت لإحداث التسكين من الألم) (Dose response and time relationship)

في هذه التجربة تم استخدام 24 فأراً بعمر شهرين تراوحت أوزانها بين (23-35) غرام قسمت عشوائياً إلى أربع مجاميع منفصلة إحتوت كل مجموعة 6 فئران . تم تحديد جرعة الترامادول المستخدمة في هذه التجربة بالإعتماد على الجف₅₀ المسكنة للألم المستخرجة في التجربة السابقة وعولمت المجاميع كما يأتي

- 1-المجموعة الأولى (السيطرة) : حقنت الفئران في هذه المجموعة بالمحلول الملحي الفسلجي physiological normal saline في الخلب وبحجم حقن 5 مل/كغم, من وزن الجسم .
- 2-المجموعة الثانية : حقنت بالترامادول بجرعة 6 ملغم/كغم, من وزن الجسم, في الخلب
- 3-المجموعة الثالثة : حقنت بالترامادول بجرعة 12 ملغم/كغم, من وزن الجسم, في الخلب
- 4-المجموعة الرابعة : حقنت بالترامادول بجرعة 24 ملغم/كغم, من وزن الجسم, في الخلب. أي أن الجرعة المحقونة من الترامادول في المجموعة الثانية والثالثة والرابعة تعادل (25 , 50 , 100 %) على التوالي من الجرعة الفاعلة المسكنة للألم الحاد للترامادول. سجل الوقت اللازم الذي يحس عنده الفأر بالألم Latency رفع اليد أو لعقها و/أو القفز (عند الوقت صفر) للفئران في المجاميع كافة لكل حيوان وبشكل منفرد على جهاز الصفيحة الساخنة عند درجة حرارة 56°م . ثم أعيد الفحص نفسه لكل حيوان في كل مجموعة من المجاميع الأربع المختلفة بعد (10 , 20 , 30 , 40 , 50 , 60 , 120) دقيقة و (4 , 24) ساعة من الحقن. وحسبت النسبة المئوية للتسكين من الألم (أعلى تأثير ممكن) Maximal possible effect (MPE) بإعتماد المعادلة الآتية

$$MPE = \frac{\text{test latency} - \text{predrug latency}}{\text{cutoff time} - \text{predrug latency}} \times 100$$

(Viviana et al.,2020)

إذ تمثل

MPE : أعلى تأثير ممكن

test latency : الإستجابة بالثواني بعد أخذ الحيوان للعقار المسكن

predrug latency : الإستجابة بالثواني قبل أخذ الحيوان للعقار المسكن

cutoff time : 20 ثانية اقصى وقت مسموح لبقاء الحيوان على الصفيحة الساخنة عند الإحساس أو عدم الإحساس بالألم.

4-4-3 التجربة الرابعة: تحديد وقت بدء التسكين من الألم الحاد ومدته Onset and duration of analgesia لجرع مختلفة من الكلورفينيرامين في الفئران (تحديد أفضل جرعة مسكنة للألم الحاد وأفضل وقت لإحداث التسكين من الألم) (Dose response and time relationship)

استخدم في هذه التجربة 24 فأراً بالغ بعمر شهرين تراوحت أوزانها بين (20-32) غرام قسمت هذه الفئران عشوائياً الى اربع مجاميع منفصلة وتألفت كل مجموعة من 6 فئران. في البداية تم تحديد جرعة الكلورفينيرامين بالإعتماد على الجف50 المسكنة للألم في التجربة الأولى وعوملت هذه المجاميع كما يلي

1-المجموعة الأولى : تم حقن المخلوط الملحي الفسلجي في الخلب ولجميع حيوانات هذه المجموعة وبحجم حقن 5 مل/كغم, من وزن الجسم وعدت مجموعة (السيطرة)

2-المجموعة الثانية: حقنت بالكلورفينيرامين بجرعة 9.2 ملغم/كغم, من وزن الجسم, في الخلب.

3-المجموعة الثالثة: حقنت بالكلورفينيرامين بجرعة 18.4 ملغم/كغم, من وزن الجسم, في الخلب.

4-المجموعة الرابعة: حقنت بالكلورفينيرامين بجرعة 36.8 ملغم/كغم, من وزن الجسم, في الخلب .

أي أن جرعة الكلورفينيرامين المحقونة في المجاميع الثانية والثالثة والرابعة ما يعادل (25 , 50 , 100 %) على التوالي من الجرعة الفاعلة المسكنة للألم الحاد للكلورفينيرامين. وضعت فئران هذه المجاميع على جهاز الصفيحة الساخنة عند درجة حرارة 56°م لتسجيل الوقت اللازم الذي يحس عنده الفأر بالألم Latency برفع اليد أو لعقها و/أو القفز ثم أعيد الفحص نفسه لكل حيوان في كل مجموعة من مجاميع الكلورفينيرامين المختلفة بعد (10, 20 , 30 , 40 , 50 , 60 , 120) دقيقة و (4 , 24) ساعة من الحقن وحسبت النسبة المئوية

للتسكين من الألم (أعلى تأثير ممكن) (MPE) Maximal possible effect كما ذكر في التجربة السابقة.

3-4-5 التجربة الخامسة: تحديد فعالية الترامادول أو الكلورفينيرامين أو العقارين معاً في تقليل الألم الحشوي (منعكس التلوي) (Writhing reflex) في الفئران

تضمنت هذه التجربة استخدام 24 فأراً بعمر شهرين بأوزان تراوحت ما بين (26-34) غرام قسمت عشوائياً على أربع مجاميع منفصلة تضمنت كل مجموعة 6 فئران تمت معاملتها بجرع تمثل الجرع المضاعفة للجف50 المسكنة للألم لكلا العقارين وكما يلي:

المجموعة الأولى (السيطرة): حقنت فئران هذه المجموعة بالمحلول الملحي الفسلجي في الخلب المجموعة الثانية: حقنت حيوانات هذه المجموعة بعقار الترامادول بجرعة 24 ملغم/كغم, من وزن الجسم, في الخلب.

المجموعة الثالثة: حقنت فئران هذه المجموعة بعقار الكلورفينيرامين بجرعة 36.8 ملغم/كغم, من وزن الجسم, في الخلب.

المجموعة الرابعة: حقنت فئران هذه المجموعة بعقاري الترامادول والكلورفينيرامين معاً وفي الوقت نفسه في الخلب بجرعة (24 , 36.8) ملغم/كغم, من وزن الجسم, في الخلب. وكان حجم الحقن في المجاميع كافة 5 مل/كغم

وبعد مرور 30 دقيقة على حقن العقار تم حقن الحيوانات في المجاميع كافة بحمض الخليك acetic acid بتركيز 1% وجرعة 0.1 مل/10غم من وزن الجسم, في الخلب لإحداث الألم الحشوي (Mota et al., 2022)

وسجل وقت بدء التلوي وكذلك حساب عدد مرات التلوي فضلاً عن حساب نسبة الإنخفاض في عدد مرات التلوي باعتماد القانون الآتي:
النسبة المئوية للانخفاض في عدد مرات التلوي = معدل عدد مرات التلوي للسيطرة - معدل عدد مرات التلوي للاختبار / معدل عدد مرات التلوي للسيطرة × 100 (Uddin et al., 2018)

3-4-6 التجربة السادسة: تأثير إعطاء الجف25 للترامادول والكلورفينيرامين معاً في مستوى إحداث التسكين من الألم الحاد في الفئران باستخدام جهاز الصفيحة الساخنة.

تضمنت هذه التجربة أربع مجاميع تالفت كل مجموعة من خمسة فئران اختيرت عشوائياً تراوحت أوزانها بين (26-35) غرام و عوملت هذه المجاميع كما يأتي:

المجموعة الأولى (السيطرة) : حقنت حيوانات هذه المجموعة بالمحلول الملحي الفسلجي في الخلب.

المجموعة الثانية: حقنت حيوانات هذه المجموعة بالجف25 للترامادول 6 ملغم/كغم,من وزن الجسم, في الخلب.

المجموعة الثالثة: حقنت حيوانات هذه المجموعة بالجف25 للكلورفينيرامين 9 ملغم/كغم,من وزن الجسم, في الخلب.

المجموعة الرابعة: حقنت حيوانات هذه المجموعة بالجف25 لكلا العقارين الترامادول والكلورفينيرامين (6 , 9) ملغم/كغم,من وزن الجسم, في الخلب على التوالي وفي الوقت نفسه.

تم اختيار هذه الجرعة اعتماداً على التجارب السابقة فضلاً عن التجارب الأولية وتأكد عدم إحداثها للتأثير المسكن للألم الحاد عند حقنها بشكل منفرد للحيوان. أخضع كل فأر من هذه المجاميع إلى الفحص الحراري لتسجيل الإحساس من الألم الحاد على جهاز الصفيحة الساخنة وذلك قبل حقن الترامادول أو الكلورفينيرامين أو العقارين معاً عند درجة حرارة 56م, وبعد مرور 30 دقيقة اعيد تسجيل وقت الإحساس بالألم الحاد (ثواني) للفأر نفسه في المجاميع كافة وذلك برفع اليد أو لعقها و/ أو القفز.

3-4-7 التجربة السابعة: تحديد الجرعة المميتة الوسطية (الجم50) الحادة

LD₅₀ Median lethal dose للترامادول أو الكلورفينيرامين كلاً لوحده في الفئران باستخدام طريقة الصعود والنزول **up-and-down method**

أ- الجم50 الحادة للترامادول في الفئران

أستخدم في هذه التجربة خمسة فئران بالغة أختيرت عشوائياً بعمر شهرين تراوحت أوزانها بين 24-33 غرام. حددت الجم50 للترامادول عن طريق الحقن في الخلب في الفئران بطريقة

الصعود والنزول وأستخدم الرمز X لتحديد النتيجة النهائية لموت الحيوان والرمز O لبقاء الحيوان على قيد الحياة وكانت فترة المراقبة للحصول على النتيجة النهائية هي 24 ساعة إذ تم تسجيل علامات التسمم الحاد بالترامادول .

تم حقن جرعة أولية من عقار الترامادول في الخلب 150 ملغم/كغم، من وزن الجسم اعتماداً على تجارب أولية فضلاً عن مصادر سابقة (Al-Jader, 2011; Lagard, et al 2016). وبتكرار الصعود والنزول وبمقدار ثابت (37.5 ملغم/كغم) في الخلب أي ما يعادل (25% من قيمة الجرعة الأولية) ولثلاثة فئران بعد حدوث أول تغيير (حدوث موت أو عدم الموت) حددت الجم50 للترامادول بإعتماد جدول (Diixon, 1980) وبأستخدام المعادلة الآتية:

$$LD_{50} = xf + kd$$

إذ تمثل

LD_{50} : الجرعة المميّنة الوسطية

xf : آخر جرعة أستخدمت في التجربة

K : القيمة الجدولية

d : مقدار الزيادة والنقصان (الثابت) في الجرعة المحقونة

فضلاً عن تسجيل علامات التسمم الحاد المرافقة لحقن الجرعة السامة للترامادول في الفئران.

ب- الجم50 الحادة للكلورفينيرامين في الفئران

أستخدم في هذه التجربة طريقة الصعود والنزول لتحديد الجم50 الحادة للكلورفينيرامين إذ أستخدم خمسة فئران بالغة اختيرت عشوائياً بعمر شهرين تراوحت أوزانها بين (27-32) غرام حقن الفار الأول بجرعة أولية من عقار الكلورفينيرامين وهي 100 ملغم/كغم، من وزن الجسم. في الخلب اعتماداً على تجارب أولية. وكان مقدار الصعود والنزول في مقدار الجرعة الأولية 25 ملغم/كغم من وزن الجسم وبتكرار الصعود والنزول وبمقدار ثابت ولثلاثة فئران بعد حدوث أول تغيير (حدوث موت أو عدمه) ومتابعة الحيوان خلال 24 ساعة بعد الحقن

تم حساب الجرعة الحادة للكلورفينيرامين وكما ذكر بالتجربة السابقة كما تم تسجيل علامات التسمم الحاد بجرع الكلورفينيرامين السامة.

8-4-3 التجربة الثامنة: تحديد درجة الأمان Drug safety للترامادول أو الكلورفينيرامين المحقون في الخلب للفئران.

أ- تحديد درجة الأمان للترامادول المحقون في الخلب للفئران

تم تحديد درجة الأمان للترامادول المحقون في الخلب بالإعتماد على نتائج التجربة الأولى (الجف50) فضلاً عن نتائج التجربة السابعة (الجم50) للترامادول. وباستخدام معادلة المعيار العلاجي Therapeutic index (Korotchkina et al., 2020).

$$T.I. = LD_{50} / ED_{50}$$

إذ تمثل :

T.I. : المعيار العلاجي

LD₅₀ : الجرعة المميتة الوسطية

ED₅₀ : الجرعة الفاعلة الوسطية

ب - تحديد درجة الأمان للكلورفينيرامين المحقون في الخلب للفئران

حددت درجة الأمان لعقار الكلورفينيرامين بالإعتماد على التجربة الأولى (الجف50) والتجربة السابعة (الجم50) للكلورفينيرامين. وباستخدام معادلة وقياس درجة الأمان كما ذكر سابقاً.

9-4-3 التجربة التاسعة: تأثير إعطاء الترامادول أو الكلورفينيرامين أو العقارين معاً في السلوك العصبي والنشاط الحركي للفئران

وزع عشوائياً 20 فأراً بعمر شهرين تراوحت أوزانها بين (25-32) غم الى أربع مجاميع منفصلة تضمنت كل مجموعة خمسة فئران تمت معاملتها كما يأتي :

1-المجموعة الأولى (السيطرة): حققت فئران مجموعة السيطرة بالمحلول الملحي الفسلجي في الخلب بحجم حقن 5 مل/كغم، من وزن الجسم.

2-المجموعة الثانية: حققت بعقار الترامادول بجرعة 3 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب.

3-المجموعة الثالثة: تم حقن حيوانات هذه المجموعة بعقار الكلورفينيرامين بجرعة 4 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب.

4-المجموعة الرابعة: حققت هذه المجموعة بعقاري الترامادول والكلورفينيرامين معاً وفي الوقت نفسه بجرعة (3 , 4) ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب على التوالي.

تم إختيار جرع العقارين 3 و 4 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب بالإعتماد على التجارب الأولية وعلى الجف50 لكل منهما إذ لم تظهر هذه الجرع أي تأثيرات جانبية واضحة للعيان كالتسدير والخمول وكانت الفئران تبدو طبيعية.

تم تسجيل قياسات السلوك العصبي والنشاط الحركي لكل فأر في المجاميع كافة داخل غرفة معزولة وهادئة بإستخدام صندوق الميدان المفتوح والمصنوع من الخشب ذي ابعاد (25×35×35) سم وبارضية بيضاء مقسمة إلى 25 مربعاً متساوي الأضلاع طول كل ضلع 7 سم الشكل (2-3) وكانت مدة الإختبار التي أخضع لها كل فأر 5 دقائق وتم مسح الارضية وتنظيفها بقطنة قبل البدء بإختبار كل حيوان

(Molinengo et al., 1989; Mohammad, 1999). أخذت قياسات السلوكية

العصبية والنشاط الحركي وهي عدد المربعات المقطوعة بالأرجل

الاربعة للحيوان Squares crossed وعدد مرات الوقوف على الأرجل الخلفية

Rearing وعدد مرات التغوط والتبول فضلاً عن تسجيل السلوك العصبي للفئران

والذي يدعى بالنمط المظهري Stereotyped behavior إذ شمل عدد مرات تنظيف

الحيوان لنفسه Grooming وعدد مرات الشم Sniffing وتحريك الرأس للأعلى

والأسفل Head bobbing واللحق والعض Licking and Biting وأخذ وضعية

القنفذ Crouching وتمت جميع هذه القياسات في الميدان المفتوح وسجلت

هذه السلوكيات العصبية بشكل مراتب لكل فأر وكما يأتي:

0 = المرتبة 0

1 إلى 2 = مرتبة 1

3 إلى 4 = مرتبة 2

5 فاكتر = مرتبة 3

(Rebec and Bashore, 1984; Molloy *et al.*, 1986).

بعد الإنتهاء من قياس السلوك العصبي والنشاط الحركي داخل الميدان المفتوح أخضع كل فأر في المجاميع كافة إلى إختبار الإنتحاء الارضي السالب Negative geotaxis والذي يقيس التوازن العضلي العصبي والخارطة المكانية Spatial map and neuromotor coordination وذلك بحساب الوقت اللازم لدوران الفأر 180 درجة ورجوعه للوضع الطبيعي بعد وضعه على سطح مائل بزاوية 45 وبشكل مقلوب الرأس للأسفل (Mohammed and Omer, 1986) ثم أخضع كل فأر في هذه المجاميع إلى إختبار قياس فترة استجابة السكون الظهرى Dorsal immobility response والذي يقيس الذاكرة البعيدة للحيوان. وذلك برفع الحيوان بشكل هادئ من منطقة الجلد الواقعة خلف الرقبة بين الأذنين ليكون الفأر معلقاً من دون أن يلمس أي جسم وبشكل عمودي على الأرض ويحسب وقت بقاء الحيوان ساكناً حتى يبدأ بالمقاومة ومحاولة الإفلات (بالتواني) في فترة زمنية محددة 300 ثانية (Lalonde and Strazielle, 2022).



الشكل (2-3) صندوق الميدان المفتوح

10-3 التجربة العاشرة: التحدي الدوائي Pharmacological challenge باستخدام الكيتامين والزايلازين في الحيوانات المعاملة بالجرع الواطنة من الترامادول أو الكلورفينيرامين أو العقارين معاً

بعد الإنتهاء من كافة اختبارات السلوك العصبي والنشاط الحركي أخضعت الفئران في المجاميع كافة إلى اختبار التحدي الدوائي إذ حقنت بعقار الزايلازين 5 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب والكيتامين 50 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب (Massey and Richerson, 2017) وسجل وقت بدء النوم onset of hypnosis بمراقبة كل فأر في كل مجموعة بشكل منفرد بعد حقنه بالعقارين (كيتامين و زايلازين) مباشرة و تسجيل وقت فقدان منعكس تصحيح وضع الجسم Loss of righting reflex (بدء النوم) فضلاً عن تسجيل مدة النوم Duration of hypnosis والافاقة Recovary الوقت اللازم لرجوع الحيوان إلى الوضع الطبيعي (أكل , شرب الماء , حركة طبيعية).

11-4-3 التجربة الحادية عشرة: تقييم التأثير المضاد للكآبة Antidepressant effect للترامادول والكلورفينيرامين كل لوحده أو معاً

تضمنت هذه التجربة الكشف عن التأثير المضاد للكآبة لكل من الترامادول والكلورفينيرامين عند حقنهما بشكل منفرد أو معاً في الفئران.

تم استخدام 40 فأر بالغ باوزان (26-32) غم، وقسمت على ثماني مجاميع منفصلة وبشكل عشوائي احتوت كل مجموعة على خمسة فئران. تم معاملة المجاميع كما يأتي:

1. حيوانات مجموعة السيطرة السالبة Negative control حقنت الحيوانات في الخلب بالمحلول الملحي الفسلجي بحجم حقن 5 مل / كغم، من وزن الجسم.
2. حيوانات مجموعة السيطرة الموجبة Positive control or Standard group جرعت الحيوانات عن طريق الفم باستخدام محقنة التجريع Gavage needle بعقار الفلوكسيتين Fluoxetine بجرعة 20 ملغم/كغم، من وزن الجسم وعدت مجموعة السيطرة الموجبة على اعتبار الفلوكسيتين هو العقار النموذجي المضاد للكآبة Standard antidepressant agent إذ جرعت حيوانات هذه المجموعة بالفلوكسيتين

- بشكل ثلاث جرع منفصلة كل جرعة بمقدار 20 ملغم/كغم، من وزن الجسم قبل 24 و 5 ساعة من إخضاع الحيوانات لإختبارات فحص التأثير المضاد للكآبة (Sanmukhani *et al.*, 2011) ومن ثم تعد هذه التجربة للكشف عن التأثير الحاد المضاد للكآبة للترامادول والكلورفينيرامين والفلوكسيتين.
3. المجموعة الثالثة حقنت بالترامادول لوحده في الخلب بالجف 50 والمحسوبة في التجارب السابقة 12 ملغم/كغم، من وزن الجسم.
 4. المجموعة الرابعة حقنت بالكلورفينيرامين لوحده في الخلب بالجف 50 والمحسوبة في التجارب السابقة 18.4 ملغم/كغم، من وزن الجسم.
 5. عوملت حيوانات هذه المجموعة بالعقارين معاً إذ تم حقن الترامادول والكلورفينيرامين في الخلب معاً بجرعة 12 و 18.4 ملغم/كغم، من وزن الجسم على التوالي.
 6. حقنت حيوانات هذه المجموعة بالترامادول بالجرعة المضاعفة للجرعة المسكنة الفاعلة الوسطية 24 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب.
 7. حقنت حيوانات هذه المجموعة بالكلورفينيرامين بالجرعة المضاعفة للجرعة المسكنة الفاعلة الوسطية 36.8 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب.
 8. حقنت الحيوانات في هذه المجموعة بعقار الترامادول والكلورفينيرامين معاً وبجرعة 24 و 36.8 ملغم/كغم، من وزن الجسم، في الخلب على التوالي.
- وبعد مرور ساعة واحدة على إعطاء الجرع في المجاميع كافة، تم فحص التأثير المضاد للكآبة بإخضاع الحيوانات كافة وبشكل منفرد للإختبارات الخاصة بالكشف عن التأثير المضاد للكآبة والتي تشمل إختبار الذيل المعلق وإختبار السباحة الاجباري وكما يلي

إختبار الذيل المعلق (TST) Tail suspension test

تم في هذا الإختبار تعليق الفأر بشكل منفرد فوق الأرض بواسطة ذيلها بحيث يصبح الرأس للأسفل ويستخدم صندوق ذو أبعاد (55 × 15 × 11.5) سم ويتم تثبيت قضيب تعليق بأبعاد (1×1 × 60) سم لتعليق ذيل الفأر وبشكل منفرد في الجزء العلوي من الصندوق الشكل (3-3) يعلق الفأر في وسطها من الذيل باستخدام شريط لاصق مع ترك ما مقداره 2 سم من نهاية الذيل بشكل حر بحيث تصبح حركة الحيوان داخل الصندوق حرة ولا يستطيع ان يلمس جدران الصندوق في أثناء حركته. وتكون المسافة بين رأس الحيوان وأرضية الصندوق (20-25) سم. وعادة يستخدم شريط لاصق بطول 17 سم يستخدم 2 سم لتثبيت الذيل أعلى

الصندوق ويترك 15 سم منه لتعليق الفأر داخل الصندوق. ويتم تنظيف الصندوق باستخدام قطنة مبللة بمادة معقمة بعد الإنتهاء من فحص كل فأر. ويتم الإختبار داخل غرفة معزولة وبعيدة عن أي مؤثر خارجي مع بقاء الفاحص بعيداً عن الحيوان في أثناء المراقبة لتفادي أي تأثير على سلوكه (Can et al., 2012a).

يتم تسجيل نتائج هذا الاختبار بعد تعليق الفأر مباشرة في 6 دقائق متواصلة وتسجيل مدة بقاء الحيوان ساكن *Immobility time* في أربع دقائق الأخيرة فقط مع إهمال أول دقيقتين من المراقبة لأن معظم الفئران تكون نشطة للغاية في أول دقيقتين ومن ثم يمكن أن تخفي التأثير العلاجي المحتمل للعقار ومن ثم نقوم باهمالها وأعتدأ آخر أربعة دقائق (Can et al., 2012a).

اختبار السباحة الإجباري (القسري) Forced swim test (FST)

يتم وضع الفأر بشكل منفرد داخل اسطوانة أو خزان ماء شفاف ذي قطر 15 سم وأرتفاع 30 سم يملأ الماء على ارتفاع 15 سم من أسفل الخزان ويجب أن تكون أبعاد الخزان كافية لمنع الفأر من لمس أسفل الخزان بذيله أو أقدامه في أثناء السباحة الشكل (3-4). فضلاً عن وجوب أن يكون مستوى ارتفاع الماء في الخزان كافياً لمنع الفأر من محاولة الهروب خارجه. وتكون درجة حرارة الماء داخل الخزان (23-25) م°. والتأكد من ثبات هذه الدرجة قبل إدخال الفأر إلى الخزان ويتم أستبدال الماء الموجود بالخزان بعد الإنتهاء من التجربة لكل فأر وغسله جيداً قبل البدء بفحص الحيوان الثاني.

يتم الاختبار بمسك الفأر من الذيل وأدخاله في الماء بشكل بطيء وبرفق لمنع دخول رأس الحيوان داخل الماء. وبمجرد دخول الحيوان إلى الماء داخل الحوض يتم حساب الوقت الذي يستغرقه للبقاء ساكن (عدم السباحة بتحريك الارجل بسرعة وعدم الدوران) في 6 دقائق من بدء التجربة يتم إعتدأ نتائج المراقبة ل4 دقائق الأخيرة فقط مع إهمال أول دقيقتين من المراقبة ولنفس السبب المذكور سابقاً (Can et al., 2012b).

بعد الإنتهاء من الإختبار يتم إخراج الحيوان وتجفيفه جيداً باستخدام المناديل الورقية قبل إعادته الى القفص لتفادي تعرضه للإنخفاض في درجة الحرارة.

ويجب أن يتم الإختبار في غرفة معزولة وهادئة ويكون الفاحص بعيداً عن الحيوان في أثناء المراقبة لمنع أي تأثير على سلوكه (Can et al., 2012b).



الشكل (3-3) صندوق اختبار الذيل المعلق (TST)



سباحة اختبار السباحة

الشكل (4-3) حوض
الاجباري (FST)

5-3 التحليل الإحصائي:

تم تحليل البيانات المعلمية Parametric data ذات العامل الواحد إحصائياً باستخدام إختبار تحليل البيانات One Way Analysis of Variance في حين تم تحليل البيانات التي تشمل أكثر من عامل Two factors مثل تأثير الوقت والجرعة معاً إحصائياً باستخدام تحليل البيانات Two Way Analysis of Variance ثم أخضعت النتائج كافة لاختبار الفرق

المعنوي الأدنى (Least Significant Difference test (LSD). في حين حلت البيانات غير المعلمية Non-parametric data والتي تكون بشكل مراتب Scores كما في اختبار التلوي واختبار السلوك العصبي باستخدام اختبار مان وتني (Mann-Whitney and Petrie) (Watson, 2006; Cleophas et al., 2009; Bluman, 2014). وكان مستوى الاختلاف المعنوي للتجارب كافة عند مستوى إحتمال أقل من او يساوي $P \leq 0.05$

الفصل الرابع

النتائج

Results

1-4 التجربة الأولى : تحديد الجرعة الفاعلة الوسطية (الجف50) Mediane effective dose (ED₅₀) المسكنة للألم الحاد لكل من الكلورفينيرامين والترامادول لوحدهما أو معاً باستخدام طريقة الصعود والنزول (Dixon, 1980) في الفرن

أ- تحديد (الجف50) المسكنة للألم الحاد للكلورفينيرامين لوحده

تم تحديد جرعة الكلورفينيرامين التي أحدثت التسكين من الألم الحاد في 50% من الحيوانات بعد 15 دقيقة من حقن العقار في الخلب، وكانت بمقدار 18.48 ملغم/كغم، من وزن الجسم الجدول (1-4). وترافق حقن الجرع المختلفة من الكلورفينيرامين ظهور علامات التسدير وقلة الحركة والهدوء على الحيوانات المعاملة.

الجدول (1-4) تحديد الجف50 المسكنة للألم للكلورفينيرامين عن طريق الحقن في الخلب في

الفرن

القياسات	النتيجة
الجف50 المسكنة للألم للكلورفينيرامين	18.48 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب
مدى الجرعة	25 - 15 = 10 ملغم/كغم
الجرعة الأولية	20 ملغم/كغم
الجرعة النهائية	20 ملغم/كغم
مقدار الصعود والنزول في الجرعة	5 ملغم/كغم
عدد الفئران المستخدمة	5 (OXXOX)
العلامات	الهدوء وقلة الحركة والتسدير

تم حقن الكلورفينيرامين قبل 15 دقيقة من تقييم التسكين من الألم باستخدام جهاز الصفيحة الساخنة Hot plate

X : حدوث تسكين الألم

O : عدم حدوث تسكين الألم

ب- تحديد الجف50 المسكنة للألم الحاد للترامادول لوحده

حددت جرعة الترامادول المسكنة للألم الحاد في 50% من الحيوانات بعد 15 دقيقة من الحقن في الخلب, كانت بمقدار 12.08 ملغم/كغم الجدول (2-4) وترافق ذلك بظهور بعض التأثيرات الجانبية لبعض جرعات الترامادول تمثلت بالتسدير والهدوء وقلة الحركة.

الجدول (2-4) تحديد الجف50 المسكنة للألم للترامادول عن طريق الحقن في الخلب في الفرن

القياسات	النتيجة
الجف50 المسكنة للألم للترامادول	12.08 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب I.P
مدى الجرعة	10=10 -15 ملغم/كغم
الجرعة الأولية	10 ملغم/كغم
الجرعة النهائية	12.5 ملغم/كغم
مقدار الصعود والنزول في الجرعة	2.5 ملغم/كغم
عدد الفرن المستخدمة	6 (OOXXOX)
العلامات	الهدوء وقلة الحركة والتسدير

تم حقن الترامادول قبل 15 دقيقة من تقييم التسكين من الألم باستخدام جهاز الصفحة الساخنة Hot plate

X : حدوث تسكين الألم

O : عدم حدوث تسكين الألم

ج - تحديد الجف50 المسكنة للألم الحاد للترامادول عند إعطائه مع الكلورفينيرامين بجرعة ثابتة

حددت الجف50 المسكنة للألم الحاد للترامادول عند إعطائه مع جرعة ثابتة من الكلورفينيرامين وكانت 3.15 ملغم/كغم, من وزن الجسم في الخلب. إذ ظهر مدى تأثير الجرعة الثابتة من الكلورفينيرامين على جرعة الترامادول تمثل بالإنخفاض في مقدار الجف50 المسكنة للترامادول وبنسبة 74% الجدول (3-4). وظهرت على الحيوانات المعاملة ببعض الجرعات المحقونة العلامات نفسها في التجربتين السابقتين.

الجدول (3-4) تحديد الجف50 المسكنة للألم للترامادول عن طريق الحقن في الخلب في الفرن عند إعطائه مع الكلورفينيرامين بجرعة ثابتة

القياسات	النتيجة
الجف 50 للترامادول مع الكلورفينيرامين	3.15 ملغم/كغم من وزن الجسم, في الخلب
مدى الجرعة	10 - 2.5 = 7.5 ملغم/كغم
الجرعة الأولية	10 ملغم/كغم
الجرعة النهائية	5 ملغم/كغم
مقدار الصعود والنزول في الجرعة	2.5 ملغم/كغم
عدد الفئران المستخدمة	7 (XXXOXX)
*تأثير إعطاء الكلورفينيرامين (الجف 50) على الجف 50 للترامادول	↓ 74%
العلامات	الهدوء وقلة الحركة والتسدير

حقن الترامادول و الكلورفينيرامين قبل 15 دقيقة من تقييم التسكين من الالم بجهاز الصفيحة الساخنة

X : حدوث التسكين من الألم

O : عدم حدوث تسكين الألم

*تأثير إعطاء الكلورفينيرامين على (الجف 50) للترامادول = (الجف 50) للترامادول لوحده - (الجف 50) للترامادول مع الكلورفينيرامين / (الجف 50) للترامادول لوحده × 100 (Mbiantcha et al. ,2018)

2-4 التجربة الثانية: تحليل نوع التداخل الدوائي بين الترامادول و الكلورفينيرامين على مستوى التسكين من الألم الحاد في الفئران باستخدام تحليل الايزوبولوجرافك Isobolographic analysis

أ- تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الترامادول و الكلورفينيرامين عند إعطائهما معاً بنسبة 1:1 من الجف 50 لكل منهما

حددت الجف 50 للترامادول و الكلورفينيرامين عند حقنهما معاً للحيوان نفسه باستخدام طريقة الصعود والنزول وبنسبة 1:1 من الجف 50 لكل عقار وكانت 8.56 و 5.58 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب على التوالي. وكانت نسبة الإنخفاض في مقدار الجف 50 للترامادول و الكلورفينيرامين المسكنة للألم الحاد 54 و 54 % على التوالي عند حقنهما معاً عند هذه النسبة بالمقارنة مع إعطاء كل عقار لوحده الجدول (4-4). وبعتماد تحليل الايزوبولوجرافك Isobolographic analysis وبتمثيل هاتين الجرعتين على الخط البياني الواصل بين الجف 50 لكل عقار أشر وقوع نقطة التقائهما إلى الأسفل من الخط القطري الواصل بين الجف 50 للترامادول وتلك للكلورفينيرامين ومن ثم يكون التداخل بين العقارين عند هذه النسبة 1:1 تداخلاً تازرياً (تقوية) الشكل (4-1). وتؤكد ذلك من حساب قيمة Y باستخدام معادلة مؤشر التداخل والتي كانت بمقدار 0.92 (أقل من واحد) مؤشراً ومؤكداً على التداخل التازري بين العقارين على مستوى التسكين من الألم الحاد عند هذه النسبة.

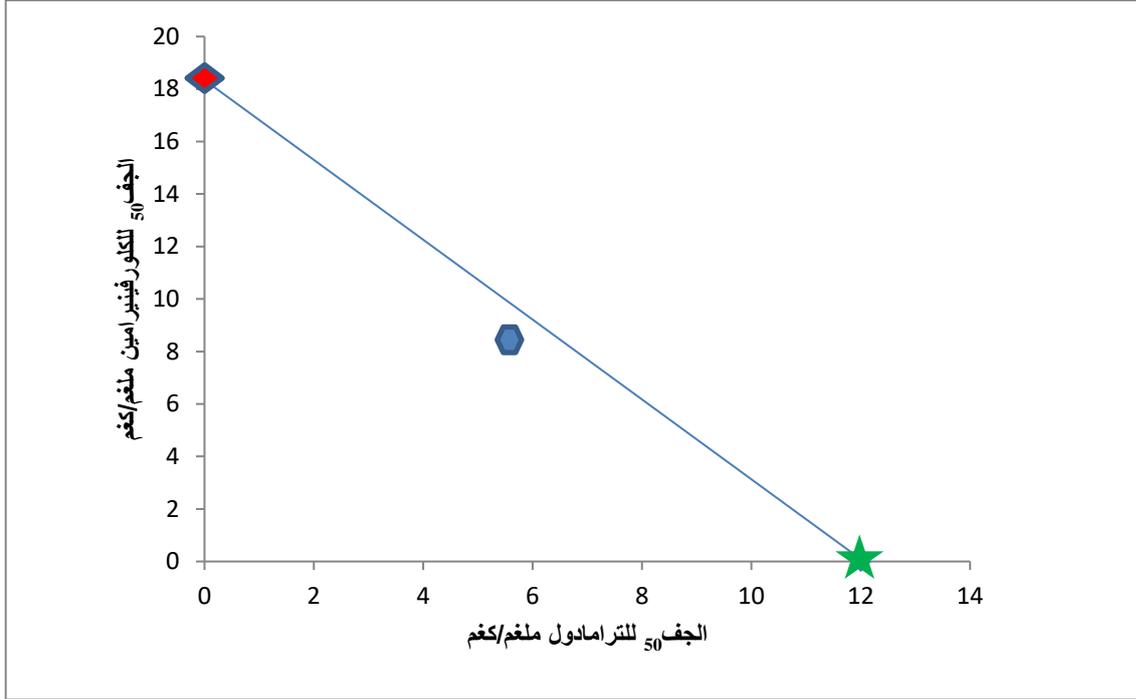
الجدول (4-4) تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الكلورفينيرامين والترامادول عند إعطائهما معاً بنسبة 1:1

القياسات	النتيجة
الجف 50 للترامادول (التداخل)	5.58 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب
مدى الجرعة	12-3=9 ملغم/كغم
الجرعة الأولية	12 ملغم/كغم
الجرعة النهائية	3 ملغم/كغم
مقدار الصعود والنزول في الجرعة	3 ملغم/كغم
عدد الفئران المستخدمة	6 (XXOXXO)
النسبة المئوية للإنخفاض في الجف 50 للترامادول	↓ 54%
الجف 50 للكلورفينيرامين (تداخل)	8.56 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب
مدى الجرعة	18.4-4.6 = 13.8 ملغم/كغم
الجرعة الأولية	18.4 ملغم/كغم
الجرعة النهائية	4.6 ملغم/كغم
مقدار الصعود والنزول في الجرعة	4.6 ملغم/كغم
عدد الفئران المستخدمة	6 (XXOXXO)
النسبة المئوية للإنخفاض في الجف 50 للكلورفينيرامين	↓ 54%
العلامات	التسدير , الهدوء , قلة الحركة , السكون
قيمة Y (مؤشر التداخل)	0.92

حقن الترامادول في الخلب مباشرة بعد حقن الكلورفينيرامين في الخلب

X : حدوث التسكين من الألم

O : عدم حدوث التسكين من الألم



الشكل (1-4) تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الكلورفينيرامين والترامادول عند إعطائهما معاً بنسبة 1:1

★ الجف 50 للترامادول 12 ملغم/كغم في الخلب

◆ الجف 50 للكلورفينيرامين 18.4 ملغم/كغم، في الخلب

● الجف 50 للترامادول 5.58 ملغم/كغم، من وزن الجسم، في الخلب و الجف 50 للكلورفينيرامين 8.56 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب عند إعطائهما معاً بنسبة 1:1 من الجف 50 لكل عقار

ب - تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الترامادول و الكلورفينيرامين عند إعطائهما معاً بنسبة 0.5:0.5 من الجف 50 لكل منهما

باستخدام طريقة الصعود والنزول بالجرعة وحقن العقارين معاً في الخلب بنسبة 0.5:0.5 من الجف 50 لكل منهما تم حساب الجف 50 للترامادول والكلورفينيرامين وكانت 4.95 و 7.59 ملغم/كغم على التوالي أي أن نسبة الإنخفاض في الجف 50 عند حقن العقارين معاً بهذه النسبة هي 59 و 59 % على التوالي بالمقارنة مع إعطاء كل عقار لوحده الجدول (4-5) .

وباعتماد تحليل الايزوبولوجرافك Isobolographic analysis تم تمثيل نقطة التداخل الدوائي بين العقارين عند هذه النسبة ولوحظ وقوعها أسفل الخط الواصل بين الجف 50 لكلا العقارين والمرسومة على الورق البياني أي أن التداخل الدوائي بينهما عند هذه النسبة تداخلاً تازرياً synergistic interaction الشكل (4-2). وتم تأكيد هذه النتيجة عن طريق حساب مؤشر التداخل Y إذ كانت بمقدار 0.82 أي أقل من 1.

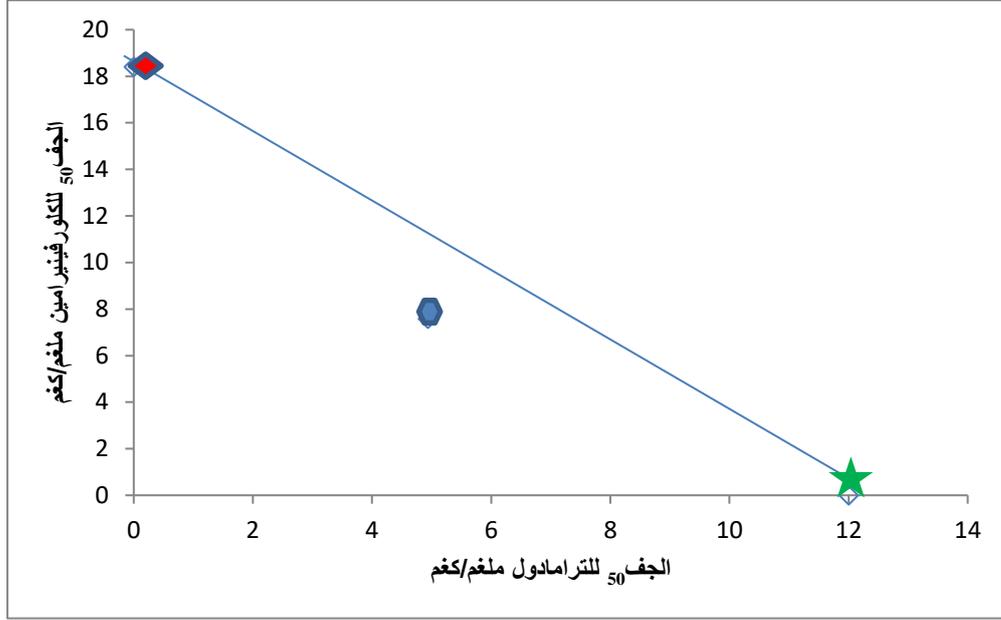
الجدول (4-5) تحليل نوعية التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الكلورفينيرامين والترامادول عند إعطائهما معاً بنسبة 0.5:0.5

القياسات	النتيجة
الجف 50 للترامادول (التداخل)	4.95 ملغم/كغم، من وزن الجسم، في الخلب
مدى الجرعة	6 - 4.5 = 1.5 ملغم/كغم
الجرعة الأولية	6 ملغم/كغم
الجرعة النهائية	6 ملغم/كغم
مقدار الصعود والنزول في الجرعة	1.5 ملغم/كغم
عدد الفئران المستخدمة	5 (XOXOX)
النسبة المئوية للإنخفاض في الجف 50 للترامادول	↓ 59%
الجف 50 للكلورفينيرامين (تداخل)	7.59 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب
مدى الجرعة	9.2 - 6.9 = 2.3 ملغم/كغم
الجرعة الأولية	9.2 ملغم/كغم
الجرعة النهائية	9.2 ملغم/كغم
مقدار الصعود والنزول في الجرعة	2.3 ملغم/كغم
عدد الفئران المستخدمة	5 (XOXOX)
النسبة المئوية للإنخفاض في الجف 50 للكلورفينيرامين	↓ 59%
العلامات	التسدير , الهدوء , قلة الحركة , السكون
قيمة Y (مؤشر التداخل)	0.82

حقن الترامادول في الخلب مباشرة بعد حقن الكلورفينيرامين في الخلب

X : حدوث التسكين من الألم

O : عدم حدوث التسكين من الألم



الشكل (2-4) تحليل نوع التداخل الدوائي على مستوى التسكين من الألم الحاد بين الكلورفينيرامين والترامادول عند إعطائهما معاً بنسبة 0.5:0.5

★ الجف₅₀ للترامادول 12 ملغم/كغم في الخلب

◆ الجف₅₀ للكلورفينيرامين 18.4 ملغم/كغم في الخلب

● الجف₅₀ للترامادول 4.94 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب و الجف₅₀ للكلورفينيرامين 7.58 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب عند إعطائهما معاً بنسبة 0.5:0.5 من الجف₅₀ لكل عقار

3-4 التجربة الثالثة: تحديد وقت بدء التسكين من الألم الحاد ومدته Onset and duration of analgesia لجرع مختلفة من الترامادول في الفئران (تحديد افضل جرعة مسكنة للألم الحاد وأفضل وقت لإحداث التسكين من الألم) (Dose response and time relationship)

أحدث حقن عقار الترامادول بجرعة 12 و 24 ملغم/كغم، من وزن الجسم، في الخلب تغييراً معنوياً تمثل بالإطالة المعنوية في المدة اللازمة للإستجابة للألم الحراري (رفع اليد مع اللعق و/أو القفز) مقارنة مع مجموعة السيطرة ومع المجموعة نفسها عند الوقت صفر Baseline الجدول (6-4) الشكل (3-4). في حين فشلت جرعة الترامادول 6 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب في إحداث أي تسكين معنوي للألم على طول مدة التجربة مقارنة مع الوقت صفر للمجموعة نفسها ومع باقي جرع الترامادول 12 و 24 ملغم/كغم على التوالي الجدول (6-4) الشكل (3-4). وتفوقت جرعة 24 ملغم/كغم، من وزن الجسم،

في الخلب على جرعة 12 ملغم/كغم إذ أدت الى استمرار التسكين المعنوي للألم الحاد ولغاية 4 ساعات من الحقن مقارنة مع الوقت صفر للمجموعة نفسها إذ كانت مدة الإستجابة للألم لهذه الجرعة عند الأوقات (10 , 20 , 30 , 40 , 50 , 60 , 120) دقيقة و (4) ساعة من الحقن هي (6.33 ± 0.53 , 8.65 ± 0.51 , 13.22 ± 1.69 , 11.15 ± 1.63 , 7.50 ± 0.85 , 6.79 ± 0.87 , 5.67 ± 0.54 , 5.95 ± 0.70) ثانية على التوالي في حين كانت مدة الاستجابة للألم الحاد عند جرعة 12 ملغم/كغم عند الاوقات (20 , 30 , 40 , 50) دقيقة هي (6.16 ± 0.66 , 6.42 ± 0.76 , 6.50 ± 0.54 , 4.98 ± 0.68) ثانية على التوالي الجدول (4-6). وبدأ التسكين المعنوي للألم الحاد لجرعة الترامادول 12 ملغم/كغم عند الوقت 20 دقيقة من الحقن في حين بدأ التسكين المعنوي للألم الحاد لجرعة 24 ملغم/كغم عند الوقت 10 دقيقة من الحقن مقارنة مع الوقت صفر قبل الحقن ومع مجموعة السيطرة للمجموعة نفسها الجدول (4-6) الشكل (4-3). وسجل أعلى تأثير مسكن للألم الحاد Time to peak لجرعة الترامادول 12 ملغم/كغم عند الوقت 40 دقيقة بعد الحقن , في حين سجلت جرعة 24 ملغم/كغم أعلى تأثير مسكن عند الوقت 30 دقيقة من الحقن مقارنة مع الوقت صفر لكل مجموعة ومع مجموعة السيطرة عند الأوقات نفسها الجدول (4-6) الشكل (4-3). ومن ثم فان جرعة 24 ملغم/كغم هي أفضل جرعة مسكنة للألم الحاد إذ سجلت أعلى نسبة مئوية لتسكين الألم الحاد عند الوقت 30 دقيقة من الحقن 58% الشكل (4-4).

جدول (4-6) تحديد افضل جرعة مسكنة للألم و وقت بدء تسكين الألم للترامادول المحقون في الخلب في الفرن

وقت بدء الإحساس بالألم (بالثواني)										الوقت
بعد 24 ساعة من الحقن	بعد 4 ساعة من الحقن	بعد 2 ساعة من الحقن	بعد 60 دقيقة من الحقن	دقيقة 50 بعد من الحقن	دقيقة 40 بعد من الحقن	دقيقة 30 بعد من الحقن	بعد 20 دقيقة من الحقن	بعد 10 دقائق من الحقن	صفر Baseline	الجرعة
3.66 ± 0.20	3.59 ± 0.19	3.41 ± 0.28	3.43 ± 0.36	3.03 ± 0.10	3.66 ± 0.35	3.79 ± 0.18	3.72 ± 0.21	3.85 ± 0.33	4.26 ± 0.29	السيطرة (محلول الملحي الفسلجي) (i.p)
3.46 ± 0.43	3.85 ± 0.29	3.34 ± 0.29	3.94 ± 0.29	4.12 ± 0.43	3.97 ± 0.35	4.23 ± 0.21	4.92 ± 0.72	4.51 ± 0.37	4.89 ± 0.51	ترامادول 6 ملغم /كغم (i.p)
3.22 ± 0.13	3.60 ± 0.22	3.97 ± 0.27	4.26 ± 0.50	4.98 ± 0.68	6.50 ± 0.54	6.42 ± 0.76	6.16 ± 0.66	4.70 ± 0.59	4.30 ± 0.48	ترامادول 12 ملغم /كغم (i.p)
3.63 ± 0.22	5.95 ± 0.70	5.67 ± 0.54	6.79 ± 0.87	7.50 ± 0.85	11.15 ± 1.63	13.22 ± 1.69	8.65 ± 0.51	6.33 ± 0.53	3.80 ± 0.26	ترامادول 24 ملغم /كغم (i.p)
	* أ ب ي	* أ ب ي	* أ ب ي	* أ ب ز	* أ ب هـ	* أ ب د	* أ ب و	* أ ب ي		

تمت القياسات باستخدام جهاز الصفيحة الساخنة بدرجة حرارة 1±56 م°

القيم تمثل الخطأ القياسي ± المعدل ل 6 فئران لكل مجموعة

* : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند الوقت نفسه

أ : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة 6 ملغم/كغم(ترامادول) عند الوقت نفسه

ب : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة 12 ملغم/كغم(ترامادول) عند الوقت نفسه

ج : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع الوقت (صفر , 60 , 120 , 240) دقيقة و (24) ساعة للجرعة نفسها

د : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع جميع الاوقات للجرعة نفسها

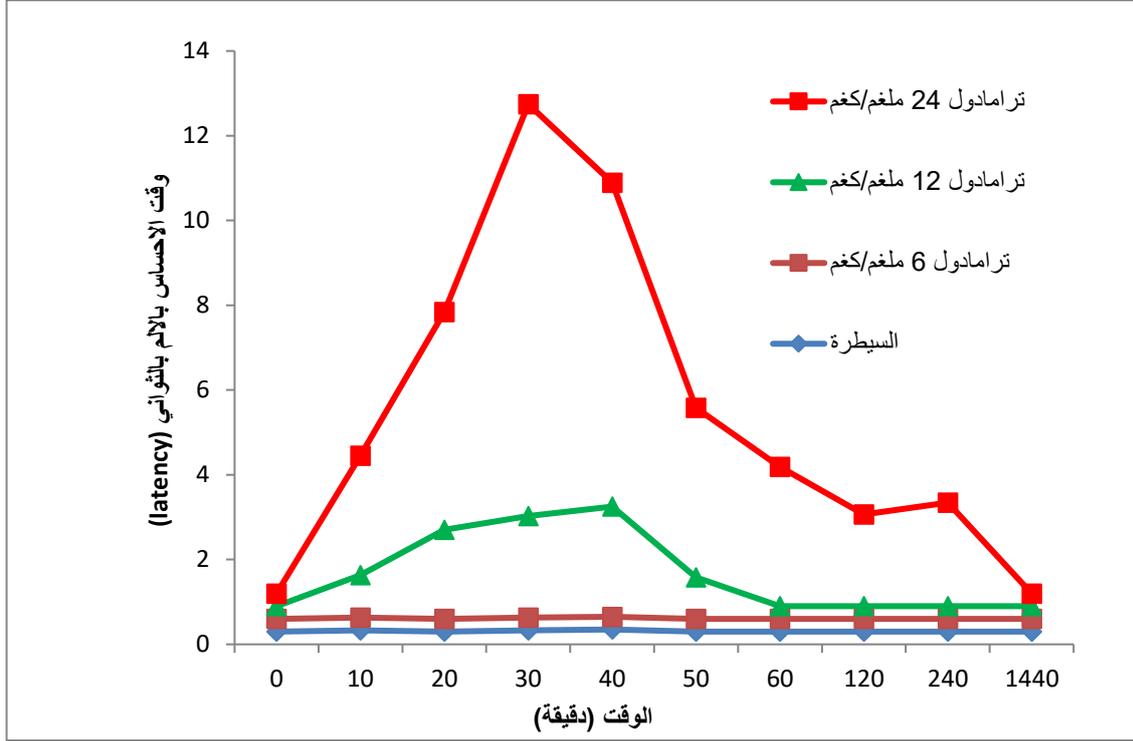
هـ : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع الوقت (صفر , 10 , 20 , 50 , 60 , 120 , 240) دقيقة و (24) ساعة للجرعة نفسها

و : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع الوقت (صفر , 10 , 60 , 120 , 240) دقيقة و (24) ساعة للجرعة نفسها

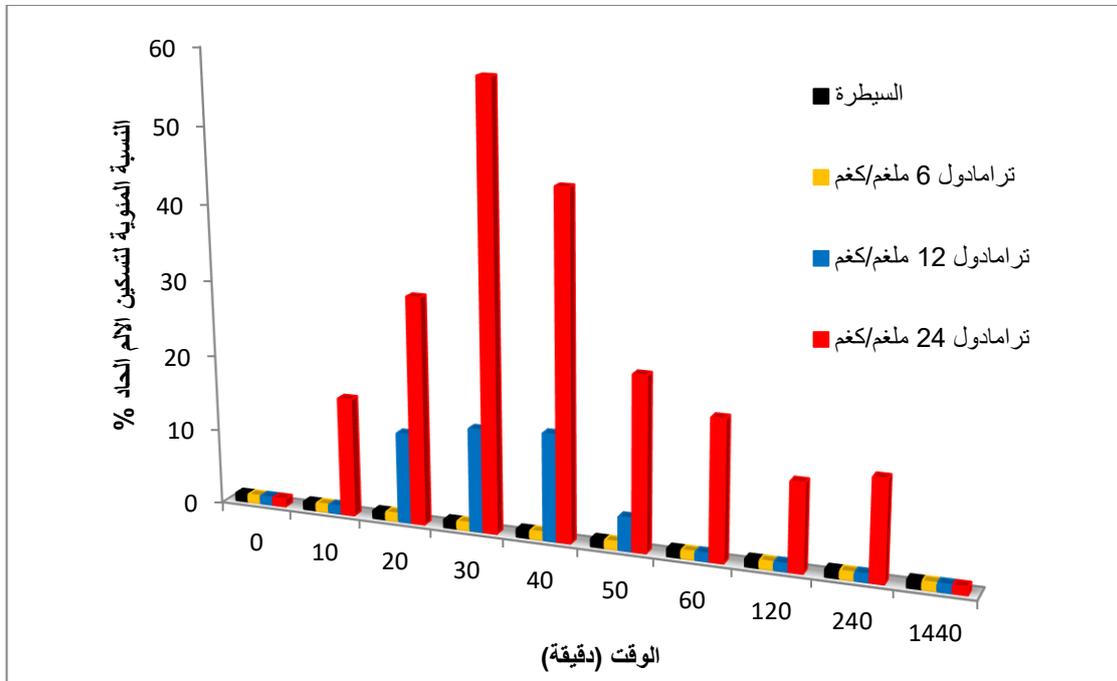
ز : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع الوقت (صفر , 120) دقيقة و (24) ساعة للجرعة نفسها

ي : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع الوقت (صفر) و (24) ساعة للجرعة نفسها

جميع القيم في الجدول تختلف معنوياً عند مستوى إحصائية أقل من أو يساوي 0.05



الشكل (3-4) منحنى التسكين من الألم الحاد للترامادول بجرع مختلفة في أوقات مختلفة



الشكل (4-4) النسبة المئوية لتسكين الألم الحاد (أعلى تأثير ممكن مسكن للألم) Maximal possible effect (MPE) للجرع المختلفة من الترامادول المحقون في الخلب في الفئران

4-4 التجربة الرابعة: تحديد وقت بدء التسكين من الألم الحاد ومدته Onset and duration of analgesia لجرع مختلفة من الكلورفينيرامين في الفئران (تحديد أفضل جرعة مسكنة للألم الحاد وأفضل وقت لإحداث التسكين من الألم) (Dose response and time relationship)

أحدث حقن الكلورفينيرامين في الفئران بجرعة 18.4 و 36.8 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب على التوالي تسكيناً معنوياً للألم الحاد عند الأوقات (20 , 30 , 40) دقيقة للجرعة 18.4 ملغم/كغم، وعند الأوقات (20 , 30 , 40 , 50) دقيقة للجرعة 36.8 ملغم/كغم، من الحقن على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة عند الأوقات نفسها ومع الوقت صفر (قبل الحقن) للمجموعة نفسها تمثل بالإطالة المعنوية للمدة اللازمة لبدء الإحساس بالألم على جهاز الصفيحة الساخنة الجدول (4-7). إذ أدى إلى إطالة معنوية في مدة الإستجابة للألم عند جرعة 18.4 ملغم/كغم من الكلورفينيرامين لتصبح (4.64 ± 0.37 , 5.03 ± 0.26 , 4.59 ± 0.4) ثانية عند الأوقات (20 , 30 , 40) دقيقة على التوالي في حين كانت مدة الإستجابة للألم بجرعة 36.8 ملغم/كغم هي (6.81 ± 0.45 , 7.26 ± 0.64 , 6.64 ± 0.52 , 5.44 ± 0.66) ثانية عند الأوقات (20 , 30 , 40 , 50) دقيقة من الحقن على التوالي مقارنة مع الوقت صفر للمجموعة نفسها.

وكان وقت بدء التسكين المعنوي للألم الحاد لجرع الكلورفينيرامين (18.4 و 36.8 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب عند الدقيقة 20 من الحقن وأستمر التسكين المعنوي للألم لجرعة الكلورفينيرامين 18.4 ملغم /كغم لغاية 40 دقيقة من الحقن في حين تفوقت جرعة 36.8 ملغم/كغم على جرعة 18.4 ملغم /كغم، إذ أستمر التسكين المعنوي من الألم الحاد لغاية 50 دقيقة بعد حقن هذه الجرعة الجدول (4-7) الشكل (4-5).

وسجل أعلى تسكين معنوي للألم الحاد Time to peak عند الوقت 30 دقيقة لجرعتي الكلورفينيرامين (18.4 و 36.8 ملغم/كغم. فضلا عن تسجيل أفضل نسبة مئوية لتسكين الألم الحاد (أفضل تأثير مسكن للألم الحاد) Maximal possible effect (MPE) لجرعة 36.8 ملغم/كغم وكانت 22 % في حين كانت لجرعة 18.4 ملغم/كغم 10% الشكل (4-6). وبذلك تفوقت جرعة 36.8 ملغم/كغم على جرعة 18.4 ملغم/كغم في إحداثها للتسكين المعنوي للألم الحاد.

في حين فشلت جرعة الكلورفينيرامين 9.2 ملغم/كغم في إحداث أي تسكين معنوي للألم الحاد عند جميع أوقات التجربة بعد حقنها بالفئران مقارنة مع الوقت صفر للمجموعة نفسها ومع المجاميع المعاملة بجرعة الكلورفينيرامين 18.4 و 36.8 ملغم/كغم, من وزن الجسم على التوالي عند الأوقات نفسها.

جدول (4-7) تحديد أفضل جرعة مسكنة للألم و وقت بدء تسكين الألم للكلورفينيرامين المحقون في الخلب في الفئران

وقت بدء الإحساس بالألم (بالثواني)										الوقت الجرعة ملغم/كغ (i.p)
بعد 24 ساعة من الحقن	بعد 4 ساعة من الحقن	بعد 2 ساعة من الحقن	بعد 60 دقيقة من الحقن	بعد 50 دقيقة من الحقن	بعد 40 دقيقة من الحقن	بعد 30 دقيقة من الحقن	بعد 20 دقيقة من الحقن	بعد 10 دقائق من الحقن	صفر Baseline	
3.83 ± 0.29	3.79 ± 0.27	3.47 ± 0.22	3.63 ± 0.30	3.74 ± 0.24	3.55 ± 0.26	3.50 ± 0.21	3.82 ± 0.30	4.2 ± 0.24	4.24 ± 0.17	السيطرة (محلول الملحي الفسلجي)
3.63 ± 0.19	3.46 ± 0.23	3.45 ± 0.20	3.47 ± 0.20	3.59 ± 0.17	3.40 ± 0.21	3.67 ± 0.18	3.56 ± 0.26	3.72 ± 0.24	3.75 ± 0.12	كلورفينيرامين 9.2 ملغم /كغم
3.41 ± 0.23	3.49 ± 0.18	3.48 ± 0.23	3.49 ± 0.16	4.33 ± 0.18	4.59 ± 0.4	5.03 ± 0.26	4.64 ± 0.37	4.3 ± 0.48	3.39 ± 0.22	كلورفينيرامين 18.4 ملغم /كغم
3.89 ± 0.26	3.97 ± 0.21	3.82 ± 0.23	4.20 ± 0.27	5.44 ± 0.66	6.64 ± 0.52	7.26 ± 0.64	6.81 ± 0.45	4.59 ± 0.52	3.62 ± 0.2	كلورفينيرامين 36.8 ملغم /كغم
				* أ ب ج	* أ ب ج هـ	* أ ب ج هـ	* أ ب ج هـ	*		

تمت القياسات باستخدام جهاز الصفيحة الساخنة بدرجة حرارة 1±56 م°

القيم تمثل الخطأ القياسي ± المعدل ل 6 فئران لكل مجموعة

* : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند الوقت نفسه

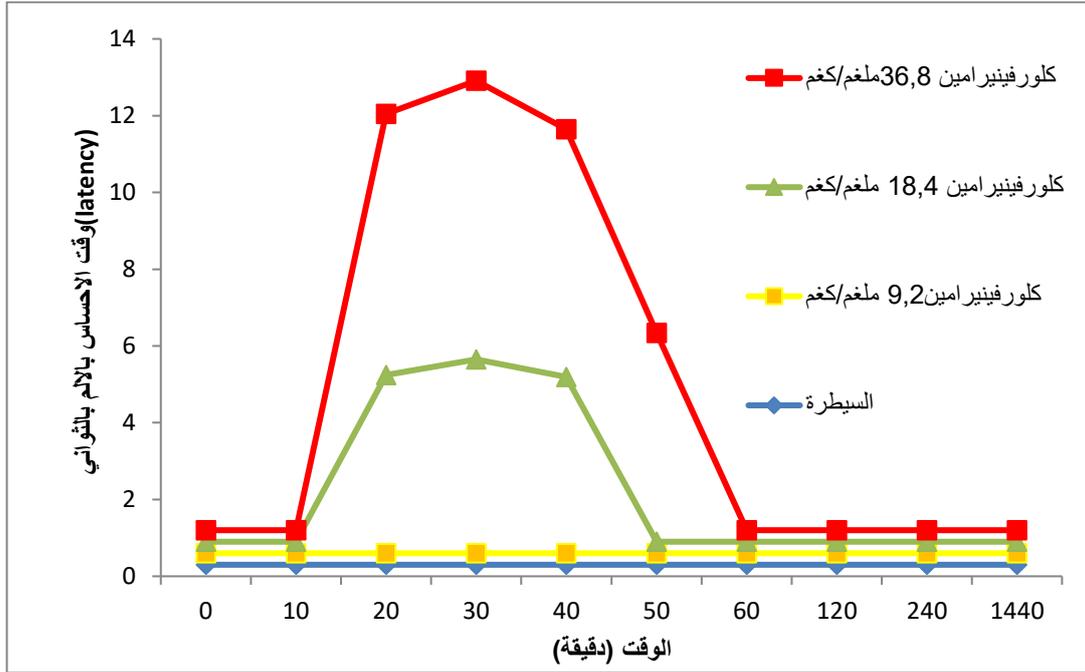
أ : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة الكلورفينيرامين 9.2 ملغم/كغم عند الوقت نفسه

ب : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة الكلورفينيرامين 18.4 ملغم/كغم عند الوقت نفسه

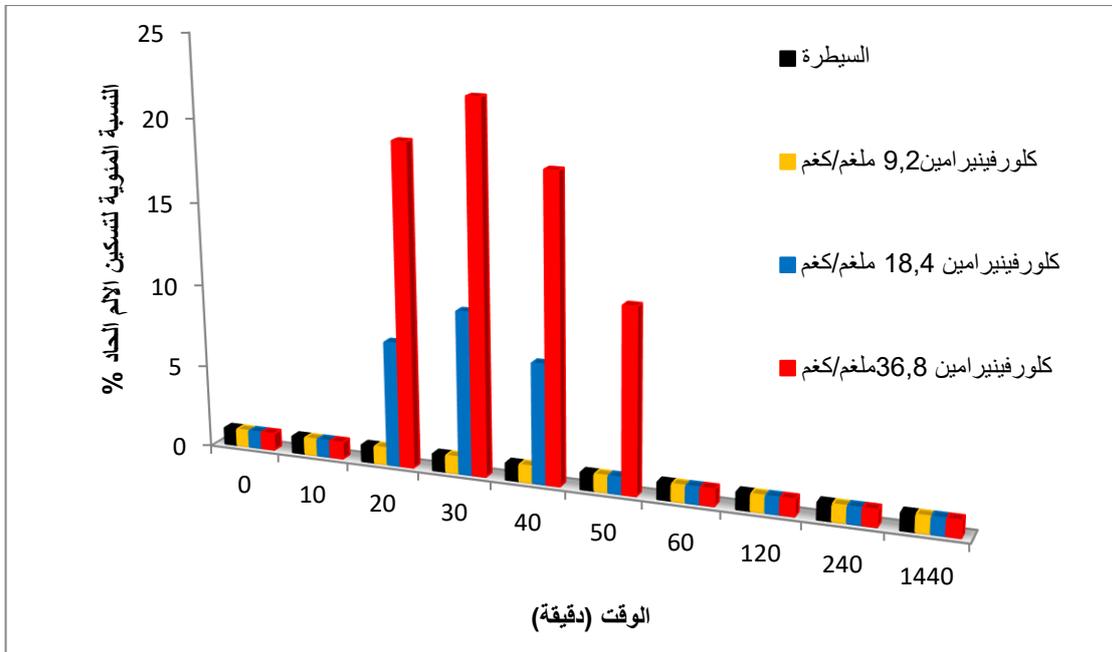
ج : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع الوقت (صفر , 60 , 120 , 240) دقيقة و (24) ساعة للجرعة نفسها

هـ : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع الوقت (10 , 50) دقيقة للجرعة نفسه

جميع القيم في الجدول تختلف معنوياً عند مستوى إحصائية أقل من أو يساوي 0.05



الشكل (4-5) منحنى التسكين من الألم الحاد للكلورفينيرامين بجرع مختلفة في أوقات مختلفة



الشكل (4-6) النسبة المئوية لتسكين الألم الحاد (أعلى تأثير ممكن مسكن للألم) Maximal possible effect (MPE) للجرع المختلفة من الكلورفينيرامين المحقون في الخلب في الفئران

5-4 التجربة الخامسة: تحديد فعالية الترامادول أو الكلورفينيرامين أو العقارين معاً في تقليل الألم الحشوي (منعكس التلوي) (Writhing reflex) في الفئران

أدى حقن الكلورفينيرامين بجرعة 36.8 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب والترامادول بجرعة 24 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب كلاً لوحده في الفئران قبل 30 دقيقة من حقن حمض الخليك في الخلب (لإحداث الألم الحشوي المحدث كيميائياً) إلى إحداث إنخفاض معنوي في عدد مرات التلوي لتصبح (33 ± 4.2 , 14.6 ± 1.8) على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة (108.8 ± 2.7). وكانت النسبة المئوية للإنخفاض في عدد مرات التلوي 69% و 86% على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة الجدول (8-4) الشكل (7-4).

في حين أدى حقن الترامادول والكلورفينيرامين معاً بجرعة 24 و 36.8 ملغم/كغم، من وزن الجسم في الخلب على التوالي (ضعف الجرعة المسكنة الوسطية لكل عقار) قبل 30 دقيقة من حقن حمض الخليك في الحيوانات إلى منع حدوث منعكس التلوي كلياً 0.00 وبنسبة إنخفاض 100% مقارنة مع مجموعة السيطرة ومع المجموعة المعاملة بالكلورفينيرامين والترامادول كلاً لوحده الجدول (8-4) الشكل (7-4). إذ لم تظهر على الحيوانات اي علامات الم او عدم راحة وكانت الحيوانات طبيعية جداً مؤكداً كفاءة إعطاء العقارين معاً في منع حدوث الألم الحشوي المحدث بحمض الخليك.

وسجل زيادة معنوية في وقت بدء الألم الحشوي (التلوي) بين مجموعة السيطرة (2.39 \pm 0.17) دقيقة والمجموعة المعاملة بالكلورفينيرامين (8.32 ± 0.44) دقيقة او الترامادول (8 \pm 0.27) دقيقة كلاً لوحده الجدول (8-4) في حين لم يكن هناك إختلاف معنوي في وقت بدء التلوي بين الكلورفينيرامين والترامادول فيما بينهما الجدول (8-4).

جدول (4-8) تحديد فعالية الترامادول أو الكلورفينيرامين أو العقارين معاً في تقليل الألم الحشوي (منعكس التلوي) (Writhing reflex) في الفئران باستخدام الجرعة المضاعفة للجف 50 المسكنة للألم لكلا العقارين

المعاملات	وقت بدء التلوي (دقيقة)	عدد مرات التلوي (خلال 30 دقيقة)	نسبة الإنخفاض في عدد مرات التلوي (%)
السيطرة (محلول الملحي الفسلجي)	2.39 ± 0.17	108.80 ± 2.7	0 %
الترامادول 24 ملغم/كغم في الخلب	8.00 ± 0.27 *	14.60 ± 1.8 *	86 % ↓
الكلورفينيرامين 36.8 ملغم/كغم في الخلب	8.32 ± 0.44 *	33.00 ± 4.2 *	69 % ↓
الترامادول 24 ملغم/كغم في الخلب + الكلورفينيرامين 36.8 ملغم/كغم في الخلب	0.00 ± 0.00 *	0.00 ± 0.00 *	100 % ↓

تم حقن حمض الخليك بتركيز 1% وبجرعة 0.1 مل/10غم من وزن الجسم في الخلب، بعد 30 دقيقة من حقن العقار في المجاميع كافة

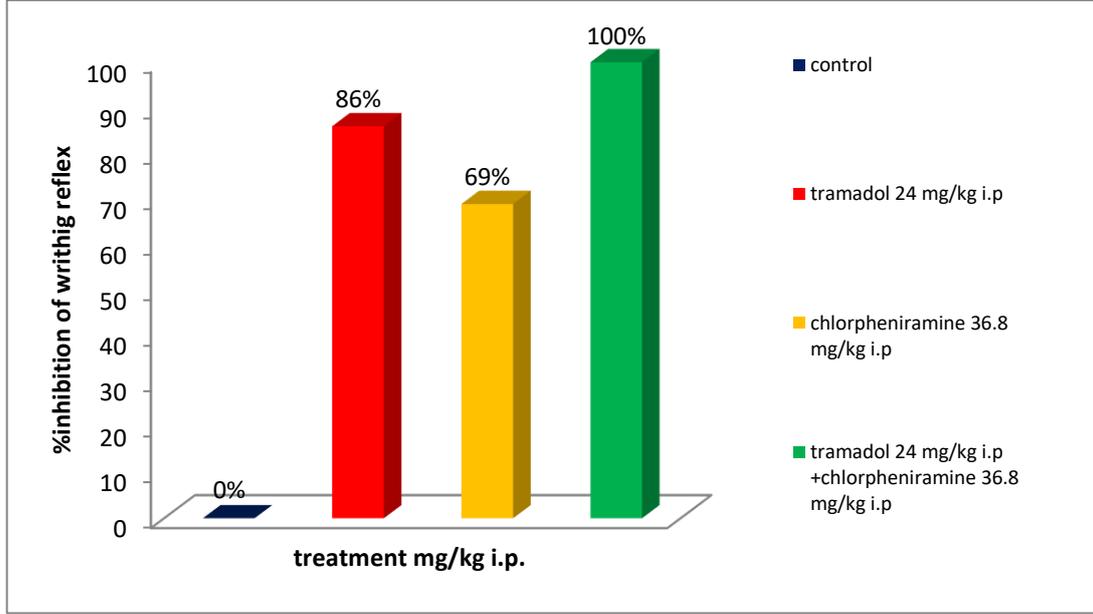
القيم تمثل الخطأ القياسي ± المعدل ل 6 فئران لكل مجموعة

* : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة لنفس العمود

أ : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة الترامادول 24 ملغم/كغم للعمود نفسه

ب : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة الكلورفينيرامين 36.8 ملغم/كغم للعمود نفسه

جميع القيم في الجدول تختلف معنوياً عند مستوى إحصائية أقل من أو يساوي 0.05



الشكل (4-7) النسبة المئوية للإنخفاض في عدد مرات التلوي للترامادول أو الكلورفينيرامين كلاً لوحده او معاً

4-6 التجربة السادسة: تأثير إعطاء الجف₂₅ للترامادول و الكلورفينيرامين معاً في مستوى إحداث التسكين من الألم الحاد في الفئران باستخدام جهاز الصفيحة الساخنة.

لم تنتج الجف₂₅ (6 , 9) ملغم/كغم, لكل من الترامادول أو الكلورفينيرامين على التوالي كلاً لوحده أي فرق معنوي في إحداث التسكين من الألم الحاد في الفئران المعاملة لذلك كانت نسبة التسكين لكل منهما هي صفر الجدول (4-9). في حين أحدث حقن الترامادول و الكلورفينيرامين معاً وبنفس الجرعة لكل منهما تغييراً معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة وباقي المجاميع (الجف₂₅ للترامادول و الكلورفينيرامين كلاً لوحده) تمثل بالتسكين الكامل من الألم الحاد إذ كانت نسبة التسكين من الألم الحاد 100% الجدول (4-9).

جدول (4-9) تأثير إعطاء الجف₂₅ للترامادول والكلورفينيرامين معاً في مستوى إحداث التسكين من الألم الحاد في الفئران باستخدام جهاز الصفيحة الساخنة

المعاملات	وقت الصفر (baseline) وقت الشعور بالألم بالثواني	بعد 30 دقيقة من الحقن وقت الشعور بالألم بالثواني	نسبة تسكين الألم %
السيطرة (محلول الملح الفسلجي)	3.85 ± 0.08	3.64 ± 0.10	0.0 %
الترامادول 6 ملغم/كغم في الخلب	3.60 ± 0.15	3.40 ± 0.11	0.0 %
الكلورفينيرامين 9 ملغم/كغم في الخلب	3.85±0.20	3.71 ± 0.23	0.0 %
الترامادول 6 ملغم/كغم في الخلب + الكلورفينيرامين 9 ملغم/كغم في الخلب	3.75 ± 0.13	7.15 ± 0.27	100 %

القيم تمثل الخطأ القياسي ± المعدل ل 5 فئران لكل مجموعة
 * : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة عند الوقت نفسه
 أ : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة 6 ملغم/كغم (ترامادول) عند الوقت نفسه
 ب : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة 9 ملغم/كغم (كلورفينيرامين) عند الوقت نفسه
 # : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع الوقت (صفر) للجرعة نفسها
 جميع القيم في الجدول تختلف معنوياً عند مستوى احتمالية أقل من أو يساوي 0.05

4-7 التجربة السابعة: تحديد الجرعة المميتة الوسطية (الجم50) الحادة Median lethal dose (LD₅₀) للترامادول أو الكلورفينيرامين كلاً لوحده في الفئران باستخدام طريقة الصعود والنزول up-and-down method

أ- تحديد الجم50 الحادة للترامادول في الفئران
 حددت الجم50 الحادة للترامادول وكانت 146.85 ملغم/كغم, من وزن الجسم في الخلب وتم تسجيل العلامات السريرية للتسمم الحاد بالترامادول في 3 ساعة بعد الحقن وهي ترنح , زيادة المنعكسات العصبية , زيادة في سرعة التنفس , ارتجاف, اختلاجات عصبية والموت الجدول (4-10).

جدول (10-4) تحديد الجرعة الحادة للترامادول في الفئران

القياسات	النتيجة
الجرعة الحادة للترامادول	146.85 ملغم/كغم من وزن الجسم في الخلب
مدى الجرعة	150 - 112.5 = 37.5 ملغم/كغم
الجرعة الأولية	150 ملغم/كغم
الجرعة النهائية	150 ملغم/كغم
مقدار الصعود والنزول في الجرعة	37.5 ملغم/كغم
عدد الفئران المستخدمة	5 (XOXOO)
العلامات	ترنج , زيادة المنعكسات العصبية , سرعة التنفس , ارتجاج , تشنج , اختلاجات عصبية , موت

حقن الترامادول في الخلب في الفئران وملاحظة الموت خلال 24 ساعة بعد الحقن

X : حدوث الموت O : عدم حدوث الموت

ب - تحديد الجرعة الحادة للكلورفينيرامين في الفئران.

تم تحديد الجرعة الحادة للكلورفينيرامين وكانت 92.38 ملغم/كغم. من وزن الجسم في الخلب في الفئران وتم تسجيل العلامات السريرية للتسمم الحاد بعد حقن عقار الكلورفينيرامين في 3 ساعة والتي كانت زيادة سرعة التنفس , ارتجاج , تشنج , اختلاجات عصبية و الموت الجدول (11-4)

جدول (11-4) تحديد الجرعة الحادة للكلورفينيرامين في الفئران

القياسات	النتيجة
الجرعة الحادة للكلورفينيرامين	92.38 ملغم/كغم من وزن الجسم في الخلب I.P
مدى الجرعة	125 - 75 = 50 ملغم/كغم
الجرعة الأولية	100 ملغم/كغم
الجرعة النهائية	100 ملغم/كغم
مقدار الصعود والنزول في الجرعة	25 ملغم/كغم
عدد الفئران المستخدمة	5 (XOOXX)
العلامات	سرعة التنفس , ارتجاج , تشنج , اختلاجات عصبية , الموت

تم حقن الكلورفينيرامين في الخلب وملاحظة الموت خلال 24 ساعة بعد الحقن

X : حدوث الموت O : عدم حدوث الموت

4-8 التجربة الثامنة: تحديد درجة الأمان Drug safety للترامادول أو

الكلورفينيرامين المحقون في الخلب للفئران.

أ- تحديد درجة الأمان للترامادول المحقون في الخلب للفرن.

تم تحديد درجة الأمان للترامادول وذلك بتطبيق معادلة المعيار العلاجي وبالاعتماد على التجربة الأولى إذ كانت الجف₅₀ للترامادول 12.08 ملغم/كغم, وكذلك التجربة السابعة إذ كانت الجف₅₀ للترامادول 146.85 ملغم/كغم, وكانت درجة أمان الترامادول $T.I = 12$ (مضاعفة الجف₅₀ للترامادول 12 مرة لقتل 50% من الفرن) الجدول (4-12)

ب - تحديد درجة الأمان للكلورفينيرامين المحقون في الخلب للفرن.

بالاعتماد على التجربة الأولى إذ الجف₅₀ للكلورفينيرامين كانت 18.48 ملغم/كغم, وكذلك التجربة السابعة إذ كانت الجف₅₀ للكلورفينيرامين 92.38 ملغم/كغم, وبتطبيق معادلة المعيار العلاجي حددت درجة الأمان للكلورفينيرامين وكانت $T.I = 5$ (مضاعفة الجف₅₀ للكلورفينيرامين 5 مرات لقتل 50% من الفرن) جدول (4-12)

جدول (4-12) تحديد درجة الأمان Drug safety للترامادول أو الكلورفينيرامين المحقون في الخلب في الفرن

المعايير	الترامادول	الكلورفينيرامين
المعيار العلاجي T.I	12	5

4-9 التجربة التاسعة: تأثير إعطاء الترامادول أو الكلورفينيرامين أو العقارين معاً في السلوك العصبي والنشاط الحركي للفرن

أدى حقن الفئران بالترامادول بجرعة 3 ملغم/كغم والكلورفينيرامين بجرعة 4 ملغم/كغم كلاً لوحده في الخلب إلى إنخفاض معنوي في النشاط الحركي للحيوانات داخل الميدان المفتوح تمثل بالإنخفاض المعنوي في عدد المربعات المقطوعة وعدد مرات الوقوف على الأرجل الخلفية مقارنة مع مجموعة السيطرة الجدول (4-13). في حين سجلت جرعتا العقارين الترامادول والكلورفينيرامين 3 و 4 ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي عند حقنهما معاً في الحيوان نفسه إنخفاضاً معنوياً في عدد المربعات المقطوعة داخل الميدان المفتوح مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بالكلورفينيرامين الجدول (4-13). فضلاً عن الإنخفاض المعنوي في عدد مرات الوقوف على الأرجل الخلفية مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بالترامادول لوحده الجدول (4-13). في حين لم يسجل أي تغيير معنوي في القياسات السلوكية النمطية لكل المجاميع المعاملة الجدول (4-13).

أدى حقن العقارين الترامادول والكلورفينيرامين كلاً لوحده أو معاً بجرعة 3 و 4 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب على التوالي إلى تغيير معنوي تمثل بالزيادة المعنوية في الوقت اللازم لإنهاء إختبار الإنتحاء الأرضي السالب مقارنة مع مجموعة السيطرة وسجلت الحيوانات المحقونة بالعقارين معاً زيادة معنوية في الوقت اللازم لإنهاء إختبار الإنتحاء الأرضي السالب مقارنة المجموعة المعاملة بالترامادول والمجموعة المعاملة بالكلورفينيرامين كلاً لوحده الجدول (4-13).

أدى حقن الترامادول والكلورفينيرامين كلاً لوحده أو معاً بجرعة 3 و 4 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب على التوالي إلى إحداث تغيير معنوي تمثل بالزيادة المعنوية في وقت إختبار فترة استجابة السكون الظهري Dorsal immobility response مقارنة مع مجموعة السيطرة وكذلك سجل الكلورفينيرامين لوحده و العقاران معاً تغييراً معنوياً مقارنة مع مجموعة المعاملة بالترامادول لوحده الجدول (4-13).

جدول (4-13) تأثير الترامادول او الكلورفينيرامين لوجدهما او معا في السلوك العصبي والنشاط الحركي, الإلتحاء الأرضي السالب واختبار فترة الإستجابة للسكون الظهري في الفئران

اختبار فترة استجابة السكون الظهري (ثانية)	اختبار الإلتحاء الأرضي السالب(ثواني)	قياسات السلوك العصبي والنشاط الحركي خلال 5 دقائق									المجاميع
		وضعية القنفذ	التبول	كرات البراز	هز الراس	العض واللعق	الشم	تنظيف الجسم	عدد مرات الوقوف على الأرجل الخلفية	عدد المربعات المقطوعة	
39.2±2.15	4.2±0.58	0.2±0.2	0.2±0.2	1.4±0.24	2±0.44	1.6±0.4	2±0.31	0.8±0.37	29.8±0.66	147.6±2.94	السيطرة محلول الملح الفسلجي
82.8±5.74 *	13.4±0.51 *	0.2±0.2	0.2±0.2	1.2±0.37	2.4±0.4	0.8±0.2	1.4±0.24	0.4±0.24	20.2±0.8 *	99±2.91 *	ترامادول 3 ملغم/كغم
68.2±4.62 أ *	13.2±0.86 *	0.0±0.0	0.2±0.2	1±0.31	2.6±0.4	1.8±0.37	1±0.54	1.4±0.4	21.4±1.93 *	106±3.67 *	كلورفينيرامين 4 ملغم/كغم
70.4±1.69 أ *	16.2±0.91 أ ب *	0.4±0.24	0.2±0.2	0.8±0.37	2.4±2.4	1.4±0.24	2.4±0.24	0.8±0.37	16.8±0.86 أ *	92±4.35 ب *	ترامادول + كلورفينيرامين (4,3) ملغم/كغم

القيم تمثل الخطأ القياسي ± المعدل ل 5 فئران لكل مجموعة
 * : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة للعمود نفسه
 أ : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة 3 ملغم/كغم(ترامادول) للعمود نفسه
 ب : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة 4 ملغم/كغم(كلورفينيرامين) للعمود نفسه
 جميع القيم في الجدول تختلف معنوياً عند مستوى إحصائية أقل من أو يساوي 0.05

10-4 التجربة العاشرة: التحدي الدوائي Pharmacological challenge باستخدام الكيتامين والزايلازين في الحيوانات المعاملة بالجرع الواطئة من الترامادول أو الكلورفينيرامين أو العقارين معاً

أدى حقن الترامادول بجرعة 3 ملغم/كغم في الخلب أو الكلورفينيرامين بجرعة 4 ملغم/كغم في الخلب في الفئران المعاملة بمزيج الكيتامين والزايلازين بجرعة 50 و 5 ملغم/كغم، في الخلب على التوالي إلى إحداث النوم في 65.75 ± 1.31 ثانية ولمدة 51 ± 5.56 دقيقة في المجموعة المعاملة بالترامادول لوحده وفي 1.95 ± 63 ثانية ولمدة 47.5 ± 3.88 دقيقة في المجموعة المعاملة بالكلورفينيرامين لوحده وأختزل بشكل معنوي الوقت اللازم لبدء النوم (التخدير) في المجموعة المعاملة بالترامادول أو الكلورفينيرامين كلاً لوحده مقارنة مع مجموعة السيطرة (الزايلازين والكيتامين معاً) الجدول (4-14). في حين أدى حقن العقارين معاً في الحيوانات المعاملة بالكيتامين والزايلازين إلى إختزال معنوي في الوقت اللازم لبدء التخدير مقارنة مع مجموعة السيطرة والمجموعة المعاملة بالترامادول أو الكلورفينيرامين كل لوحده الجدول (4-14). وأدى حقن الترامادول والكلورفينيرامين كلاً لوحده أو معاً بالجرع المذكورة في أعلاه إلى إطالة معنوية في مدة النوم (التخدير) مقارنة مع مجموعة السيطرة المعاملة بالكيتامين والزايلازين فقط الجدول (4-14). ولوحظ الإرتخاء الجيد للعضلات في الفئران المحقونة بالعقارين معاً وكانت العودة من التخدير سلسلة ومريحة في حيوانات هذه المجموعة وظهر على الحيوانات التسدير الذي أستمر أكثر من ساعتين. ولم يسجل أي إختلاف معنوي في مدة الإفاقة من التخدير ضمن المجاميع المعاملة كافة. مقارنة مع مجموعة السيطرة الجدول (4-14).

جدول (4-14) التحدي الدوائي pharmacological challenge بالكيثامين و الزايلازين

المجاميع	وقت بدء النوم Onset (ثانية)	مدة النوم Duration (دقيقة)	الافاقة Recovery (دقيقة)
السيطرة زايلازين/كيثامين (5, 5) ملغم/كغم	116.50± 1.04	27.75± 1.31	42.66± 1.76
ترامادول 3 ملغم/كغم زايلازين/كيثامين (5, 5) ملغم/كغم	65.75± 1.31 *	51.00± 5.56 *	54.66± 4.66
كلورفينيرامين 4 ملغم/كغم زايلازين/كيثامين (5, 5) ملغم/كغم	63.00± 1.95 *	47.50± 3.88 *	55.33± 2.40
ترامادول + كلورفينيرامين (4,3) ملغم/كغم زايلازين/كيثامين (5, 5) ملغم/كغم	57.50± 1.65 * أ ب	55.75± 4.93 *	60.33± 5.17

القيم تمثل الخطأ القياسي ± المعدل ل 5 فئران لكل مجموعة

*: القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة للعمود نفسه

أ : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع المجموعة المعاملة بالترامادول لوحده 3 ملغم/كغم, في الخلب

ب : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع المجموعة المعاملة بالكلورفينيرامين لوحده 4 ملغم/كغم, في الخلب

جميع القيم في الجدول تختلف معنوياً عند مستوى إحصائية أقل من أو يساوي 0.05

11-4 التجربة الحادية عشرة: تقييم التأثير المضاد للكآبة

Antidepressant effect للترامادول والكلورفينيرامين كل لوحده أو معاً

أدى تجريب الفئران بالفلوكسيتين عبر الفم (العقار النموذجي المضاد للكآبة) بجرعة 20 ملغم/كغم, من وزن الجسم في إختبار السباحة الإجباري وإختبار الذيل المعلق إلى إنخفاض معنوي في معدل مدة السكون التراكمية المحسوبة لمدة اربع دقائق متتالية Mean duration of cumulative immobility time (82 ± 1.92 , 45 ± 3.66) ثانية على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (149.2 ± 2.9 , 132.80 ± 4.38) ثانية على التوالي وكانت النسبة المئوية للإنخفاض في معدل نسبة السكون التراكمي 45 و 66 % على التوالي الجدول (4-15).

وأدى حقن الجرعة المختلفة من الترامادول 12 و 24 ملغم/كغم، من وزن الجسم، في الخلب إلى الإنخفاض المعنوي في مدة بقاء الحيوان ساكناً في خزان الماء وإختبار الذيل المعلق وبشكل معتمد على الجرعة (73.25 ± 2 , 71.5 ± 2.87) ثانية على التوالي لجرعة 12 ملغم/كغم، و (63.25 ± 2.56 , 60.25 ± 2.68) ثانية على التوالي لجرعة 24 ملغم/كغم، مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (149.2 ± 2.9 , 132.80 ± 4.38) ثانية على التوالي. وكانت النسبة المئوية للإنخفاض في معدل مدة السكون التراكمية 51 و 46 % على التوالي لجرعة 12 ملغم/كغم، و 57 و 54 % على التوالي لجرعة 24 ملغم/كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة الجدول (4-15).

و أظهرت جرعتا الكلورفينيرامين 18.4 و 36.8 ملغم/كغم، التأثير نفسه في الحيوانات إذ قلت وبشكل معنوي و معتمدة على الجرعة من مدة بقاء الحيوان ساكناً في كل من إختبار السباحة الإجباري وإختبار الذيل المعلق (33.25 ± 1.6 , 30 ± 2.34) ثانية على التوالي لجرعة 18.4 ملغم/كغم، و (19.5 ± 1.5 , 16.75 ± 0.47) ثانية على التوالي لجرعة 36.8 ملغم/كغم، مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (149.2 ± 2.9 , 132.80 ± 4.38) ثانية على التوالي. وكانت النسبة المئوية للإنخفاض في معدل مدة السكون التراكمية 77 و 77 % على التوالي لجرعة 18.4 ملغم/كغم، و 86 و 87 % على التوالي لجرعة 36.8 ملغم/كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة الجدول (4-15).

وتفوقت جرعتا الكلورفينيرامين على الترامادول بجرعتيه في إحداث التأثير المضاد للكآبة في إختبار السباحة الإجباري وإختبار الذيل المعلق الجدول (4-15). في حين أدى حقن الترامادول و الكلورفينيرامين معاً في الحيوان نفسه بجرعة 12 و 18.4 ملغم/كغم، من وزن الجسم و 24 و 36.8 ملغم/كغم، على التوالي إلى إنخفاض معنوي في مدة بقاء الحيوان ساكناً في إختبار السباحة الإجباري وإختبار الذيل المعلق (16.25 ± 0.85 , 16.25 ± 1.54) ثانية على التوالي عند حقن العقارين معاً بالجرعة الفاعلة الوسطية المسكنة للألم الحاد لكل منهما و (8.75 ± 1.03 , 8.75 ± 1.31) ثانية عند الجرعة المضاعفة للجرعة الفاعلة الوسطية المسكنة للألم الحاد لكل منهما مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (149.2 ± 2.9 , 132.80 ± 4.38) ثانية بالنسبة لإختبار السباحة الإجباري وإختبار الذيل المعلق على التوالي وكانت النسبة المئوية للإنخفاض في معدل مدة السكون التراكمية 89 و 87 % على التوالي للجرعة

الفاعلة الوسطية المسكنة لكل منهما و 94 و 93 % على التوالي للجرعة المضاعفة للجرعة الفاعلة الوسطية لكل منهما مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة (149.2 ± 2.9 , $132.80 \pm$ 4.38) ثانية الجدول (4-15). وكان التأثير المضاد للكآبة لمزيج الترامادول مع الكلورفينيرامين بالجرعة المضاعفة للجرعة الفاعلة الوسطية لكل منهما أفضل من إعطاء العقارين معاً بالجرعة الفاعلة الوسطية المسكنة لتفوقه وبشكل معنوي في التقليل من مدة سكون الحيوان داخل إختبار السباحة الإجباري وإختبار الذيل المعلق الجدول (4-15).

جدول (4-15) معدل مدة السكون التراكمية لإختبار السباحة الإجباري FST وإختبار الذيل المعلق TST

معدل مدة السكون التراكمية لإختبار TST بالثانية, نسبة الإنخفاض المئوية		معدل مدة السكون التراكمية لإختبار FST بالثانية, نسبة الإنخفاض المئوية		المجاميع المعاملة
%0	132.80± 4.38	%0	149.2± 2.9	السيطرة السالبة Negative control محلول الملح الفسلجي
%66	45± 3.66 *	%45	82± 1.92 *	السيطرة الموجبة Positive control فلوكسيتين 20 ملغم/كغم (عن طريق الفم)
%46	71.5± 2.87 أ*	%51	73.25± 2 أ*	ترامادول 12 ملغم/كغم
%77	30± 2.34 أ ب*	%77	33.25± 1.6 أ ب*	كلورفينيرامين 18.4 ملغم/كغم
%87	16.25± 1.54 أ ج*	%89	16.25± 0.85 أ ج*	ترامادول + كلورفينيرامين (18.4+12) ملغم/كغم
%54	60.25± 2.68 أ د*	%57	63.25± 2.56 أ د*	ترامادول 24 ملغم/كغم
%87	16.75± 0.47 أ ب ه*	%86	19.5± 1.5 أ ب ه*	كلورفينيرامين 36.8 ملغم/كغم
%93	8.75± 1.31 أ ج و*	%94	8.75± 1.03 أ ج و*	ترامادول + كلورفينيرامين (36.8+24) ملغم/كغم

جرع الفلوكسيتين عن طريق الفم بثلاث جرع منفصلة 20 ملغم/كغم قبل (1 , 5 , 24) ساعة من إخضاع الحيوانات للإختبارات.

القيم تمثل الخطأ القياسي ± المعدل ل5 فئران لكل مجموعة

* : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة **negative control**

أ : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة **positive control**

ب : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة الترامادول لوحده

ج : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة الكلورفينيرامين لوحده ومجموعة الترامادول لوحده

د : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة الترامادول 12 ملغم/كغم

هـ : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة الكلورفينيرامين 18.4 ملغم/كغم

و : القيمة تختلف معنوياً مقارنة مع مجموعة ترامادول + كلورفينيرامين (18.4+12) ملغم/كغم

جميع القيم في الجدول تختلف معنوياً عند مستوى إحتتمالية أقل من أو يساوي 0.05

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

كان الهدف من الدراسة الحالية الكشف عن تأثير عقار الكلورفينيرامين في الفعل المسكن للألم (الحراري والحشوي) للترامادول وتحديد نوع التداخل الدوائي بين العقارين على مستوى التسكين من الألم الحاد، فضلاً عن دراسة نوع التأثيرات الجانبية الكامنة وتقييمها على مستوى السلوك العصبي والنشاط الحركي والنتيجة من إعطاء العقارين معاً في الفئران و دراسة التأثير الدوائي المضاد للكآبة للكلورفينيرامين وتداخله مع الترامادول للحصول على تسكين ممتاز للألم الحاد وتقليل التأثيرات الجانبية المرافقة لتقييم مدى كفاءة وأمان إعطاء العقارين معاً في الفئران للأغراض البحثية والسرييرية وإمكانية إستخدامه مستقبلاً في الحيوانات الأخرى لعلاج حالات الألم الحاد.

يعد الترامادول من العقارات الأفيونية المصنعة و يعمل مركزياً على تسكين الألم عن طريق تأثيره على الجهاز العصبي المركزي أذ أنه شاد للمستقبلات الأفيونية ميوم (Raffa et al., 1992). فضلاً عن تثبيطه إعادة أخذ السيروتونين و النورادرينالين ويمتلك بهذه الخاصية المزدوجة في العمل تسكيناً مثالياً للألام (Raffa et al., 2012) و تائيراً ضد القلق والكآبة (Askar et al., 2018). لذا أختير في الدراسة الحالية لدراسة تائيراته العلاجية وفحص وتقييم إعطائه مع عقار الكلورفينيرامين ولأول مرة إذ لم يتم التطرق إليها سابقاً لمعرفة نوع التداخل الدوائي بينهما على مستوى السلوك العصبي والنشاط الحركي وعلى مستوى تسكين الألم الحاد والتأثير المضاد للكآبة.

وإختير عقار الكلورفينيرامين للحقن مع عقار الترامادول في هذه الدراسة, إذ يعد الكلورفينيرامين من ضادات الهستامين من الجيل الأول ضمن مجموعة الإلكيل امين alkylamine إذ يقوم بكبح مستقبلات الهستامين H₁ فضلاً عن تثبيطه إعادة أخذ السيروتونين ويستخدم بشكل واسع في الإنسان والحيوان لعلاج حالات الحساسية فضلاً عن إمتلاكه للفعالية المسكنة للألم والمضادة للكولين (Baroody and Naclerio, 2000). وأثبتت في دراسات سابقة أجريت على الفئران أن حقن الكلورفينيرامين لوحده أو مع عقارات مسكنة أخرى مثل

المورفين والايوبروفين أحدث تداخلاً تآزرياً وتعزيزياً على مستوى تسكين الألم (Mobarakeh et al., 2002; Meltzer et al., 2004) فضلاً عن خصائصه المضادة للكآبة (Miyata et al., 2011).

تم في الدراسة الحالية استخدام جهاز الصفيحة الساخنة عند درجة حرارة 56° م لإحداث الألم الحاد الحراري والذي يستخدم لتقييم الفعل المسكن للألم للعقارات في الحيوانات المختبرية إعتماًداً على التحفيز الحراري للألم (Le Bars et al., 2001; Roy et al., 2019). فضلاً عن تقييم تأثير العقارين كلاً لوحده أو معاً في الألم الحشوي Visceral pain المحدث بحقن حمض الخليك Acetic acid في الخلب الذي يمثل إختبار التلوي Writhing reflex المحدث بحقن المواد الكيميائية في الخلب و يكون مسؤول عنه التغذية العصبية بالأعصاب الجسدية Somatic innervations (Ness, 1999; Le Bars et al., 2001).

وحددت الجرعة الفاعلة الوسطية (الجف50) للترامادول التي تؤدي إلى التسكين من الألم الحاد في 50% من الفئران المستخدمة في التجربة بطريقة الصعود والنزول (Dixon, 1980). وكانت 12.08 ملغم/كغم من وزن الجسم, في الخلب وهو يتفق مع دراسة سابقة في الفئران حقنت بالترامادول في الخلب إذ كانت الجف50 بالقيمة نفسها 12.32 ملغم/كغم وباستخدام جهاز الصفيحة الساخنة ايضاً (Viviana et al., 2020).

ولأول مرة وفي دراستنا الحالية تم تحديد الجرعة الفاعلة الوسطية المسكنة للألم الحاد للكلورفينيرامين في الفئران المحقونة في الخلب وكانت 18.48 ملغم/كغم من وزن الجسم وهي مقاربة للجرعة المسكنة المستخدمة في تجارب سابقة لإختبار الصفيحة الساخنة في الفئران والمحقونة في الخلب 20 ملغم/كغم (Bluhm et al., 1982) غير أن هذه الدراسة لم تشر الى الجف50 للعقار وكانت جرعة 20 ملغم/كغم مجرد جرعة مسكنة أحدثت التسكين على جهاز الصفيحة الساخنة ولم يتم تحديدها بطريقة الصعود والنزول ولم تمثل الجف50 للعقار. كما كانت هذه الجرعة متوافقة مع دراسة سابقة أجريت في الجرذان أشارت إلى التأثير المسكن للكلورفينيرامين بجرعة 20 ملغم/كغم من وزن الجسم, في الخلب عند إستخدام إختبار مسح العين Eye wiping test (إختبار يستخدم لتقييم الألم الحاد في العصب ثلاثي التوائم Trigeminal nerve في الجرذان) (Khalilzadeh et al., 2017).

وأشارت دراسات سابقة (Glick and Crane, 1978; Raffa, 2001) الى آلية عمل الكلورفينيرامين كمسكن للألم إذ تشارك مستقبلات الهستامين H₁ المركزية (الموجودة في الجهاز العصبي المركزي) في الإدراك والإحساس بالألم Pain perception وهذا ما أكده

(Mobarakeh *et al.*, 2000) إذ أشار الى دور مستقبلات الهستامين H_1 في التسكين من الألم المحدث بالمحفز الحراري, الكيميائي والميكانيكي وذلك بحقن الكلورفينيرامين في الخلب في الفئران المعدلة وراثياً Gene knockout mice الفاقدة لمستقبلات الهستامين H_1 (فئران طافرة) Mutant ومقارنة النتائج مع الفئران السليمة إذ أقرحت هذه الدراسة أن الهستامين يشارك في التحكم بمسارات الألم النازلة Descending pain-control pathway في الجهاز العصبي المركزي والمحيطي, من ثم فان نظام الهستامين Histaminergic system مشابه للنظام العصبي Neural system إذ له دور أساسي في تعديل Modulation الإدراك المركزي لمحفز الألم ومن ثم فان حصر مستقبلات الهستامين Blockade of H_1 receptors يرفع من عتبة الألم Pain threshold والذي بدوره يفسر آلية التسكين للكلورفينيرامين. فضلاً عن تثبيطه لإعادة أخذ السيروتونين التي تميزه عن غيره من ضادات H_1 من الجيل الأول (Hellbom, 2006).

وتم في دراستنا الحالية فحص التداخل الدوائي بين الترامادول والكلورفينيرامين على مستوى التسكين من الألم الحاد وبطريقة الصعود والنزول (Dixon, 1980) إذ لوحظ إنخفاض للجرعة الفاعلة الوسطية للترامادول لتصبح 3.15 ملغم/كغم عند إعطائه مع جرعة ثابتة من الكلورفينيرامين (الجف50) 18.4 ملغم/كغم وكانت نسبة الإنخفاض في الجرعة الفاعلة الوسطية للترامادول 74% فضلاً عن زيادة الفعالية المسكنة للترامادول مقارنة مع الجرعة الفاعلة الوسطية للترامادول لوحده. وهذا يعد أول مؤشر لنوع التداخل الدوائي بين العقارين إذ أشر وجود تداخل تآزري بينهما تمثل بتقليل جرعة الترامادول اللازمة لإحداث التسكين في 50% من الحيوانات وتقوية فعله المسكن وجرعة أقل وهذا يتفق مع دراسات سابقة لإعطاء الكلورفينيرامين مع الأفيونات (Mobarakeh *et al.*, 2000). غير أن الدراسة في هذا المجال كانت محدودة جداً.

وقد يعود السبب إلى تشارك العقارين بالميكانيكيات المذكورة سابقاً على مستوى مستقبلات الهستامين H_1 والمستقبلات الأفيونية فضلاً عن تثبيطها لإعادة أخذ السيروتونين مما قلل من الجرعة المسكنة للترامادول عند حقنها معاً في الوقت نفسه.

أستخدم تحليل الأيزوبولوكرافك وهي طريقة نوعية, لفحص التداخل الدوائي والتي توضح نوع التداخل الدوائي بين الأدوية المختلفة المستخدمة معاً باستخدام برنامج الإكسيل Excel (Puig *et al.*, 1996; Tallarida, 2002) وفي دراستنا لوحظ أن إعطاء الترامادول مع الكلورفينيرامين بنسبة 1:1 و 0.5:0.5 من الجرعة الفاعلة الوسطية لكل منهما على التوالي في

الفئران وبطريقة الحقن في الخلب أدى إلى إنخفاض واضح في الجرعة الفاعلة الوسطية لكل منهما وكانت عند نسبة 1:1 (5.58 , 8.56 ملغم/كغم) على التوالي لكل منهما ونسبة إنخفاض 54 و 54 % على التوالي لكل منهما. في حين كانت الجرعة الفاعلة الوسطية عند نسبة 0.5:0.5 (4.95 و 7.59 ملغم/كغم) على التوالي ونسبة إنخفاض 59 و 59 % على التوالي لكل منهما. وتم حساب قيمة γ كإجراء تأكيدي للتداخل التآزري بين الترامادول والكلورفينيرامين لكلتا النسبتين إذ كانت عند نسبة 1:1 (0.92) في حين عند نسبة 0.5:0.5 كانت (0.82) لكل منهما أي أن التداخل بين الترامادول والكلورفينيرامين تداخل تقوية Supper-additive أو ما يسمى بالتداخل التآزري Synergistic interaction. إذ أدى إلى تسكين جيد من الألم مقارنة مع إعطاء العقارين كل لوحده بالجرعة الفاعلة الوسطية.

في حين كانت نسبة التسكين من الألم 100% عند حقن الفئران بالجرعة المنخفضة تحت المسكنة (Low dose) لكل من الترامادول والكلورفينيرامين معاً. إذ أن هذه الجرعة لكلا العقارين فشلت في إحداث تسكين الألم على الصفيحة الساخنة لإختبار الألم الحاد وهذا يؤكد نوع التداخل التآزري بين العقارين.

ولم يرافق حقن الحيوانات عند كل هذه النسب المختلفة من الجرعة الفاعلة الوسطية المسكنة للعقارين معاً بأية تأثيرات جانبية فيما عدا الانصياح والتسدير. وكان أفضل تداخل دوائي عند إعطاء الترامادول مع الكلورفينيرامين بنسبة 0.5:0.5 من الجرعة الفاعلة الوسطية لكل من العقارين على التوالي والذي تأكد من مقارنة قيمة γ لكلتا النسبتين والتي تمثل معادلة مؤشر التداخل الدوائي لكلتا النسبتين. فضلاً عن أن التداخل الدوائي باستخدام جرعة ثابتة للجرعة الفاعلة الوسطية للكلورفينيرامين مع جرعة مختلفة من الترامادول أدى وبشكل ملحوظ إلى إنخفاض في جرعة الترامادول وبالمقارنة مع نسبة تسكين الألم الحاد 100% المحدثة باستخدام الجرعة الواطنة (غير مسكنة) لكلا العقارين معاً. وهذا يدل على أن لعقار الكلورفينيرامين تأثيراً تآزرياً للفعل المسكن لئلا الحاد للترامادول ونوع التداخل التآزري بينهما. وقد يرجع السبب في التداخل التآزري بين العقارين إلى أن الكلورفينيرامين يؤدي إلى زيادة فعالية الترامادول لتسكين الألم الحاد وذلك بتنشيطه المستقبلات الأفيونية في الجهاز العصبي المركزي (Khalilzadeh *et al.*, 2017). فضلاً عن أن الكلورفينيرامين يعدّ من مثبطات إعادة إخذ السيروتونين الإنتقائية SSRI_s (Hellbom, 2006) والذي قد يعزز من فعالية الترامادول لتسكين الألم إذ أن السيروتونين دوراً مهماً في التسكين للترامادول (Minami *et al.*, 2015) وهذا ما

أكده (Miyata *et al.*, 2011) إذ يقوم الكلورفينيرامين بتنشيط النقل العصبي للسيروتونين Activation serotonergic neurotransmission في الجهاز العصبي المركزي. وقد أشار (Galeotti *et al.*, 2002) إلى أن ضادات الهستامين من الجيل الأول تنشط G_i proteins وهذا من الممكن أن يعزز تسكين الألم للترامادول. إذ أن تثبيط التنشيط لهذه البروتينات يمنع التأثير المسكن للنواقل العصبية كالكابا, بيتا اندروفين Beta-androphins والبيورينات Purines والتسكين المحدث بالمسكنات المعروفة كالافيونات ومضادات الكآبة وشادات الفا الادرينالية (Yeh, 1986).

فضلاً عن أن لمستقبلات الهستامين H_1 دوراً مهماً في تسكين الألم الحشوي والجسدي (Mobarakeh *et al.*, 2000). إذ أن الكلورفينيرامين ضاد متخصص لهذه المستقبلات وهذا يعزز من الفعل المسكن للترامادول. وهناك دراسات سابقة تؤكد على تداخل الكلورفينيرامين مع الأدوية الافيونية كالمورفين تداخلاً تآزرياً على مستوى التسكين من الألم الحشوي والجسدي وذلك باستخدام فنان طافرة (فاقة لمستقبلات الهستامين H_1) في إختبارات الألم المحدثه بالمحفز الحراري والكيميائي التي أستنتجت أن المورفين يشارك الكلورفينيرامين عند أعصاب الهستامين Histaminergic neurons في الإدراك والإحساس بالألم وبالتالي فمن المحتمل أن مستقبلات الهستامين H_1 لها دور في تسكين الألم المحدث بالافيونات (Mobarakeh *et al.*, 2002).

فضلاً عن أن الترامادول ينشط مستقبلات الادينوسين A_1 في الجهاز العصبي المركزي والمحيطي والتي لها دور في تسكين الألم للترامادول (Sawynok *et al.*, 2013) وهذا قد يعزز تسكين الألم وربما التداخل التآزري بين الترامادول والكلورفينيرامين. ومن ثم فمن الممكن أن تشارك جميع هذه الآليات في العمل لكلا العقارين فضلاً عن آلية تداخلهما المفترضة في التداخل التآزري بينهما.

وكمزيد من التأكد على نوع التداخل الدوائي بين الترامادول والكلورفينيرامين شملت نتائج دراستنا الحالية فحص الألم الحشوي المحدث بواسطة حمض الخليك المحقون في الخلب للفئران إذ يسبب هذا الحمض الآماً حشوية يعبر عنها الفأر بالتلوي والذي يعد إختباراً حساساً لتقييم التأثير المضاد للإلتهاب والفعل المسكن للعقارات المختلفة (Ness, 1999; Le Bars *et al.*, 2001). ولأول مرة وفي تجاربنا الحالية تم التطرق إلى فحص إعطاء مزيج عقار الترامادول مع الكلورفينيرامين لإختبار الألم الحشوي بالجرع المضاعفة للجرعة الفاعلة الوسطية لكلا العقارين. إذ أثبتت دراستنا أن التداخل بين العقارين كان تآزرياً

ولوحظ انخفاض معنوي في عدد مرات التلوي فضلاً عن تسجيل زيادة معنوية في وقت بدء التلوي مقارنة مع مجموعة السيطرة ومع المجاميع المعاملة بالجرع المضاعفة للجرعة الفاعلة الوسطية المسكنة للعقارين كل لوحده وهذا يدل على التداخل التآزري للعقارين لتسكين الألم الحشوي. فضلاً عن الإنخفاض المعنوي في عدد مرات التلوي للعقارين كل لوحده والذي يتفق مع دراسات سابقة إذ سجل الترامادول (Zhang *et al.*, 2011) والكلورفينيرامين (Mobarakeh *et al.*, 2000) كل لوحده انخفاضاً ملحوظاً في عدد مرات التلوي في إختبار منعكس التلوي.

إن سبب اختيارنا في هذه الدراسة الجرعة المضاعفة للجرعة الفاعلة الوسطية للكلورفينيرامين هي دراسة سابقة أكدت أن إعطاء الكلورفينيرامين بجرعة 20 ملغم/كغم لم تسبب اي إنخفاض معنوي في عدد مرات التلوي (Zendehdel *et al.*, 2015). وقد يعود سبب التداخل التآزري بين العقارين على مستوى الألم الحشوي إلى أن الافيونات تعمل كشادات للمستقبلات الافيونية في الجهاز العصبي المحيطي, خصوصاً مع مستقبلات ميو الافيونية وهذا هو السبب الرئيس لتسكين الألم الحشوي للترامادول والمحدث بواسطة حقن مادة كيميائية في الخلب (Reichert *et al.*, 2001; Ide *et al.*, 2011). فضلاً عن أن مستقبلات ميو الافيونية المحيطية عندما تتعرض لأحد وسائط الإلتهاب Inflammatory mediators المحدث بواسطة حقن حمض الخليك يحدث لها تكيف بالزيادة العددية Upregulation وهذه العملية السريعة تعزز فعالية هذه المستقبلات ومن ثم تعزز التسكين المحدث بالافيونات (Berg *et al.*, 2007). ويضاف له دور الهستامين الذي يحفز الألم في الأعصاب الواردة Afferent neurons للأحشاء الداخلية (Ting *et al.*, 2007). وأن مستقبلات الهستامين H₁ تشارك في ألم الأحشاء وبما أن الكلورفينيرامين ضاداً متخصصاً لها ومن ثم يحدث تسكيناً آمناً لألم الأحشاء الحاد (Mobarakeh *et al.*, 2000; Mobarakeh *et al.*, 2002). ولاحظ (Zanbori *et al.*, 2008) أن الكلورفينيرامين يشارك في النظام الافيوني الداخلي المنشاء Endogenous opioid system عند تسكينه لألم الأحشاء فضلاً عن أن الكلورفينيرامين يعزز تسكين ألم الأحشاء للافيونات (Mobarakeh *et al.*, 2002) وهذا قد يكون أحد الأسباب الرئيسة للتداخل التآزري بين الترامادول والكلورفينيرامين على مستوى التسكين من الألم الحشوي الحاد.

ان لمستقبلات السيروتونين 5HT_{1A} و 5HT_{2A} الموجودة في الجهاز العصبي المركزي دوراً مهماً بالتحكم بألم الأحشاء إذ لوحظ ان تنشيط هذه المستقبلات

يعزز التسكين من ألم الأحشاء (Okumura *et al.*, 2020). وهذا ما أكده (Sengupta *et al.*, 2017; Lyubashina and Sivachenko, 2014) إذ أن تحفيز مستقبلات السيروتونين $5HT_4$ في الجهاز العصبي المركزي يحفز إفراز الأفيونات في الجهاز العصبي المركزي ومن ثم تنشيط المسارات العصبية الصادرة إلى الحبل الشوكي وإحداث تسكين ألم الأحشاء وهذا من المحتمل أن يكون أحد الأسباب في التداخل التآزري بين الترامادول والكلورفينيرامين في تسكين ألم الأحشاء إذ أن إحدى ميكانيكيات كلا العقارين زيادة السيروتونين في الاشتباك العصبي وذلك بتثبيط إعادة أخذ السيروتونين ومن ثم تنشيط هذه المستقبلات وحدوث التسكين (Hellbom, 2006; Raffa *et al.*, 2012).

وتم في دراستنا قياس التأثير المسكن للألم الحاد في أوقات مختلفة وبجرع مختلفة للترامادول والكلورفينيرامين كل على حدى وتحديد وقت بدء التسكين من الألم ومدته للجرع المختلفة لكل عقار في الفئران وباستخدام جهاز الصفيحة الساخنة إذ كانت أفضل جرعة مسكنة للألم الحاد للترامادول 24 ملغم/كغم من وزن الجسم، أذ بدء التسكين بوقت أسرع 10 دقيقة بعد حقن العقار مقارنة مع جرعة 12 ملغم/كغم من وزن الجسم. وحققت جرعة 24 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب أطول فترة تسكين معنوي أستمروا لغاية 4 ساعات بعد الحقن وسجلت هذه الجرعة أعلى نسبة مئوية MPE لتسكين الألم الحاد وبنسبة 58% عند الوقت 30 دقيقة من الحقن. وأنفقت هذه النتائج مع دراسات سابقة لدراسة التأثير المسكن لجرع مختلفة من الترامادول عند حقنه في الخلب في الفئران وعلى جهاز الصفيحة الساخنة إذ سجلت أعلى نسبة مئوية لتسكين الألم 100% بجرعة 40 ملغم/كغم عند الوقت 30 دقيقة من الحقن (Symeon *et al.*, 2017) فضلاً عن دراسة أخرى (Mattia *et al.*, 1993) أشارت إلى أن حقن الترامادول بجرعة 25 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب في الفئران وفحص تأثيره المسكن للألم على جهاز الصفيحة الساخنة أعطى أعلى نسبة مئوية لتسكين الألم MPE 40% عند الوقت 30 دقيقة من الحقن 0 وأشارت (Al-jader and Taqa, 2014) إلى أن حقن الترامادول في الفئران بجرعة 20 ملغم/كغم بالخلب أعطى أعلى نسبة مئوية لتسكين الألم 40% عند الوقت 40 دقيقة من الحقن على جهاز الصفيحة الساخنة.

ويعد بحثنا الأول في الإشارة إلى تحديد أفضل جرعة وأفضل وقت لإحداث تسكين الألم في الفئران وعلى جهاز الصفيحة الساخنة لعقار الكلورفينيرامين إذ لم تتطرق أي دراسة سابقة لها. إذ تفوقت جرعة 36.8 ملغم/كغم في إحداثها أطول مدة تسكين استمر لمدة 50 دقيقة مقارنة مع بقية المجاميع وكانت أعلى نسبة مئوية MPE لتسكين الألم الحاد 22% عند الوقت 30 دقيقة

من الحقن للجرعة نفسها. وأشار (Mobarakeh *et al.*, 2000) إلى أن التأثير المسكن للكلورفينيرامين يرتبط بغلقه لمستقبلات الهستامين H₁ التي تشارك في الإدراك والإحساس بالألم. وهو مشابه لباقي ضادات الهستامين H₁ من الجيل الأول (Raffa *et al.*, 2001).

وأنفقت نتائج دراستنا مع دراسات سابقة (Al-jader and Taqa, 2014) والتي أشارت إلى أن حقن عقار الدايفينهيدرامين (ضاد مستقبلات H₁) في الفئران وباستخدام الصفيحة الساخنة أحدث تأثيراً مسكناً للألم الحاد وكانت أعلى نسبة مئوية لتسكين الألم 23% عند الوقت 30 دقيقة من حقن العقار.

ولم يترافق التسكين الجيد للألم الحاد للترامادول أو الكلورفينيرامين عند الجرعة 24 , 36.8 ملغم/كغم (الجرعة المضاعفة للجرعة الوسطية المسكنة) لكل منهما على التوالي أي من التأثيرات الجانبية في الحيوانات فيما عدا السكون والهدوء وهذا يتفق مع (Al-jader and Taqa, 2014) إذ أشارت إلى أن الجرعة المكررة من الترامادول والدايفينهيدرامين لم ترافق باي آثار جانبية عدا السكون والهدوء.

أوضحت نتائج دراستنا بان حقن الترامادول أو الكلورفينيرامين أدى إلى زيادة في عتبة الألم الحاد للفئران و أنتج كل من الترامادول و الكلورفينيرامين تأثيراً مثبطاً للإستجابة للألم على الصفيحة الساخنة وأعتمد تأثير العقارين على الجرعة فكلما زادت الجرعة زاد التأثير المسكن للألم الحاد خلال الوقت. وهذا مماثل لما توصلت إليه الدراسات السابقة (Al-Jader, 2011) عند إعطاء كل من الترامادول والدايفينهيدرامين كل لوحده وجرع متعددة في الفئران. وتم في دراستنا الحالية تحديد الجرعة الوسطية المميتة LD₅₀ للترامادول و الكلورفينيرامين كل لوحده والتي تؤدي إلى قتل 50% من الحيوانات وكانت 145.85 , 92.38 ملغم/كغم من وزن الجسم. في الخلب على التوالي وأظهر حقن الجرعة السامة لكلا العقارين علامات سمية تمثلت بزيادة سرعة التنفس , إرتجاج , تشنج , إختلاجات عصبية ثم الموت إن السبب الرئيس لهذه العلامات عند حقن عقار الترامادول هو زيادة السيروتونين والذي يؤدي إلى متلازمة السيروتونين Serotonin syndrome (Nakhae *et al.*, 2021). فضلاً

عن حدوث الموت بسبب التثبيط القلبي-الرئوي Cardiopulmonary depression والذي سببه الجرعة السامة toxic dose من الترامادول والتي تزيد التعبير Increase expression لغنونات GABA_{A&B1} في الجهاز العصبي المركزي (Zhang *et al.*, 2011). وأنفقت نتائج

دراستنا مع (Al-Jader, 2011) أذ أشارت إلى أن الجرعة المميّنة الوسطية للترامادول في الفئران هي 153.81 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب.

وعن طريق تطبيق المعيار المستخدم لقياس درجة الأمان للدوية والمسمى بالمعيار العلاجي Therapeutic index (T.I.) (Korotchkina *et al.*, 2020). تم تحديد درجة الأمان للترامادول والكلورفينيرامين وكانت 12 , 5 على التوالي كل لوحده وأن درجة الأمان للترامادول أكبر من درجة الأمان للكلورفينيرامين إذ أستخدم العقارين لتسكين الألم الحاد كل لوحده وقد يعود السبب إلى أن تأثيرات الكلورفينيرامين في الجرعة السامة تكون تحت تأثير التحفيز المركزي Central stimulant effect والتي تشمل التأثيرات المضادة للكولين Anticholinergic أو التأثيرات بالسيروتونين Serotonergic properties والتي تسبب الموت (Karamanakis *et al.*, 2004). فضلاً عن أن الجرعة السامة للكلورفينيرامين تكون سامة للقلب Cardio toxic اذ يعمل الكلورفينيرامين كحاصر Blocker لقنوات البوتاسيوم hERG في القلب (Hong and Jo, 2009). وأشار (Sun *et al.*, 2012) إلى الدور الأساس لقنوات البوتاسيوم hERG في حدوث Cardio toxicity.

وكان ضمن أحد محاور دراستنا إختبار النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح والذي يعدّ من الإختبارات السلوكية والحركية المستخدمة في قياس سلوك النشاط الحركي وفعاليتها للحيوانات المختبرية مثل الفئران والجرذان وأفراخ الدجاج وذلك بإستخدام الجرعة الواطئة لإظهار التأثيرات الكامنة Subtle effects للعقارات المختلفة (العقارات المثبّطة للجهاز العصبي المركزي) (Gould *et al.*, 2009). وتم إختيار الجرعة الواطئة تحت المسدرة للترامادول والكلورفينيرامين وكانت 3 , 4 ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي وبدت الحيوانات طبيعية عند وضعها في الميدان المفتوح وعدم ظهور علامات التسدير عليها. وأظهر الترامادول إنخفاضاً معنوياً في عدد المربعات المقطوعة وعدد مرات الوقوف مقارنة مع مجموعة السيطرة. ويعود السبب إلى أن الترامادول يثبّط الجهاز العصبي المركزي إذ يرتبط المستقبلات الأفيونية ميو ويحفزها فضلاً عن تثبيطه إعادة أخذ النورابينفرين والسيروتونين (Raffa *et al.*, 1992; Grond and Salbotzki, 2004). وتوافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسات سابقة للفئران المحقونة بالترامادول تحت الجلد والتي أكدت أن الجرعة تحت المسدرة للترامادول أدت إلى إنخفاض النشاط الحركي داخل الميدان المفتوح تمثل بإنخفاض عدد المربعات المقطوعة وعدد مرات الوقوف (Al-Jader, 2011). فضلاً عن توافق هذه النتائج في دراسات سابقة لأفراخ الدجاج المعاملة بالترامادول إذ أدى إلى إنخفاض في النشاط الحركي والسلوك العصبي

لها داخل الميدان المفتوح (Shaban, 2013). وفي صغار الجرذان إذ أدى حقن الأفيونات كالمورفين إلى زيادة زمن الإستجابة للإنتحاء الأرضي السالب ويعود السبب إلى تحفيز المورفين لمستقبلات ميو الأفيونية على مستوى الجهاز العصبي المركزي (De Oliveira et al., 2017). فضلاً عن تأثيره المتمثل بزيادة مدة الإستجابة لعدم السكون الظهري ويرجع السبب لدور المستقبلات الأفيونية والنظام الأفيوني الداخلي Endogenous opioid system (Smith et al., 1985).

و أظهر الكلورفينيرامين تأثيراً مثبتاً واضحاً للنشاط الحركي والسلوك العصبي داخل الميدان المفتوح تمثل بالإنخفاض المعنوي في عدد المربعات المقطوعة وعدد مرات الوقوف وهذا يتفق مع دراسات سابقة لمضادات الهستامين H₁ من الجيل الأول كالدائفينهايدرامين في الفئران (Al-Jader, 2011). وفي أفراخ الدجاج (Mohammad et al., 2012) إذ وجد أن الدائفينهايدرامين يقلل النشاط الحركي والسلوك العصبي داخل الميدان المفتوح عند حقنه بالجرع القليلة فضلاً عن الزيادة في زمن الإستجابة لعدم الحركة الشدي وقد يعود السبب إلى أن ضادات الهستامين تثبط الجهاز العصبي المركزي CNS Depressant في حين أن المنبهات تزيد من النشاط الحركي والسلوك العصبي للحيوانات المختبرية داخل الميدان المفتوح (Frankel et al., 2007; Tsuneyoshi et al., 2007). وتعد دراستنا الأولى في فحص السلوكيات العصبية النمطية stereotypic behavioral للعقارين الترامادول والكلورفينيرامين معاً في نموذج الفئران غير انها لم تسجل أي زيادة معنوية في هذه السلوكيات عند المعاملة بالتزامادول أو الكلورفينيرامين كل لوحده او معاً.

وشملت نتائج دراستنا التحدي الدوائي والتي تعد إحدى الوسائل المتبعة في الكشف عن التأثيرات الكامنة للعقارات ويكشف التحدي الدوائي الخلل الحاصل في الجهاز العصبي المركزي (Zenick, 1983). استخدمنا مزيج الزايلازين 5 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب والكيثامين 50 ملغم/كغم من وزن الجسم، في الخلب لإحداث التخدير العام في الفئران (Massey and Richerson, 2017). وأظهرت النتائج أن المعاملة بالجرع الواطئة من الترامادول والكلورفينيرامين والمستخدم في تجربة السلوك العصبي والنشاط الحركي إنخفاضاً معنوياً في مدة بدء النوم المحدث بالكيثامين والزايلازين فضلاً عن زيادة معنوية في مدة النوم لكلا العقارين كل لوحده أو معاً مقارنة مع مجموعة السيطرة وأن إعطاءهما معاً عمد إلى إنخفاض معنوي في مدة بدء النوم مقارنة مع إعطاء كل عقار لوحده. وقد يعود السبب إلى أن الترامادول يسهم في تنشيط مستقبلات الفا 2 ما قبل الإشتباك العصبي التي يعمل عليها

الزايلازين (Riedl *et al.*, 2009). فضلاً عن أن الترامادول يثبط مستقبلات NMDA والتي تعزز من فعل الكيتامين (Chen *et al.*, 2002). ومن ثم تعزيز الفعل المخدر لمزيج الزايلازين والكيتامين. وأتفقت نتائج حقن الترامادول لوحده في اختبار التحدي الدوائي مع دراسات سابقة في الكلاب (Choi *et al.*, 2011) والخنزير (Ajadi *et al.*, 2009) إذ عزز الترامادول من الفعل المخدر والمسكن لمزيج الزايلازين والكيتامين فضلاً عن زيادة فترة التخدير وإشار (Choi *et al.*, 2011) إلى أن لمتأريض الترامادول M1 دور أساسي في الفعل المسدر للترامادول والذي يعزز من مدة التخدير وبدء التخدير بشكل سهل وسريع. أما بالنسبة لعقار الكلورفينيرامين فان التحريض السريع للتخدير Rapid induction يرتبط بالتأثير المسدر للكلورفينيرامين والذي يعتمد إلى زيادة مدة التخدير (Hindmarch and shamsi, 1999). وتطابقت نتائج دراستنا مع دراسات سابقة في الجرذان عند تخديرها بعقاري الكيتامين والاسيبيرومازين Acepromazine (عقار مهدئ) Tranquilizer إذ يسرع الكلورفينيرامين من حدوث التخدير فضلاً عن زيادة مدة التخدير (Hajighahramani *et al.*, 2016).

وتضمنت دراستنا فحص التأثير المضاد للكآبة للترامادول و الكلورفينيرامين كلاً لوحده او معاً باستخدام إختبار الذيل المعلق TST وإختبار السباحة الإجباري FST الذان يستخدمان لتقييم كفاءة الأدوية المضادة للكآبة وتأثيراتها على مختلف السلوكيات العصبية في الفئران (Demouliere *et al.*, 2005). والذي يعبر عنه الفأر بحالة اليأس (اليأس السلوكي) Behavioral despair اذ ان الحيوان يفقد الأمل في الهروب من البيئة المجهدة (Porsolt *et al.*, 1977). وأظهرت نتائج الفحصان لكلا العقارين كل لوحده او معاً انخفاضاً معنوياً في مدة السكون التراكمية مقارنة مع مجموعة السيطرة فضلاً عن ارتفاع النسبة المئوية للإنخفاض في مدة السكون التراكمية في كلتا التجربتين ولكلا العقارين وبشكل معتمد على الجرعة وذلك بتسجيل انخفاض معنوي في مدة السكون التراكمية للجرعة المضاعفة للجرعة الفاعلة الوسطية لكلا العقارين كل لوحده او معاً مقارنة مع الجرعة الفاعلة الوسطية لكل منهما. في حين كانت النسبة المئوية للانخفاض في مدة السكون التراكمية للترامادول والكلورفينيرامين معاً لإختبار الذيل المعلق وإختبار السباحة الإجباري 93% و 94% على التوالي ومن ثم كان التداخل بين العقارين تداخلاً تآزرياً عند استخدامهما معاً كمضادات للكآبة وهذا يؤكد على التداخل التآزري في تجارب الألم المركزي والحشوي في دراستنا. ويعود سبب فعالية الترامادول كمضاد للكآبة إلى أن تركيبه الكيميائي مشابه بشكل كبير

لضادات الكآبة كالميرتازابين Mertazapine , الدولوكستين Duloxetine والفينلافاكسين Venlafaxine والتي تعتمد في تأثيرها على تثبيط إعادة أخذ النورادرينالين والسيروتونين (Barber, 2011) SNRI والمشابهة لعمل الترامادول (Raffa et al 1992; Grond and Salbotzki, 2004). ومن المعروف أيضاً الدور الاساس للنورادرينالين والسيروتونين في علاج الكآبة (Brunello et al., 2002). وهذا ما أكدته (Bumpus, 2020) بإستخدام الترامادول بالجرع القليلة كمضاد للكآبة. وأشار (Ostadhadi et al., 2012) إلى أن الترامادول يعتمد إلى تثبيط مستقبلات ال NMDA لإحداث المضاد للكآبة في إختبار السباحة الإجباري للفئران. وتوافقت نتائج دراستنا مع دراسات سابقة (Tayal et al., 2008) إذ أعطى الترامادول تأثيراً مضاداً للكآبة في إختبار الذيل المعلق للفئران. وإختبار السباحة الإجباري (Rojas et al., 1998) وكان التأثير معتمداً على الجرعة في كلتا الدراستين.

في حين أن الكلورفينيرامين يعتمد إلى زيادة تركيز الأمين الأحادي Monoamine (النورادرينالين والدوبامين) في الإشتباك العصبي بين الخلايا العصبية للجهاز العصبي المركزي وذلك بتثبيطه لإعادة أخذ الأمين الأحادي داخل الخلايا العصبية (Lidbrink et al., 1998; Dringenberg et al., 1991; Shishido et al., 1971) إن زيادة الأمين الأحادي وتجمعه ينشط مستقبلات الدوبامين D₁ ومستقبلات الفا 1 الادرينالية وهذا ما أشار إليه (Hirano et al., 2007) في شرح آلية التأثير المضاد للكآبة للكلورفينيرامين في إختبار الذيل المعلق للفئران. وتتوافق دراستنا مع دراسة سابقة أكدت أن الدايفينهيدرامين (ضاد مستقبلات H₁) تمتلك الفعل المضاد للكآبة وبشكل معتمد على الجرعة في الفئران وباستخدام إختبار الذيل المعلق والسباحة الإجباري (Taq, 2013).

وأشير إلى أن الكآبة سببها انخفاض تركيز السيروتونين والنورادرينالين (الأمين الأحادي) في الجهاز العصبي المركزي (Zehnder et al., 2009) ومن ثم فإن الميكانيكية الحقيقية لضادات الكآبة التقليدية هي تثبيط إعادة أخذ الأمين الأحادي وبالتالي زيادة مستوياتها داخل الاشتباكات العصبية (Feighner, 1999). وهناك ميكانيكية مقترحة أخرى توضح الفعل المضاد للكآبة لضادات مستقبلات H₁ هي أن الهستامين عندما يرتبط بمستقبلات H₁ سيسرع من إفراز الناقل العصبي GABA والذي بدوره يثبط إفراز السيروتونين (Payne and Neuman, 1997) لذا فان مثبطات هذه المستقبلات تلغي هذا التأثير وتزيد من إفراز السيروتونين. فضلاً عن أن الهستامين بحد ذاته يثبط إفراز النورادرينالين من النهايات العصبية (Barbier and Bradbury, 2007) لذا فمن الممكن إستخدام ضادات الهستامين مثل

الدايفينهيدرامين (Taqa, 2013) والكلورفينيرامين في دراستنا الحالية كضادات للكآبة لعملها على زيادة مستوى السيروتونين والنورادرينالين في الإشتباكات العصبية وإطالة مدة بقائها وتأثيرها على ما بعد الإشتباك العصبي. وأشارت دراسات سابقة إلى أن الإكتئاب المحدث بواسطة اوكسيد النيتريك Nitric oxide يعتمد على انتاج الرسول الثاني Second messenger وهو cGMP داخل الخلية وان تثبيط انزيم Guanylate cyclase الذي يساعد في تحطيم cGMP يحدث سلوكاً مضاداً للكآبة في القوارض (Hartell, 1996). ووجد (Shakiba et al., 2018) أن الكلورفينيرامين يثبط المسار الخلوي لأوكسيد النيتريك NO/cGMP عند إحداثه التأثير المضاد للكآبة في إختبار السباحة الإجباري للفئران فضلاً عن أن هذا التأثير يعتمد على جرعة الكلورفينيرامين وهذا يتطابق مع نتائج دراستنا الحالية. مما تقدم من شرح للأليات المختلفة لعمل الترامادول والكلورفينيرامين في إحداث التأثير المضاد للكآبة وزيادة هذا التأثير عند إعطائهم معاً قد يفسر التداخل التآزري بينهما على مستوى التأثير المضاد للكآبة.

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

1-6 الاستنتاجات

1. إن التداخل الدوائي بين الترامادول والكلورفينيرامين تآزري على مستوى تسكين الألم الحاد الحراري والحشوي في الفئران.
2. إن الفعل المسكن للألم للترامادول والكلورفينيرامين يعتمد على الجرعة.
3. إعطاء مزيج الترامادول والكلورفينيرامين بالجرع الواطئة (تحت المسكنة) يوفر تسكيناً جيداً للألم الحاد بشكل آمن غير مصحوب بالتأثيرات الجانبية على الفئران.
4. يمتلك الترامادول درجة أمان أكثر من الكلورفينيرامين في نموذج الفئران.
5. إعطاء الترامادول والكلورفينيرامين لوحدهما أو معاً يزيد من كفاءة التخدير لمزيج الزايلازين والكيثامين مما يرجح إمكانية إستخدامهما كأدوية قبل التخدير.
6. لمزيج الترامادول والكلورفينيرامين تأثير تآزري على مستوى تثبيط الجهاز العصبي المركزي.
7. لمزيج الترامادول والكلورفينيرامين تأثير تآزري على مستوى المضاد للكآبة

2-6 التوصيات

1. دراسة الحركية الدوائية لمزيج الترامادول والكلورفينيرامين للوقوف على السبب الرئيس للتأثير التآزري بينهما.
2. دراسة تأثير الترامادول والكلورفينيرامين مع الزيلازين والكيثامين على فعالية التخدير والتسكين من الألم في الحيوانات المختبرية الأخرى وتطبيقه سريريا على الحيوانات الحقلية
3. تحديد مستوى السيروتونين في الدم والدماغ لمعرفة إمكانية تأثيرها في التداخل التآزري بين الترامادول والكلورفينيرامين على مستوى التسكين من الألم والنشاط الحركي والسلوك العصبي والتأثير المضاد للكآبة.
4. دراسة التأثير المضاد للإلتهاب والفايروسات لمزيج الترامادول والكلورفينيرامين.
5. دراسة تطبيقية لإستخدام الترامادول والكلورفينيرامين معاً في تسكين الألم الحاد في حيوانات المزرعة.
6. دراسة تطبيقية لإستخدام الترامادول والكلورفينيرامين معاً في علاج الكآبة في الحيوانات المنزلية.

المصادر

References

- Abel, S. R. (2010). Tramadol: An Alternative Analgesic to Traditional Opioids and NSAIDs. *Journal of Pharmaceutical Care in Pain and Symptom Control*. 3(1): 5-29.
- Ajadi, A. R.; Olusa, T. A.; Smith, O. F.; Ajibola, E. S.; Adeleye, O. E.; Adenubi, O. T. and Makinde, F. A. (2009). Tramadol Improved the Efficacy of Ketamine–Xylazine Anaesthesia in Young Pigs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 36(6): 562-566.
- Ali, A.; Farooq, U.; Ahmed, M.; Athar, M. M.; Salman, M.; Arif, S. and Naz, H. (2020). Stability-Indicating RP-HPLC Assay for Simultaneous Determination of Chlorpheniramine Maleate and Prednisolone in Veterinary Injection. *Acta Chromatographica*. 32(2): 122-127.
- Al-Jader G. H. M. (2011). study the effects of diphenhydramine (H1-receptor antagonist) on tramadol analgesic effect in mice. MS.c. thesis, mosul university, mosul, Iraq. 72-79
- Al-Jader, G. H. and Taqa, G. A. (2014). Isobolographic Analysis of the Antinociceptive Interaction between Tramadol and Diphenhydramine in Mice. *International Journal of Enhanced Research in Science Technology and Engineering*. 3(2).
- Aljbori, M. A. A.; Alshalchi, R. F. A. and Faris, G. A. (2021). Evaluation the Sedative and Analgesic Effects of Tramadol and Chlorpromazine Alone or as A Combination in Chicks. *Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences*. 12(1): 16-22.
- Anderson, D. B. and Shaheed, C. A. (2022). Medications for Treating Low Back Pain in Adults. Evidence for the Use of Paracetamol, Opioids, Nonsteroidal Anti-inflammatories, Muscle Relaxants, Antibiotics, and Antidepressants: An Overview for Musculoskeletal Clinicians. *Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*. 52(7): 425-431.
- April, K. T.; Bisailon, J.; Welch, V.; Maxwell, L. J.; Jüni, P.; Rutjes, A. W. and Tugwell, P. (2019). Tramadol for Osteoarthritis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 5.
- Armstrong, S. C.; Wynn, G. H. and Sandson, N. B. (2009). Pharmacokinetic Drug Interactions of Synthetic Opiate Analgesics. *Psychosomatics*. 50(2): 169-176.

- Askar, S. J.; Chyad, A. H. and Al-Janabi, O. S. (2018). Involvement of Biogenic Amines in Antidepressant Effect of Tramadol in Male Mice. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 6(1): 1288-1292.
- Bacchetta, S. and Gavazzi, L. (2003). Clinical Tolerance of Chlorpheniramine in Cattle. *Rivista di Zootecnia e Veterinaria Italy*. 31(1): 69-75.
- Bamigbade, T. A. and Langford, R. M. (1998). The Clinical Use of Tramadol Hydrochloride. *Pain Reviews*. 5. 155-182.
- Barakat, A. (2019). Revisiting Tramadol: A Multi-Modal Agent for Pain Management. *CNS Drugs*. 33(5): 481-501.
- Barann, M.; Urban, B.; Stamer, U.; Dorner, Z.; Bönisch, H. and Brüss, M. (2006). Effects of Tramadol and O-demethyl-Tramadol on Human 5-HT Reuptake Carriers and Human 5-HT_{3A} Receptors: a Possible Mechanism for Tramadol-Induced Early Emesis. *European Journal of Pharmacology*. 531(1-3): 54-58.
- Barber, J. (2011). Examining the Use of Tramadol Hydrochloride as An Antidepressant. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*. 19(2): 123.
- Barbier, A. J. and Bradbury, M. J. (2007). Histaminergic Control of Sleep-Wake Cycles: Recent Therapeutic Advances for Sleep and Wake Disorders. *CNS and Neurological Disorders-Drug Targets*. Formerly *Current Drug Targets-CNS and Neurological Disorders*. 6(1): 31-43.
- Baroody, F. M. and Naclerio, R. M. (2000). Antiallergic Effects of H₁-Receptor Antagonists. *Allergy*. 55. 17-27.
- Barsotti, C. E.; Mycyk, M. B. and Reyes, J. (2003). Withdrawal Syndrome From Tramadol Hydrochloride. *The American Journal of Emergency Medicine*. 21(1): 87-88.
- Bekjarovski, N.; Chaparoska, D. and Radulovikj-Bekjarovska, S. (2012). Seizures After Use and Abuse of Tramadol. *Contributions of Macedonian Academy of Sciences and Arts*. 33(1).
- Berg, K. A.; Patwardhan, A. M.; Sanchez, T. A.; Silva, Y. M.; Hargreaves, K. M. and Clarke, W. P. (2007). Rapid Modulation of μ -Opioid Receptor Signaling in Primary Sensory Neurons. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 321(3): 839-847.

- Besic, N.; Smrekar, J. and Strazisar, B. (2020). Acute Pain and Side Effects After Tramadol in Breast Cancer Patients: Results of a Prospective Double-Blind Randomized Study. *Scientific Reports*. 10(1): 1-8.
- Bilgen, S.; Erdoğan Ari, D. and Özveri, E. (2022). The Effect of Ondansetron on the Analgesic Efficacy of Tramadol in Patients Undergoing Laparoscopic Cholecystectomy. *International Journal of Clinical Practice*. 2022.
- Black, P. A.; Cox, S. K.; Macek, M.; Tieber, A. and Junge, R. E. (2010). Pharmacokinetics of Tramadol Hydrochloride and its Metabolite O-desmethyltramadol in Peafowl (*Pavo Cristatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 41(4): 671-676.
- Bluhm, R.; Zsigmond, E. K. and Winnie, A. P. (1982). Potentiation of Opioid Analgesia by H1 and H2 Antagonists. *Life Sciences*. 31(12-13): 1229-1232.
- Bluman, A. (2014). *Elementary Statistics: A Step by Step Approach*. McGraw Hill. 9Ed. 528-539.
- Brunello, N.; Mendlewicz, J.; Kasper, S.; Leonard, B.; Montgomery, S.; Nelson, J. C. and Racagni, G. (2002). The Role of Noradrenaline and Selective Noradrenaline Reuptake Inhibition in Depression. *European Neuropsychopharmacology*. 12(5): 461-475.
- Buckey, J. C.; Alvarenga, D.; Cole, B. and Rigas, J. R. (2004). Chlorpheniramine for Motion Sickness. *Journal of Vestibular Research*. 14(1): 53-61.
- Buckingham, C. L. (2020). *Analysis of Tramadol and Its Metabolites in Rat Skeletal Tissues Following Acute and Repeated Dose Patterns Using High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry*. Doctoral Dissertation, Laurentian University of Sudbury. Canada. 69-89
- Bumpus, J. A. (2020). Low-Dose Tramadol as an Off-Label Antidepressant: a Data Mining Analysis From the Patients' Perspective. *ACS Pharmacology and Translational Science*. 3(6): 1293-1303.

- Can, A.; Dao, D. T.; Arad, M.; Terrillion, C. E.; Piantadosi, S. C. and Gould, T. D. (2012). The Mouse Forced Swim Test. *Journal of Visualized Experiments*. (59): e3638.(b)
- Can, A.; Dao, D. T.; Terrillion, C. E.; Piantadosi, S. C.; Bhat, S. and Gould, T. D. (2012). The Tail Suspension Test. *Journal of Visualized Experiments*. (59): e3769.(a)
- Cannon, C. Z.; Kissling, G. E.; Hoenerhoff, M. J.; King-Herbert, A. P. and Blankenship-Paris, T. (2010). Evaluation of Dosages and Routes of Administration of Tramadol Analgesia in Rats Using Hot-Plate and Tail-Flick Tests. *Lab animal*. 39(11): 342-351.
- Ceschel, G. C.; Maffei, P. and Gentile, M. (1999). Design and Evaluation of a New Transdermal Formulation Containing Chlorpheniramine Maleate. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 25(9): 1035-1039.
- Chen, Y.; Chan, S. Y. and Ho, P. C. (2002). Isobolographic Analysis of the Analgesic Interactions Between Ketamine and Tramadol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 54(5): 623-631.
- Chiu, C. C.; Liu, K. S.; Chen, Y. W.; Hung, C. H. and Wang, J. J. (2020). Chlorpheniramine Produces Cutaneous Analgesia in Rats. *Pharmacological Reports*. 72(4): 827-832.
- Choi, W.; Jang, H. S.; Yun, S. H.; Park, J. S.; Kwon, Y. S. and Jang, K. H. (2011). Effect of Tramadol on Medetomidine and Ketamine Anesthesia in Dogs. *Pakistan Veterinary Journal*. 31(2): 99-104
- Choi, Y. W.; Jung, M. J.; Kim, H. O.; Chung, B. Y. and Park, C. W. (2019). Anaphylaxis to Chlorpheniramine Maleate and Literature Review. *Annals of Dermatology*. 31(4): 438-441.
- Chugh, J.; Yadav, Y. R.; Kulkarni, H. S. and Maheshwari, S. (2020). The Effect of Aerosolized Chlorpheniramine Maleate on Exercise Induced Bronchospasm and Gas Exchange in Asthmatics. *The Journal of the Association of Physicians of India*. 68(4): 21-25.
- Church, M. K.; Maurer, M.; Simons, F. E. R.; Bindslev, J. C.; Van Cauwenberge, P.; Bousquet, J. and Zuberbier, T. (2010). Risk of First-Generation H1-antihistamines: a GA²LEN position paper. *Allergy*. 65(4): 459-466.

- Cleophas, T. J.; Zwinderman, A. H.; Cleophas, T. F. and Cleophas, E. P. (2009). *Statistics Applied to Clinical trials*. Dordrecht Springer Netherlands.
- Cox, S.; Villarino, N. and Doherty, T. (2010). Determination of Oral Tramadol Pharmacokinetics in Horses. *Research in veterinary Science*. 89(2): 236-241.
- Dayer, P.; Collart, L. and Desmeules, J. (1994). The pharmacology of tramadol. *Drugs*. 47(1): 3-7
- De Oliveira, C.; Scarabelot, V. L.; Vercelino, R.; Silveira, N. P., Adachi, L. N.; Regner, G. G. and Torres, I. L. (2017). Morphine Exposure and Maternal Deprivation During the Early Postnatal Period Alter Neuromotor Development and Nerve Growth Factor Levels. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 63(12): 8-15.
- De Souza Sampaio, R.; do Nascimento, E. P.; De Menezes, I. R. A.; dos Santos Sales, V.; Pereira, A. O. B.; De Lacerda, G. M. and Kerntopf, M. R. (2020). Antinociceptive Activity of the Psidium Brownianum Mart ex DC. Leaf Essential Oil in Mice. *Food and Chemical Toxicology*. 135. 111053.
- Desmeules, J. A.; Piguet, V.; Collart, L. and Dayer, P. (1996). Contribution of Monoaminergic Modulation to the Analgesic Effect of Tramadol. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 41(1): 7-12.
- Dhama, P.; Kumar, S. and Sagar, M. K. (2022). Development and Characterization of Transdermal Patches of Tramadol Hydrochloride: An Approach to Pain Management. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 15(1): 1-5.
- Dixon, W. J. (1980). Efficient Analysis of Experimental Observations. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 20(1): 441-462.
- Domino, E. F. (1999). History of Modern Psychopharmacology: a Personal View with an Emphasis on Antidepressants. *Psychosomatic Medicine*. 61(5): 591-598.
- Donati, P. A.; Tarragona, L.; Franco, J. V.; Kreil, V.; Fravega, R.; Diaz, A. and Otero, P. E. (2021). Efficacy of Tramadol for Postoperative Pain Management in Dogs: Systematic Review

- and Meta-Analysis. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 48(3): 283-296.
- Dringenberg, H. C.; De Souza-Silva, M. A.; Schwarting, R. K. and Huston, J. P. (1998). Increased Levels of Extracellular Dopamine in Neostriatum and Nucleus Accumbens After Histamine H1 Receptor Blockade. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 358(4): 423-429.
- Duehmke, R. M.; Derry, S.; Wiffen, P. J.; Bell, R. F.; Aldington, D. and Moore, R. A. (2017). Tramadol for Neuropathic Pain in Adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. (6): 16-39
- Edinoff, A. N.; Kaplan, L. A.; Khan, S.; Petersen, M.; Sauce, E.; Causey, C. D. and Kaye, A. D. (2021). Full Opioid Agonists and Tramadol: Pharmacological and Clinical Considerations. *Anesthesiology and Pain Medicine*. 11(4).
- Fang, S. Y.; Druce, H. M. and Baraniuk, J. N. (1998). Anticholinergic Properties of Brompheniramine, Chlorpheniramine, and Atropine in Human Nasal Mucosa In Vitro. *American Journal of Rhinology*. 12(2): 131-134.
- Feighner, J. P. (1999). Mechanism of Action of Antidepressant Medications. *Journal of Clinical Psychiatry*. 60(4): 4-13.
- Finkel, R.; Clark, M. A. and Cubeddu, L. X. (2009). *Pharmacology*. Lippincott Williams and Wilkins. 4thEd.
- Frankel, P. S.; Hoonakker, A. J.; Danaceau, J. P. and Hanson, G. R. (2007). Mechanism of An Exaggerated Locomotor Response to a Low-Dose Challenge of Methamphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 86(3): 511-515.
- Frost, D. A.; Soric, M. M.; Kaiser, R. and Neugebauer, R. E. (2019). Efficacy of Tramadol For Pain Management in Patients Receiving Strong Cytochrome P450 2D6 Inhibitors. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 39(6): 724-729.
- Galeotti, N.; Ghelardini, C. and Bartolini, A. (2002). Antihistamine Antinociception is Mediated by Gi-protein Activation. *Neuroscience*. 109(4): 811-818.
- Gesseck, A. M.; Peace, M. R.; Nanco, C. R.; Wolf, C. E.; Hendricks-Muñoz, K. D.; Xu, J. and Poklis, J. L. (2021). Neonatal

- Exposure to Tramadol through Mother's Breast Milk. *Journal of Analytical Toxicology*. 45(8): 840-846.
- Glick, S. D. and Crane, L. A. (1978). Opiate-Like and Abstinence-Like Effects of Intracerebral Histamine Administration in Rats. *Nature*. 273(5663): 547-549.
- Gong, L.; Stamer, U. M.; Tzvetkov, M. V.; Altman, R. B. and Klein, T. E. (2014). Tramadol Pathway. *Pharmacogenetics and Genomics*. 24(7): 374.
- Gould, T. D.; Dao, D. T. and Kovacsics, C. E. (2009). The Open Field Test. Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice. 1-20.
- Grond, S. and Sablotzki, A. (2004). Clinical Pharmacology of Tramadol. *Clinical Pharmacokinetics*. 43(13): 879-923.
- Guedes, A. G.; Meadows, J. M.; Pypendop, B. H. and Johnson, E. G. (2018). Evaluation of Tramadol for Treatment of Osteoarthritis in Geriatric Cats. *Journal of The American Veterinary Medical Association*. 252(5): 565-571.
- Guo, Q.; Lin, H. and Lin, J. (2022). Chlorpheniramine Poisoning as a Potential Cause of Rhabdomyolysis. *The American Journal of Emergency Medicine*. 57(7): 236-e1.
- Gupta, A.; Devi, L. A. and Gomes, I. (2011). Potentiation of μ - Opioid Receptor-mediated Signaling by Ketamine. *Journal of Neurochemistry*. 119(2): 294-302.
- Hajighahramani, S. (2016). Analgesic Effect of Chlorpheniramine in Rat Anaesthesia with Acepromazine–Ketamine Combination. *Journal of Jahrom University of Medical Sciences*. 14(3): 18-26.
- Hartell, N. A. (1996). Inhibition of cGMP Breakdown Promotes the Induction of Cerebellar Long-Term Depression. *Journal of Neuroscience*. 16(9): 2881-2890.
- Hassamal, S.; Miotto, K.; Dale, W. and Danovitch, I. (2018). Tramadol: Understanding the Risk of Serotonin Syndrome and Seizures. *The American Journal of Medicine*. 131(11): 1382
- Haufroid, V. and Hantson, P. (2015). CYP2D6 Genetic Polymorphisms and their Relevance for Poisoning Due to Amfetamines, Opioid Analgesics and Antidepressants. *Clinical Toxicology*. 53(6): 501-510.

- Hellbom, E. (2006). Chlorpheniramine, Selective Serotonin-Reuptake Inhibitors (SSRIs) and Over-The-Counter (OTC) Treatment. *Medical Hypotheses*. 66(4): 689-690.
- Hiep, B. T.; Fernandez, C.; Tod, M.; Banide, H.; Thuillier, A.; Lacour, B. and Gimenez, F. (2001). Intestinal Absorption and Metabolism of Chlorpheniramine Enantiomers in Rat. *Chirality: The Pharmacological, Biological, and Chemical Consequences of Molecular Asymmetry*. 13(4): 207-213.
- Hindmarch, I. and Shamsi, Z. (1999). Antihistamines: Models to Assess Sedative Properties, Assessment of Sedation, Safety and Other Side-Effects. *Clinical and Experimental Allergy*. 29. 133-142.
- Hirano, S.; Miyata, S.; Onodera, K. and Kamei, J. (2007). Involvement of Dopamine D1 Receptors and α 1-adrenoceptors in the Antidepressant-Like Effect of Chlorpheniramine in the Mouse Tail Suspension Test. *European Journal of Pharmacology*. 562(1-2): 72-76.
- Hong, H. K. and Jo, S. H. (2009). Block of hERG K⁺ Channel by Classic Histamine H1 Receptor Antagonist Chlorpheniramine. *The Korean Journal of Physiology and Pharmacology*. 13(3): 215-220.
- Huh, H.; Lee, S. W.; Cho, J. E. and Kim, H. C. (2021). Effect of Chlorpheniramine Administration on Postoperative Catheter-Related Bladder Discomfort in Patients Undergoing Transurethral Excision of Bladder Tumor: A Prospective Randomized Study. *Journal of Anesthesia*. 35(5): 646-653.
- Hui-chen, L.; Yang, Y.; Na, W.; Ming, D.; Jian-fang, L. and Hong-yuan, X. (2004). Pharmacokinetics of The Enantiomers of Trans-Tramadol and Its Active Metabolite, Trans-O-Demethyltramadol, in Healthy Male and Female Chinese Volunteers. *Chirality: The Pharmacological, Biological, and Chemical Consequences of Molecular Asymmetry*. 16(2): 112-118.
- Ide, S.; Minami, M.; Uhl, G. R.; Satoh, M.; Sora, I. and Ikeda, K. (2011). (-)-Pentazocine Induces Visceral Chemical Antinociception, But Not Thermal, Mechanical, or Somatic Chemical Antinociception, in μ -Opioid Receptor Knockout Mice. *Molecular Pain*. 79(4): 1744-8069.

- In, C. B.; Lee, S. J.; Sung, T. Y.; Cho, C. K. and Jee, Y. S. (2021). Effects of Chlorpheniramine Maleate on Catheter-Related Bladder Discomfort in Patients Undergoing Ureteroscopic Stone Removal: A Randomized Double-Blind Study. *International Journal of Medical Sciences*. 18(4): 1075.
- Jayaraj, A.; Balachander, H.; Kuppusamy, S. K.; Arusamy, S.; Rai, Y. and Siddiqui, N. (2019). Comparison of Meperidine, Tramadol and Fentanyl For Post-Spinal Shivering Prevention During Cesarean Delivery: A Double-Blind Randomized Controlled Trial. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 45(11): 2202-2208.
- Kalyan, U.; Bhushan, N. S.; Chiang, K.; Aparna, D. and Sunil, T. (2020). Efficacy of Tramadol Hydrochloride as Local Anaesthetic and Analgesic Agent for Extraction of Maxillary Teeth. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 14(6): 26-30.
- Kar, S.; Krishnan, A. and Mohankar, A. (2012). A Review of Antihistamines Used During Pregnancy. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 3(2): 105-108.
- Karamanacos, P. N. (2007). Can Chlorpheniramine Cause Serotonin Syndrome. *Singapore Medical Journal*. 48(5): 482.
- Karamanacos, P. N.; Pappas, P. and Marselos, M. (2004). Involvement of the Brain Serotonergic System in the Locomotor Stimulant Effects of Chlorpheniramine in Wistar Rats: Implication of Postsynaptic 5-HT_{1A} Receptors. *Behavioural Brain Research*. 148(1-2): 199-208.
- Kemal, S. O.; Sahin, S. and Apan, A. (2007). Comparison of Tramadol, Tramadol-Metamizol and Tramadol-Lornoxicam Administered by Intravenous PCA in Management of Postoperative Pain. *The Journal of the Turkish Society of Algology*. 19(4): 24-31.
- Khakpai, F.; Issazadeh, Y.; Rezaei, N. and Zarrindast, M. R. (2022). Enhanced Anxiolytic and Analgesic Effectiveness and/or a Better Safety Profile of Morphine and Tramadol Combination in Cholestatic and Addicted Mice. *Research square*. 14(8): 6-19.
- Khalilzadeh, H.; Azarpey, F. A. and Hazrati, R. (2017). The Effect of Histamine h₁ Receptor Antagonists on the Morphine-Induced Antinociception in the Acute Trigeminal Model of Nociception

- in Rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 10(1): 76-80.
- Kidd, B. L.; Langford, R. M. and Wodehouse, T. (2007). Arthritis and Pain. *Current Approaches in the Treatment of Arthritic Pain*. *Arthritis Research and Therapy*. 9(3): 1-7.
- Kilinc, L.; Cinar, S. and Turk, H. S. (2019). Prolonged Analgesic Efficacy of Articaine with the Addition of Tramadol in Axillary Brachial Plexus Block. *The Medical Bulletin of Sisli Etfal Hospital*. 53(1): 21.
- Kim, M. H.; Lee, S. M.; Lee, S. H.; Kwon, H. S.; Kim, S. H.; Cho, S. H. and Chang, Y. S. (2011). A Case of Chlorpheniramine Maleate-Induced Hypersensitivity with Aspirin Intolerance. *Allergy, Asthma and Immunology Research*. 3(1): 62-64.
- Kirchheiner, J.; Keulen, J. T. H.; Bauer, S.; Roots, I. and Brockmöller, J. (2008). Effects of the CYP2D6 Gene Duplication on the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Tramadol. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 28(1): 78-83.
- Korotchkina, L.; Kazyulkin, D.; Komarov, P. G.; Polinsky, A.; Andrianova, E. L.; Joshi, S. and Gudkov, A. V. (2020). OT-82, A Novel Anticancer Drug Candidate that Targets the Strong Dependence of Hematological Malignancies on NAD Biosynthesis. *Leukemia*. 34(7): 1828-1839.
- KuKanich, B. and Papich, M. G. (2011). Pharmacokinetics and Antinociceptive Effects of Oral Tramadol Hydrochloride Administration in Greyhounds. *American Journal of Veterinary Research*. 72(2): 256-262.
- Kumar, R.; Shakeel, A.; Gari, M. and Keshri, U. S. P. (2020). To Study the Antinociceptive Effect of Cinnarizine Alone and in Combination with Tramadol in Albino Rats by Tail Flick Method. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research*. 9(1): 45-50.
- Kuroda, T.; Nagata, S. I.; Takizawa, Y.; Tamura, N.; Kusano, K.; Mizobe, F. and Hariu, K. (2013). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of D-chlorpheniramine Following Intravenous and Oral Administration in Healthy Thoroughbred horses. *The Veterinary Journal*. 197(2): 433-437.

- Lagard, C.; Chevillard, L.; Malissin, I.; Risède, P.; Callebert, J.; Labat, L. and Mégarbane, B. (2016). Mechanisms of Tramadol-Related Neurotoxicity in the Rat: Does Diazepam/Tramadol Combination Play A Worsening Role in Overdose?. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 310(14): 108-119.
- Lalonde, R. and Strazielle, C. (2022). Neurochemical Anatomy of Dorsal and Tonic Immobility Responses. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 173334.
- Le Bars, D.; Gozariu, M. and Cadden, S. W. (2001). Animal Models of Nociception. *Pharmacological Reviews*. 53(4): 597-652.
- Lee, C. R.; Mc Tavish, D. and Sorkin, E. M. (1993). Tramadol: A Preliminary Review of Its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Potential in Various Acute and Chronic Pain States. *Drugs*. 46(9): 13.
- Leppert, W. (2009). Tramadol as an Analgesic for Mild to Moderate Cancer Pain. *Pharmacological Reports*. 61(6): 978-992.
- Liao, S.; Hill, J. F. and Nayak, R. K. (1992). Pharmacokinetics of Tramadol Following Single and Multiple Oral Doses in Man. *Pharmacology Research*. 9(Suppl): 308.
- Lidbrink, P.; Jonsson, G. and Fuxe, K. (1971). The Effect of Imipramine-Like Drugs and Antihistamine Drugs on Uptake Mechanisms in the Central Noradrenaline and 5-hydroxytryptamine Neurons. *Neuropharmacology*. 10(5): 521-530.
- Lin, J. G.; Lee, Y. C.; Tu, C. H.; MacDonald, I.; Chung, H. Y.; Luo, S. T. and Chen, Y. H. (2018). Histamine H1 Receptor Antagonists Facilitate Electroacupuncture Analgesia. *The American Journal of Chinese Medicine*. 46(01): 55-68.
- Lin, W. Y.; Cheng, Y. T.; Huang, Y. H.; Lin, F. S.; Sun, W. Z. and Yen, C. T. (2019). Synergistic Symptom-Specific Effects of Ketorolac-Tramadol and Ketorolac-Pregabalin in a Rat Model of Peripheral Neuropathy. *Journal of the Chinese Medical Association*. 82(6): 457-463.
- Lintz, W.; Barth, H.; Osterloh, G. and Schmidt-Böthelt, E. (1998). Pharmacokinetics of Tramadol and Bioavailability of Enteral Tramadol Formulations. 3rd Communication: Suppositories. *Arzneimittel-Forschung*. 48(9): 889-899.

- Lintz, W.; Beier, H. and Gerloff, J. (1999). Bioavailability of Tramadol After I.M. Injection in Comparison to I.V. Infusion. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 37(4): 175-183.
- Lis-Swiety, A. D. and Brzezińska-Wcisło, L. A. (2006). The Safety of the Antihistamines in Dermatoses of Pregnancy. *Wiadomosci Lekarskie*. 59(1-2): 89-91.
- Liu, P.; Sun, L.; Zhang, J. and Guo, R. C. (2014). An Evaluation of the Potential for Pharmacokinetic Interaction Between Tramadol and Cytochrome P450 2D6 Inhibitor Promethazine. *Advanced Materials Research*. 989. 1041-1043.
- Long, T.; Cristofolletti, R.; Cicali, B., Michaud, V.; Dow, P.; Turgeon, J. and Schmidt, S. (2022). Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Assess the Impact of CYP2D6-Mediated Drug-Drug Interactions on Tramadol and O-Desmethyltramadol Exposures via Allosteric and Competitive Inhibition. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 62(1): 76-86.
- Lyubashina, O. A. and Sivachenko, I. B. (2017). The 5-HT₄ Receptor-Mediated Inhibition of Visceral Nociceptive Neurons in the Rat Caudal Ventrolateral Medulla. *Neuroscience*. 359. 277-288.
- Mahdy, A. M. and Webster, N. R. (2011). Histamine and Antihistamines. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*. 12(7): 324-329.
- Mahmood, B. (2016). Explore the Synergism of Sedative Dose Medetomidine with Tramadol to Induce Analgesic Effects in Rabbits. *Basrah Journal of Veterinary Research*. 15(2): 97-110.
- Malonne, H.; Fontaine, J. and Moes, A. (2000). In Vitro/In Vivo Characterization of a Tramadol HCl Depot System Composed of Monoolein and Water. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 23(5): 627-631.
- Massey, C. A. and Richerson, G. B. (2017). Isoflurane, Ketamine-Xylazine, and Urethane Markedly Alter Breathing Even at Subtherapeutic Doses. *Journal of Neurophysiology*. 118(4): 2389-2401.
- Mattia, A.; Vanderah, T.; Raffa, R. B.; Vaught, J. L.; Tallarida, R. J. and Porreca, F. (1993). Characterization of the Unusual

- Antinociceptive Profile of Tramadol in Mice. *Drug Development Research*. 28(2): 176-182.
- Mbiantcha, M.; Almas, J.; Dawe, A.; Faheem, A. and Sidra, Z. (2018). Analgesic, Anti-Inflammatory and Anticancer Activities of Combretin A and Combretin B Isolated From *Combretum Fragrans* F. HOFFM Combretaceae Leaves. *Inflammopharmacology*. 26(6): 1429-1440.
- Meltzer, E. O.; Berman, G. D.; Corren, J.; Pedinoff, A. J.; Doyle, G.; Waksman, J. A. and Wason, S. (2004). Addition of Ibuprofen to Pseudoephedrine and Chlorpheniramine in the Treatment of Seasonal Allergic Rhinitis. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*. 93(5): 452-459.
- Merlos, M.; Portillo-Salido, E.; Brenchat, A.; Aubel, B.; Buxens, J.; Fisas, A. and Vela, J. M. (2018). Administration of a Co-crystal of Tramadol and Celecoxib in a 1:1 Molecular Ratio Produces Synergistic Antinociceptive Effects in a Postoperative Pain Model in Rats. *European Journal of Pharmacology*. 833. 370-378.
- Minami, K.; Ogata, J. and Uezono, Y. (2015). What is the Main Mechanism of Tramadol?. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 388(10): 999-1007.
- Miranda, H. F.; Noriega, V.; Zanetta, P.; Prieto, J. C.; Prieto-Rayó, J. C.; Aranda, N. and Sierralta, F. (2014). Isobolographic Analysis of the Opioid-Opioid Interactions in a Tonic and a Phasic Mouse Model of Induced Nociceptive Pain. *Journal of Biomedical Science*. 21(1): 1-9.
- Miranda, H. F.; Sierralta, F.; Aranda, N.; Poblete, P.; Noriega, V. and Prieto, J. C. (2018). Synergism Between Gabapentin-Tramadol in Experimental Diabetic Neuropathic Pain. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 32(6): 581-588.
- Mishra, A. K.; Sinha, R. R.; Tiwari, R. K.; Dhone, P. G.; Hishikar, R. and Rathod, V. (2020) Experimental Evaluation of Analgesic Activity of Flupirtine with Opioids on Swiss Albino Mice. *Acta Biomedica Scientia*. 2348. 2168.
- Miyata, S.; Hirano, S.; Ohsawa, M. and Kamei, J. (2011). Chlorpheniramine Exerts Anxiolytic-like Effects and Activates

- Prefrontal 5-HT Systems in Mice. *Psychopharmacology*. 213(2): 441-452.
- Mobarakeh, J. I.; Sakurada, S.; Hayashi, T.; Orito, T.; Okuyama, K.; Sakurada, T. and Yanai, K. (2002). Enhanced Antinociception by Intrathecally-Administered Morphine in Histamine H1 Receptor Gene Knockout Mice. *Neuropharmacology*. 42(8): 1079-1088.
- Mobarakeh, J. I.; Sakurada, S.; Katsuyama, S.; Kutsuwa, M.; Kuramasu, A.; Lin, Z. Y. and Yanai, K. (2000). Role of Histamine H1 Receptor in Pain Perception: A Study of the Receptor Gene Knockout Mice. *European Journal of Pharmacology*. 391(1-2): 81-89.
- Mohammad, F. K. (1999). Acute Neurotoxic Effects of Diphenhydramine in Mice. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 12. 43-50.
- Mohammad, F. K.; Mousa, Y. J. and Hasan, M. M. (2012). Acute Toxicity and Neurobehavioral Effects of Diphenhydramine in Chicks. *The Journal of Poultry Science*. 49(1): 51-56.
- Mohammed, F.K. and Omer, S.T. (1986) Behavioral and Developmental Effects in Rats Following in Utero Exposure to 2,4-D/2,4,5-T Mixture. *Neurobehavior Toxicology Teratology*. 1986(8): 551-560.
- Molinengo, L.; Fundarò, A. and Orsetti, M. (1989). The Effect of Chronic Atropine Administration on Mouse Motility and on ACh Levels in the Central Nervous System. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 32(4): 1075-1077.
- Molloy, A.G.; Aronstam, R.S. and Buccafusco, J.J. (1986). Selective Antagonism by Clonidine of the Stereotyped and Non-Stereotyped Motor Activity Elicited by Atropine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1986(25): 985-988.
- Morita, T.; Tei, Y.; Shishido, H. and Inoue, S. (2004). Chlorpheniramine Maleate as An Alternative to Antiemetic Cyclizine. *Journal of Pain and Symptom Management*. 27(5): 388-390.
- Mota, F. V.; Coutinho, F. N.; de Carvalho, V. M. F.; de Assis Correia, J. C.; Bastos, I. V. G. A.; Marcelino-Neto, P. P. and da Silva, T. G. (2022). Antinociceptive Effects of Aza-Bicyclic Isoxazoline-Acylhydrazone Derivatives in Different Models of Nociception

- in Mice. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 22(4): 247-258.
- Murao, S.; Manabe, H.; Yamashita, T. and Sekikawa, T. (2008). Intoxication with Over-The-Counter Antitussive Medication Containing Dihydrocodeine and Chlorpheniramine Causes Generalized Convulsion and Mixed Acidosis. *Internal Medicine*. 47(11): 1013-1015.
- Nakamura, M.; Minami, K.; Uezono, Y.; Horishita, T.; Ogata, J.; Shiraishi, M. and Sata, T. (2005). The Effects of the Tramadol Metabolite O-desmethyl Tramadol on Muscarinic Receptor-Induced Responses in *Xenopus* Oocytes Expressing Cloned M1 or M3 Receptors. *Anesthesia and Analgesia*. 101(1): 180-186.
- Nakhaee, S.; Hoyte, C.; Dart, R. C.; Askari, M.; Lamarine, R. J. and Mehrpour, O. (2021). A Review on Tramadol Toxicity: Mechanism of Action, Clinical Presentation, and Treatment. *Forensic Toxicology*. 39(2): 293-310.
- Ness, T. J. (1999). Models of visceral nociception. *ILAR Journal*. 40(3): 119-128.
- Okamura, N.; Yanai, K.; Higuchi, M.; Sakai, J.; Iwata, R.; Ido, T. and Itoh, M. (2000). Functional Neuroimaging of Cognition Impaired by a Classical Antihistamine, D-Chlorpheniramine. *British Journal of Pharmacology*. 129(1): 115.
- Okumura, T.; Nozu, T.; Ishioh, M.; Igarashi, S.; Kumei, S. and Ohhira, M. (2020). Adenosine A1 Receptor Agonist Induces Visceral Antinociception Via 5-HT1A, 5-HT2A, Dopamine D1 or Cannabinoid CB1 Receptors, and the Opioid System in the Central Nervous System. *Physiology and Behavior*. 220. 112881.
- Olson, K. M.; Duron, D. I.; Womer, D.; Fell, R. and Streicher, J. M. (2019). Comprehensive Molecular Pharmacology Screening Reveals Potential New Receptor Interactions for Clinically Relevant Opioids. *PloS one*. 14(6): e0217371.
- Ostadhadi, S.; Norouzi-Javidan, A.; Chamanara, M.; Akbarian, R.; Imran-Khan, M.; Ghasemi, M. and Dehpour, A. R. (2017). Involvement of NMDA Receptors in the Antidepressant-like

- Effect of Tramadol in the Mouse Forced Swimming Test. *Brain Research Bulletin*. 134. 136-141.
- Otutaha, B.; MacFater, W. S.; Xia, W.; Barazanchi, A. W.; Autagavaia, V. and Hill, A. G. (2020). Intraperitoneal Tramadol in Abdominal Surgery: A Systematic Review. *Journal of Surgical Research*. 247. 406-412.
- Owunari, G. U. and Chika, I. J. (2021). Effect of Chlorpheniramine on Acute Dichlorvos Poisoning in Wistar Rats. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 14(1): 154-160.
- Paar, W. D.; Poche, S.; Gerloff, J. and Dengler, H. J. (1997). Polymorphic CYP2D6 Mediates O-demethylation of the Opioid Analgesic Tramadol. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 53(3): 235-239.
- Parasrampur, R.; Vuppugalla, R.; Elliott, K. and Mehvar, R. (2007). Route-Dependent Stereoselective Pharmacokinetics of Tramadol and Its Active O-demethylated Metabolite in Rats. *Chirality: The Pharmacological, Biological, and Chemical Consequences of Molecular Asymmetry*. 19(3): 190-196.
- Pathirana, S.; Jayawardena, S.; Meeves, S. and Thompson, G. A. (2018). Brompheniramine and Chlorpheniramine Pharmacokinetics Following Single-Dose Oral Administration in Children Aged 2 to 17 Years. *The Journal of Clinical Pharmacology*- 58(4): 494-503.
- Payne, G. W. and Neuman, R. S. (1997). Effects of Hypomagnesemia on Histamine H1 Receptor-Mediated Facilitation of NMDA Responses. *British Journal of Pharmacology*. 121(2): 199.
- Petit-Demouliere, B.; Chenu, F. and Bourin, M. (2005). Forced Swimming Test in Mice: A Review of Antidepressant Activity. *Psychopharmacology*. 177(3): 245-255
- Petrie, A. and Watson, P. (2006). *Statistics for Veterinary and Animal Science*. 3Ed.
- Pinardi, G.; Pelissier, T. and Miranda, H. F. (1998). Interactions in the Antinociceptive Effect of Tramadol in Mice: An Isobolographic Analysis. *European Journal of Pain*. 2(4): 343-350.
- Porsolt, R. D.; Bertin, A. and Jalfre, M. J. A. I. P. (1977). Behavioral Despair in Mice: a Primary Screening Test For

- Antidepressants. *Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Therapie*. 229(2): 327-336.
- Poulsen, L.; Arendt-Nielsen, L.; Brosen, K. and Sindrup, S. H. (1996). The Hypoalgesic Effect of Tramadol in Relation to CYP2D6. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 60(6): 636-644.
- Puig, M. M.; Pol, O. and Warner, W. (1996). Interaction of Morphine and Clonidine on Gastrointestinal Transit in Mice. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*. 85(6): 1403-1412.
- Rabbani, A. H.; Hayat, K.; Qamar, A. G.; Gardezi, S. H.; Waheed, A.; Adil, M. F. and Waqas, M. (2020). The Comparative Efficacy of Nalbuphine and Tramadol in Controlling Postoperative Shivering in Rabbits. *Matrix Science Medica*. 4(1): 9.
- Raffa, R. B. (2001). Antihistamines as Analgesics. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 26(2): 81-85.
- Raffa, R. B.; Buschmann, H.; Christoph, T.; Eichenbaum, G.; Englberger, W.; Flores, C. M. and Tzschentke, T. M. (2012). Mechanistic and Functional Differentiation of Tapentadol and Tramadol. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 13(10): 1437-1449.
- Raffa, R. B.; Friderichs, E. L.; Reimann, W. O.; Shank, R. P.; Codd, E. E. and Vaught, J. L. (1992). Opioid and Nonopioid Components Independently Contribute to the Mechanism of Action of Tramadol, An 'Atypical' Opioid Analgesic. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 260(1): 275-285.
- Rebec, G.V. and Bashore, T.R. (1984). Critical Issues in Assessing the Behavioral Effects of Amphetamine. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 8(1):153-159
- Reichert, J. A.; Daughters, R. S.; Rivard, R. and Simone, D. A. (2001). Peripheral and preemptive opioid antinociception in a mouse visceral pain model. *Pain*. 89(2-3): 221-227.
- Riedl, M. S.; Schnell, S. A.; Overland, A. C.; Chabot-Doré, A. J.; Taylor, A. M.; Ribeiro-Da-Silva, A. and Stone, L. S. (2009). Coexpression of α 2A-Adrenergic and δ -Opioid Receptors in Substance P-containing Terminals in Rat Dorsal Horn. *Journal of Comparative Neurology*. 513(4): 385-398.

- Rizvi, S. A.; Ferrer, G.; Khawaja, U. A. and Sanchez-Gonzalez, M. A. (2022). Chlorpheniramine, an Old Drug with New Potential Clinical Applications: A Comprehensive Review of the Literature. *Current Reviews in Clinical and Experimental Pharmacology*. 17(6): 1-1.
- Rojas-Corrales, M. O.; Gibert-Rahola, J. and Micó, J. A. (1998). Tramadol Induces Antidepressant-Type Effects in Mice. *Life Sciences*. 63(12): 175-180.
- Roy, R.; Daula, A. S. U.; Akter, A.; Sultana, S.; Barek, M. A.; Liya, I. J. and Basher, M. A. (2019). Antipyretic and Anti-Nociceptive Effects of Methanol Extract of Leaves of *Fimbristylis Miliacea* in Mice Model. *Journal of Ethnopharmacology*. 243(3): 112080.
- Sahutoglu, C.; Kocabas, S. and Askar, F. Z. (2018). Tramadol Use in a Patient with Brugada Syndrome and Morphine Allergy: A Case Report. *Journal of Pain Research*. 11(7): 191-194.
- Sanchaniya, P. M.; Mehta, F. A. and Uchadadiya, N. B. (2013). Development and Validation of an RP-HPLC Method for Estimation of Chlorpheniramine Maleate, Ibuprofen, and Phenylephrine Hydrochloride in Combined Pharmaceutical Dosage Form. *Chromatography Research International*. 2013. 1-6
- Sanmukhani, J.; Anovadiya, A. and Tripathi, C. B. (2011). Evaluation of Antidepressant Like Activity of Curcumin and Its Combination with Fluoxetine and Imipramine: An Acute and Chronic Study. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 68(5): 769-775.
- Sansone, R. A. and Sansone, L. A. (2009). Tramadol: Seizures, Serotonin Syndrome, and Coadministered Antidepressants. *Psychiatry Edgmont*. 6(4): 17.
- Saraswathi, B.; Satyanarayana, T.; Mounika, K.; Swathi, G.; Sravika, K. and Krishna, M. M. (2018). Formulation and Characterization of Tramadol HCl Transdermal Patch. *Evaluation*. 1(1): 1.
- Satyanarayana, P. S.; Jain, N. K.; Singh, A. and Kulkarni, S. K. (2004). Isobolographic Analysis of Interaction Between Cyclooxygenase Inhibitors and Tramadol in Acetic Acid-Induced Writhing in Mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 28(4): 641-649.

- Savadkoohi, H. and Vesal, N. (2019). The Analgesic Interaction of Tramadol and Morphine in Rats: An Isobolographic Study. In Veterinary Research Forum Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University Iran. 10(1): 31
- Sawynok, J.; Reid, A. R. and Liu, J. (2013). Spinal and Peripheral Adenosine A1 Receptors Contribute to Antinociception by Tramadol in the Formalin Test in Mice. *European Journal of Pharmacology*. 714(1-3): 373-378.
- Schifano, F.; Chiappini, S.; Miuli, A.; Mosca, A.; Santovito, M. C.; Corkery, J. M. and Martinotti, G. (2021). Focus on Over-The-Counter Drugs' Misuse: A Systematic Review on Antihistamines, Cough Medicines, and Decongestants. *Frontiers in Psychiatry*. 12. 657397.
- Schuller, D. E. and Turkewitz, D. (1986). Adverse Effects of Antihistamines. *Postgraduate Medicine*. 79(2): 75-86.
- Scott, D. W. and Miller Jr, W. H. (1999). Antihistamines in the Management of Allergic Pruritus in Dogs and Cats. *Journal of Small Animal Practice*. 40(8): 359-364.
- Scott, L. J. and Perry, C. M. (2000). Tramadol. *Drugs*. 60(1): 139-176.
- Sengupta, J. N.; Mickle, A.; Kannampalli, P.; Spruell, R.; McRorie, J.; Shaker, R. and Miranda, A. (2014). Visceral Analgesic Effect of 5-HT4 Receptor Agonist in Rats Involves the Rostroventral Medulla (RVM). *Neuropharmacology*. 79(9): 345-358.
- Shaban, K. A. (2013). The Analgesic and Neurobehavioral Effects of Dipyrone or Tramadol and Their Interaction with Xylazine in Chicks Model. MS.c. thesis, mosul university, mosul, Iraq. 76-92.
- Shah, D. D. and Sorathia, Z. H. (2020). Tramadol/Diclofenac Fixed-Dose Combination: A Review of Its Use in Severe Acute Pain. *Pain and Therapy*. 9(1): 113-128.
- Shakiba, S.; Rajai, N.; Qaempanah, M.; Haddadi, N. S.; Norouzi-Javidan, A.; Akbarian, R. and Dehpour, A. R. (2018). Pharmacological Profile for the Contribution of NO/cGMP Pathway on Chlorpheniramine Antidepressant-Like Effect in Mice Forced Swim Test. *Acta Medica Iranica*. 498-507.
- Sharma, A. P.; Sharma, G.; Tyagi, S.; Devana, S. K.; Mavuduru, R. S.; Bora, G. S. and Singh, S. K. (2021). Safety and Efficacy of

- “On-Demand” Tramadol in Patients with Premature Ejaculation: An Updated Meta-Analysis. *International Brazilian Journal of Urology*. 47. 921-934.
- Shiraishi, M.; Minami, K.; Uezono, Y.; Yanagihara, N. and Shigematsu, A. (2001). Inhibition by Tramadol of Muscarinic Receptor-Induced Responses in Cultured Adrenal Medullary Cells and in *Xenopus laevis* Oocytes Expressing Cloned M1 Receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 299(1): 255-260.
- Shiraishi, M.; Minami, K.; Uezono, Y.; Yanagihara, N.; Shigematsu, A. and Shibuya, I. (2002). Inhibitory Effects of Tramadol on Nicotinic Acetylcholine Receptors in Adrenal Chromaffin Cells and in *Xenopus* Oocytes Expressing $\alpha 7$ Receptors. *British Journal of Pharmacology*. 136(2): 207.
- Shishido, S.; Oishi, R. and Saeki, K. (1991). In Vivo Effects of Some Histamine H1-receptor Antagonists on Monoamine Metabolism in the Mouse Brain. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 343(2): 185-189.
- Simons, F. E. R. (2004). Advances in H1-Antihistamines. *New England Journal of Medicine*. 351(21): 2203-2217.
- Simons, F. E. R. and Simons, K. J. (2011). Histamine and H1-Antihistamines: Celebrating a Century of Progress. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 128(6): 1139-1150.
- Sloan, V. S.; Jones, A.; Maduka, C. and Bentz, J. W. (2019). A benefit Risk Review of Pediatric Use of Hydrocodone/Chlorpheniramine, A prescription Opioid Antitussive Agent for the Treatment of Cough. *Drugs-Real World Outcomes*. 6(2): 47-57.
- Smith, J. S.; Schleining, J. and Plummer, P. (2021). Pain Management in Small Ruminants and Camelids: applications and strategies. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*. 37(1): 17-31.
- Smith, R. L. and Meyer, M. E. (1985). Morphine and Naloxone Effects on Tonic Immobility and the Dorsal Immobility Response in the Rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 22(4): 505-507.
- Solmaz, F. A. and Kovalak, E. (2018). Comparison of Tramadol/Acetaminophen Fixed-dose Combination, Tramadol,

- and Acetaminophen in Patients Undergoing Ambulatory Arthroscopic Meniscectomy. *Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica*. 52(3): 222-225.
- Soomro, F.; Kazi, N.; Rajput, A. H. and Memon, S. (2022). Antidepressant and Anxiolytic Effect of Tramadol as Compared to Imipramine, in Acute and Chronic Dosage in Rats: Antidepressant and Anxiolytic Effects of Tramadol and Imipramine. *Journal of Aziz Fatimah Medical and Dental College*. 4(1): 7-10.
- Stamer, U. M.; Lee, E. H.; Rauters, N. I.; Zhang, L.; Kleine-Brueggeney, M.; Fimmers, R. and Musshoff, F. (2011). CYP2D6-and CYP3A-dependent Enantioselective Plasma Concentrations of Ondansetron in Postanesthesia Care. *Anesthesia and Analgesia*. 113(1): 48-54.
- Stevens, A. J.; Woodman, R. J. and Owen, H. (2015). The Effect of Ondansetron on the Efficacy of Postoperative Tramadol: A systematic Review and Meta Analysis of a Drug Interaction. *Anaesthesia*. 70(2): 209-218.
- Subedi, M.; Bajaj, S.; Kumar, M. S. and Mayur, Y. C. (2019). An Overview of Tramadol and its Usage in Pain Management and Future Perspective. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 111. 443-451.
- Subrahmanyam, V.; Renwick, A. B.; Walters, D. G.; Young, P. J.; Price, R. J.; Tonelli, A. P. and Lake, B. G. (2001). Identification of Cytochrome P-450 Isoforms Responsible for Cis-Tramadol Metabolism in Human Liver Microsomes. *Drug Metabolism and Disposition*. 29(8): 1146-1155.
- Sun, C. L.; Hui, F. W. and Hanig, J. P. (1985). Effect of H1 Blockers Alone and in Combination with Morphine to Produce Antinociception in Mice. *Neuropharmacology*. 24(1): 1-4.
- Sun, H.; Xia, M.; Austin, C. P. and Huang, R. (2012). Paradigm Shift in Toxicity Testing and Modeling. *The American Association of Pharmaceutical Scientists journal*. 14(3): 473-480.
- Symeon, I.; Polissidis, A.; Balafas, E.; Stasinopoulou, M.; Alexakos, P.; Voyiatzaki, C. and Kostomitsopoulos, N. (2017). Evaluation of the Effects of tramadol on Analgesic Response and Locomotor

- Activity on Two Different Strains of Laboratory Mice. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 68(1): 89-96.
- Takahashi, M.; Shima, K.; Tsuchiya, M.; Hagiwara, Y.; Mizoguchi, H.; Sakurada, S. and Endo, Y. (2016). Analgesic Effects of 1st Generation Anti-histamines in Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 39(4): 620-624.
- Tallarida, R. J. (2002). The Interaction Index: A measure of Drug Synergism. *Pain*. 98(1-2): 163-168.
- Tao, Q.; Stone, D. J.; Borenstein, M. R.; Codd, E. E.; Coogan, T. P.; Desai-Krieger, D. and Raffa, R. B. (2002). Differential Tramadol and O-desmethyl Metabolite Levels in Brain vs. Plasma of Mice and Rats Administered Tramadol Hydrochloride Orally. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 27(2): 99-106.
- Taqa, G. A. (2012). Synergism of the Analgesic Activities of Tramadol with α_2 Adrenoreceptor Agonist Xylazine in Mice. *Iraqi journal of Veterinary Science*. 26(2): 109-113.
- Taqa, G. A. (2013). Evaluation of Antidepressant Activity of Diphenhydramine in Mice. *Innovare Journal of Medical Science*. 1(2): 15-18.
- Tayal, V.; Kalra, B. S. and Chawla, S. (2008). Evaluation of Antidepressant Activity of Tramadol in Mice. *Indian Journal of Pharmacology*. 40(3): 129.
- Tegeder, I.; Lötsch, J. and Geisslinger, G. (1999). Pharmacokinetics of Opioids in Liver Disease. *Clinical Pharmacokinetics*. 37(1): 17-40.
- Thiels, C. A.; Habermann, E. B.; Hooten, W. M. and Jeffery, M. M. (2019). Chronic Use of Tramadol After Acute Pain Episode: Cohort Study. *Bmj*. 365.
- Timmerman, H. (1999). Why are Non-Sedating Antihistamines Non-Sedating?. *Clinical and Experimental Allergy*. 29. 13-18.
- Ting, E.; Roveroni, R. C.; Ferrari, L. F.; Lotufo, C. M.; Veiga, M. C. F.; Parada, C. A. and Tambeli, C. H. (2007). Indirect Mechanism of Histamine-Induced Nociception in Temporomandibular Joint of Rats. *Life Sciences*. 81(9): 765-771.
- Treede, R. D. (2018). The International Association for the Study of Pain Definition of Pain: as valid in 2018 as in 1979, but in need of regularly updated footnotes. *Pain Reports*. 3(2).

- Tsuneyoshi, Y.; Tomonaga, S.; Asechi, M.; Morishita, K.; Denbow, D. M. and Furuse, M. (2007). Central Administration of Dipeptides, Beta-Alanyl-BCAAs, Induces Hyperactivity in Chicks. *BMC Neuroscience*. 8(1): 1-6.
- Tzeng, J. I.; Lin, H. T.; Chen, Y. W.; Hung, C. H. and Wang, J. J. (2015). Chlorpheniramine Produces Spinal Motor, Proprioceptive and Nociceptive Blockades in Rats. *European Journal of Pharmacology*. 752. 55-60.
- Tzvetkov, M. V.; Saadatmand, A. R.; Lötsch, J.; Tegeder, I.; Stingl, J. C. and Brockmöller, J. (2011). Genetically Polymorphic OCT1: another Piece in the Puzzle of the Variable Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of the Opioidergic Drug Tramadol. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 90(1): 143-150.
- Uddin, M.; Ali Reza, A. S. M.; Abdullah-Al-Mamun, M.; Kabir, M. S.; Nasrin, M.; Akhter, S. and Rahman, M. (2018). Antinociceptive and Anxiolytic and Sedative Effects of Methanol Extract of *Anisomeles Indica*: An Experimental Assessment in Mice and Computer Aided Models. *Frontiers in pharmacology*. 9. 246.
- Udegbunam, R. I.; Onuba, A. C.; Okorie-Kanu, C.; Udegbunam, S. O.; Anyanwu, M. U. and Ifeanyi, O. L. (2015). Effects of Two Doses of Tramadol on Pain and Some Biochemical Parameters in Rabbits Post-gastrotomy. *Comparative Clinical Pathology*. 24(4): 783-790.
- Vazzana, M.; Andreani, T.; Fangueiro, J.; Faggio, C.; Silva, C.; Santini, A. and Souto, E. B. (2015). Tramadol Hydrochloride: Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, Adverse Side Effects, Co-administration of Drugs and New Drug Delivery Systems. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 70. 234-238.
- Vivek, D. A. V. E.; Yadav, R. B.; Ahuja, R. and Sahu, A. K. (2017). Formulation and Evaluation of Orally Dispersible Tablets of Chlorpheniramine Maleate by Fusion Method. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 21(1): 67-77.
- Viviana, N.; Fernando, S.; Ramón, S. Z. and Carlos, P. J. (2020). Pharmacological Approach to Mechanism of Action of Tramadol in Murine Nociception and Inflammation

- Assays. World Journal of Advanced Research and Reviews. 6(2): 030-036.
- Voicu, V. A.; Mircioiu, C.; Plesa, C.; Jinga, M.; Balaban, V.; Sandulovici, R. and Mircioiu, I. (2019). Effect of A new Synergistic Combination of Low Doses of Acetylsalicylic Acid, Caffeine, Acetaminophen, and Chlorpheniramine in Acute Low Back Pain. *Frontiers in Pharmacology*. 10. 607.
- Voicu, V. A.; Mircioiu, I.; Sandulovici, R.; Mircioiu, C.; Plesa, C.; Velescu, B. S. and Anuta, V. (2017). Chlorpheniramine Potentiates the Analgesic Effect in Migraine of Usual Caffeine, Acetaminophen, and Acetylsalicylic Acid Combination. *Frontiers in Pharmacology*. 8. 758.
- Westover, J. B.; Ferrer, G.; Vazquez, H.; Bethencourt-Mirabal, A. and Go, C. C. (2020). In Vitro Virucidal Effect of Intranasally Delivered Chlorpheniramine Maleate Compound Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Cureus*. 12(9).
- Wu, H. and Wu, G. (2016). In Response: The Cause of Fatal Respiratory Depression Is Combination of Clindamycin and Fentanyl, Rather than Tramadol. *Pain Physician*. 19(2): 362-362.
- Wu, W. N.; McKown, L. A., and Liao, S. (2002). Metabolism of the Analgesic Drug ULTRAM®(Tramadol Hydrochloride) in Humans: API-MS and MS/MS Characterization of Metabolites. *Xenobiotica*. 32(5): 411-425.
- Wu, W. N.; McKown, L. A.; Gauthier, A. D.; Jones, W. J. and Raffa, R. B. (2001). Metabolism of the Analgesic Drug, Tramadol Hydrochloride, in Rat and Dog. *Xenobiotica*. 31(7): 423-441.
- Xie, H.; Dong, Z. Q.; Ma, F.; Bauer, W. R.; Wang, X. and Wu, G. C. (2008). Involvement of Serotonin 2A Receptors in the Analgesic Effect of Tramadol in Mono-Arthritic Rats. *Brain Research*. 1210. 76-83.
- Yasuda, S. U.; Wellstein, A.; Likhari, P.; Barbey, J. T. and Woosley, R. L. (1995). Chlorpheniramine Plasma Concentration And Histamine H1 Receptor Occupancy. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 58(2). 210-220.
- Yasuda, S. U.; Zannikos, P.; Young, A. E.; Fried, K. M.; Wainer, I. W. and Woosley, R. L. (2002). The Roles of CYP2D6 and

- Stereoselectivity in the Clinical Pharmacokinetics of Chlorpheniramine. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 53(5): 519-525.
- Yeh, S. Y. (1986). The Effect of Antihistaminic Drugs on Pentazocine Antinociception in the Rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 24(4): 925-930.
- Yehya, A.; Numan, M. and Matalqah, L. (2021). No Time for Lullabies: Tracing down Pharmacological Effects and Uses of H1-Antihistamines in Children Younger than 6 Years. *Global Pediatric Health*. 8. 2333794X21992170.
- Yuan, X.; Wu, J.; Wang, Q. and Xu, M. (2014). The Antinociceptive Effect of Systemic Administration of a Combination of Low-Dose Tramadol and Dexmedetomidine in a Rat Model of Bone Cancer Pain. *European Journal of Anaesthesiology*. 31(1): 30-34.
- Zanboori, A.; Tamaddonfard, E. and Mojtahedein, A. (2008). Effects of Chlorpheniramine and Nanitidine on the Visceral Nociception Induced by Acetic Acid in Rats: Role of Opioid System. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 11(20): 2428-32.
- Zehnder, J.; Katzung, S. M. and Trevor, A. (2009). *Basic and Clinical Pharmacology*. McGraw-Hill Medical. New York. 13th Ed.
- Zendehdel, M.; Torabi, Z. and Hassanpour, S. (2015). Antinociceptive Mechanisms of Bunium Persicum Essential Oil in the Mouse Writhing Test: Role of Opioidergic and Histaminergic Systems. *Veterinari Medicina*. 60(2).
- Zenick, H. (1983). Use of Pharmacological Challenges to Disclose Neurobehavioral Deficits. In *Federation Proceedings*. 42(15): 3191-3195
- Zhang, H.; Zhao, Y.; Wang, X. and Zhang, Q. (2014). Bioavailability of Tramadol Hydrochloride After Administration Via Different Routes in Rats. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*. 35(9): 525-531.
- Zhang, S.; Guan, D. W.; Wang, L.; Wang, H. X.; Zhang, G. H.; Zhao, R. and Fan, Y. Y. (2011). The Expression of GABA (A) Receptor Alpha1 and GABA (B) Receptor 1 in Medulla Oblongata

Solitary Nucleus and Ambiguous Nucleus in the Cases of Tramadol Intoxication. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 27(6). 401-404.

Ziapor, B.; Motamed, H.; Verki, M. M. and Norani, H. (2017). Comparison of Effect of Morphine-Chlorpheniramine Combined Versus Morphine Alone in Alleviating Acute Renal Colic Pain: A Randomized Clinical Trail. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 12(3).

الملحق 1 جدول قياس الجرعة الفاعلة والمميئة الوسطية (الجف₅₀ والجم₅₀)
(Dixon, 1980)

الجزء الثاني من السلسلة	K تمثل سلسلة الاختبارات التي تبدأ كما يأتي					الخطأ القياسي للجف ₅₀ و الجم ₅₀
	O	OO	OOO	OOOO		
XOOO	0,157-	0,154-	0,154-	0,154-	OXXX	0,61
XOOX	0,878-	0,861-	0,860-	0,860-	OXXO	
XOXO	0,701	0,737	0,741	0,741	OXOX	
XOXX	0,084	0,169	0,181	0,182	OXOO	
XXOO	0,305	0,372	0,380	0,381	OOXX	
XXOX	0,305-	0,169-	0,144-	0,142-	OOXO	
XXXO	1,288	1,500	1,544	1,549	OOOX	
XXXX	0,555	0,897	0,985	1,000	OOOO	
	X	XX	XXX	XXXX		الجزء الثاني من السلسلة
	-K تمثل سلسلة الاختبارات التي تبدأ كما يأتي					

$$ED_{50} = xf + kd$$

$$LD_{50} = xf + kd$$

إذ تمثل :

ED_{50} : الجرعة الفاعلة الوسطية (الجف₅₀)

LD_{50} : الجرعة المميئة الوسطية (الجم₅₀)

xf : الجرعة الأخيرة المستخدمة في التجربة

k : مقدار القيمة الجدولية المستخرجة من الجدول

d : مقدار الزيادة والنقصان (الثابت) في الجرعة المعطاة

Abstract

The potential benefit of employing combination medication includes the capacity to boost therapeutic effects while reducing related side effects. Analgesic medications were therefore used as combinations to have synergistic analgesic effects. Lowering dosage requirement and lesser side effects. So that the objective of our current study was to quantitatively and qualitatively assess the type of drug interaction between tramadol (a conventional opioid analgesic) and chlorpheniramine (H₁ antihistamine) at the analgesic level of thermal (hot plate) and visceral (writhing reflex) pain in mice model.

Using the dose-up and down approach and hot plate device, the median effective dose of tramadol and chlorpheniramine each alone administered intraperitoneally was 12.08 and 18.48 mg/kg body weight, respectively. The animals displayed sedation and immobility whereas the individual lethal dose of tramadol and chlorpheniramine was 145.85 and 92.38 mg/kg body weight, respectively using the same approach.

Depending on the LD₅₀ and ED₅₀ of tramadol and chlorpheniramine the safety margin (T.I) of tramadol 12 was higher than that of chlorpheniramine.

The type of interaction between the two drugs was synergistic at the antinociceptive level of acute thermal pain, and this was confirmed by injecting a fixed dose of chlorpheniramine which result in a reduction in the ED₅₀ of tramadol to 3.15 mg i.p. using multiple doses of tramadol and depending on up and down approach.

The synergistic interaction between the two drugs was confirmed using different ratios of ED₅₀ for each drug and administered simultaneously, which resulted in a reduction in the ED₅₀ dose of

tramadol and chlorpheniramine 59 and 59 % respectively when they were injected simultaneously at a ratio of 0.5:0.5 and by 54 , 54 % at ratio 1:1 of ED₅₀ for each according to isobolographic analysis and Y value.

When the two drugs were injected simultaneously at a double dose of ED₅₀ each, the interaction was synergistic at the level of visceral pain, represented by 100% prevention of writhing caused by I.P. injection of acetic acid in writhing reflex when compared to the control group and the group treated with each alone.

Multiple intraperitoneal doses of tramadol at 6, 12, and 24 mg/kg produce dose-dependent analgesia at the hot plate in mice. The optimum analgesic dose for pain was 24 mg/kg which recorded a maximal pain reduction 58% at 30 minutes after injection and the analgesia lasted up to 4 hours after injection.

While the dose of chlorpheniramine 36.8 mg/kg I.P. was the best analgesic dose which recorded the best analgesic effect at 30 minutes of injection and analgesia persist for 50 minutes after injection.

Simultaneously intraperitoneal injection of tramadol and chlorpheniramine at sub-analgesic (3 & 4) mg/kg, respectively successful in producing 100% analgesia compared to control & with each drug alone at the same dose with no concomitant side effects.

Intraperitoneal injection of tramadol and chlorpheniramine at (3 & 4) mg/kg, respectively significantly inhibit motor activity in the open field, increased the time needed to complete the negative geotaxis test, and increased the time of dorsal immobility response compared to the control group. While simultaneously I.P. injection of two drugs at the same doses significantly increased the inhibitory effect on the level of

neurobehavioral and motor activity compared to control and with each drug alone.

In the pharmacological challenge test I.P. administration of tramadol and chlorpheniramine alone or together at (3 & 4) mg/kg, respectively induced significantly increased the duration of sleep induced by Ketamine and Xylazine compared to control group (Ketamine and Xylazine alone) whereas simultaneously I.P. injection of two drugs at the same doses significantly decreased the time of onset of sleep compared to the control and each drug alone.

The anti-depressant effect of tramadol and chlorpheniramine combination at a double dose of ED₅₀ of each was better than simultaneously administration of two drugs at individual ED₅₀ as significantly reduced the accumulation time of immobility in forced swimming test and tail suspension test compared to control group and each drug alone.

The current study concluded that the pharmacological interaction between tramadol and chlorpheniramine was synergistic on the analgesic level of thermal and visceral pain and the inhibitory effect on the level of neurobehavioral and motor activity as well as the anti-depressant effect.

The combination of two drugs at sub-analgesic doses provides excellent analgesia with no side effects in the animals and this could be useful in clinical trials on farm animals.

The Pharmacological Interaction between Tramadol and Chlorpheniramine on the Level of Analgesia and Neurobehavior in Mice Model

A thesis submitted
By
Ali Ismael Dhannoon

To
The Council of the College of Veterinary Medicine
University of Mosul
In
Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
In

Veterinary Medicine / Veterinary Pharmacology and Toxicology

Supervised by
professor
Dr. Gada Abdul-munem Faris

2023 A.D.

1444 A.H.

**University of Mosul
College of veterinary medicine**



**The Pharmacological Interaction between
Tramadol and Chlorpheniramine on the Level of
Analgesia and Neurobehavior in Mice Model**

Ali Ismael Dhannoon

**M.Sc. Thesis
Veterinary Medicine / Veterinary Pharmacology and
Toxicology**

**Supervised by
Professor
Dr. Gada Abdul-munem Faris**

2023 A.D.

1444 A.H.