

بررسی اثر عصاره متانولی سنبل الطیب (*Valeriana officinalis*) بر تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری

دکتر محمودرضا حیدری^۱ و دکتر فرشید رازبان^۲

خلاصه

اثرات گیاه سنبل الطیب بر سلسله اعصاب، از دیرباز شناخته شده است. در مطالعه حاضر، اثر ضد تشنجی عصاره متانولی این گیاه در موش سوری بررسی گردیده است. برای ایجاد تشنج از پیکروتوکسین با دوزهای ۶ و ۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد. اثر دوزهای متفاوت عصاره در تغییر زمان شروع حملات ارزیابی شده و میزان بروز حملات تونیک، کلونیک و مرگ ناشی از تشنج نیز بعد از دریافت عصاره مشخص گردید. تزریق داخل صفاقی دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره، باعث به تعویق افتادن زمان شروع حملات در موش‌هایی شد که دوزهای ۶ و ۱۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم پیکروتوکسین را ۲۰ دقیقه بعد از تزریق عصاره دریافت نموده بودند. زمان شروع حملات تونیک در موش‌هایی که دوز ۶ میلی گرم بر کیلوگرم پیکروتوکسین را دریافت کرده بودند از ۱۰/۵۸ به ۱۵ دقیقه ($P < ۰/۰۵$) و در مورد دوز ۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم از ۵/۸۷ به ۱۰/۸۲ دقیقه افزایش یافت که نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < ۰/۰۱$). میزان بروز حملات کلونیک و مرگ نیز در این گروه از حیوانات کاهش یافت (به ترتیب $P < ۰/۰۱$ ، $P < ۰/۰۵$). بنابراین به نظر می‌رسد که سنبل الطیب دارای مواد مؤثره ضد تشنجی است که بر حملات عمومی تونیک، کلونیک و تونیک - کلونیک اثر زیادی دارد و دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم آن قادر به ایجاد غلظت خونی موثر برای اثر ضد تشنجی در موش سوری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سنبل الطیب، تشنج، پیکروتوکسین، موش سوری

۱- دانشیار فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان ۲ - دکتر داروساز

دریافت مقاله: ۱۳۸۱/۷/۱ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۲/۴/۱ پذیرش مقاله: ۱۳۸۲/۵/۱۵

مقدمه

تعداد کثیری از افراد نامی جهان همچون الکساندر کبیر، ژولیوس سزار، ناپلئون، داستایوفسکی، ون گوگ که هر کدام دارای قوی ترین زمینه های فکری و عملی در زمان خود بوده اند، مبتلا به صرع بوده اند. صرع وضعیت ناتوان کننده ای است که با حملاتی با شدت و فرکانس کافی می تواند در تمام جنبه های زندگی روزمره اثر بگذارد. از آن بدتر، تشنجات کنترل نشده می تواند منجر به تغییرات تخریبی بازگشت ناپذیری در مغز گردند (۲۵، ۱۱، ۲). صرع یکی از عمومی ترین مشکلات عصبی مردم جهان در تمام اعصار بوده است. حدود ۱٪ مردم دنیا مبتلا به صرع هستند و صرع بعد از سکته مغزی شایع ترین بیماری عصبی می باشد (۵). اگر چه با درمان استاندارد در ۸۰٪ موارد می توان حملات تشنج را کنترل نمود، ولی میلیون ها نفر (که فقط ۵۰۰ هزار نفر آنها در آمریکا هستند) صرع کنترل نشده دارند (۵). اولین متن در مورد صرع حدود ۴۰۰ سال قبل از میلاد نگاشته شده و نشان می دهد که یونانیان، صرع را ناشی از غلبه خدایان بر فرد می دانسته اند. در انجیل نیز به درمان صرع با خارج کردن ارواح خبیثه از تن اشاره شده است (۲). اولین گام ها در درمان علمی صرع توسط گیاهان طبی و حجامت صورت گرفت و ایرانیان در این پیشرفت سهم بزرگی داشته اند (۱۱، ۲). درمان صرع قبل از کشف و توسعه داروهای ضد صرع شامل سوراخ کردن جمجمه، حجامت، مصرف داروهای گیاهی و حیوانی بوده است. فنوباریتال، نخستین بار در سال ۱۹۱۲ برای درمان صرع مورد استفاده قرار گرفت (۵). در سال ۱۹۳۸ تأثیر فنی توئین در درمان تشنج تجربی در گربه ها مشاهده شد (۱۹، ۵).

برای مدت طولانی تصور می شد که می توان با دسترسی به یک دارو، تمام انواع صرع را درمان کرد. امروزه بعید به نظر می رسد که بتوان با یک دارو انواع متعدد صرع را درمان نمود. زیرا که ممکن است بیش از یک مکانیسم مسئول انواع تشنج باشد، و لذا داروی مفید برای درمان یک

نوع تشنج ممکن است انواع دیگر را بدتر کند (۵). عامل محدود کننده دیگر در مصرف داروهای ضد صرع، عوارض جانبی و ناخواسته آنهاست. این امر به علت نیاز بیماران به مصرف طولانی و مداوم و متعدد داروها، اهمیت بیشتری می یابد (۱۱). لذا در سال های اخیر دوباره توجه خاصی به طب سنتی و داروهای گیاهی، با هدف دست یافتن به روش های درمانی مؤثر و بی خطر و داروهایی با حداقل عوارض جانبی، شده است. در بررسی منابع اطلاعاتی در مورد اثر ضد تشنجی گیاهان دارویی ادعاهایی وجود دارد (۷، ۴، ۱) که در مورد بعضی از آنها مانند بادرنجبویه، میخک و باریجه تحقیقات علمی صورت گرفته و در قالب مقالاتی به چاپ رسیده است (۲۹، ۲۴، ۶).

سنبل الطیب از معدود گیاهانی است که در مورد اثرات آن بر سیستم عصبی مطالب زیادی وجود دارد و اکنون به عنوان یک داروی گیاهی رسمی با اثر آرام بخش، در بسیاری از فارماکوپه های معتبر جهان همچون فارماکوپه های انگلیس، هلند و اروپا پذیرفته شده است (۹، ۸). در تعدادی از منابع طب سنتی به اثرات ضد تشنجی این گیاه اشاره شده، بدون آنکه مدارک علمی و معتبر در تأیید این مطلب، عنوان شده باشد (۲۶، ۲۱، ۲۰، ۱۸، ۴، ۱). مطالعات کتاب شناختی در بانک های مختلف اطلاعاتی نیز عدم وجود چنین تحقیقاتی را تأیید می نماید. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر عصاره متانولی گیاه سنبل الطیب بر تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری می باشد تا پایه علمی اولیه برای اظهار نظر در مورد اثرات ادعا شده در مورد این گیاه باشد.

مواد و روش ها

۱- گیاه

گیاه مورد استفاده در این مطالعه، سنبل الطیب با نام علمی *Valeriana officinalis L* از خانواده *Valerianaceae* می باشد. این گیاه در انگلیس به *Valerian* موسوم است. والرین شامل ریزوم، ساقه و ریشه گیاه مذکور می باشد (۳، ۹، ۱، ۸). این گیاه از شرکت داروهای گیاهی زردبند تهران تهیه شد و جنس و گونه آن به تأیید بخش گیاه شناسی دانشکده کشاورزی کرمان رسید.

۲- حیوانات

در این تحقیق از موش سوری سفید از جنس نر با سن حدود ۵-۶ هفته و وزن بین ۲۲ تا ۲۸ گرم استفاده شده است. این موش‌ها از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی واقع در حصارک کرج تهیه شدند. موش‌ها به بخش نگهداری حیوانات منتقل گشته و پس از استقرار در محیط جدید تا مدت ۲۴ ساعت هیچ نوع آزمایشی روی آنها انجام نمی‌گرفت. حیوانات به استثنای زمان آزمایش به راحتی به آب و غذا دسترسی داشتند. رژیم غذایی موش‌ها شامل غذای آماده ساخت کارخانه خوراک دام پارس و آب تصفیه شده شهری بود و از سیکل ۱۲ ساعت روشنایی - ۱۲ ساعت تاریکی برخوردار بودند. حیوانات به طور جمعی نگهداری می‌شدند و فقط در روز آزمایش حداقل یک ساعت قبل از شروع، در قفس‌های انفرادی جای داده می‌شدند. درجه حرارت آزمایشگاه در حد ۲۵-۲۲ درجه سانتیگراد نگهداشته می‌شد و از هر موش فقط در یک آزمایش استفاده می‌گردید (۶، ۲۹).

۳- مواد

از متانول مرک آلمان، جهت عصاره‌گیری، صمغ عربی مرک آلمان به عنوان پخش‌کننده، نرمال سالین شرکت سرم‌سازی ثامن به عنوان حلال، پیکروتوکسین سیگمای انگلستان به عنوان داروی تشنج‌زا، فنوباریتال شرکت داروپخش به عنوان داروی درمانگر تشنج و عصاره متانولی گیاه سنبل‌الطیب استفاده شد.

پیکروتوکسین که آنتاگونیست غیررقابتی گیرنده‌های GABA_A می‌باشد، در دوزهای بالا باعث تحریک سیستم عصبی مرکزی و تشنج می‌شود (۱۷). این دارو با ایجاد صرع در حیوانات آزمایشگاهی، مدل حیوانی مناسبی برای بررسی اثرات ضد تشنجی داروها ایجاد می‌نماید (۱۱، ۱۵).

۴- استخراج و تهیه مواد مؤثره گیاه

مواد مؤثره موجود در سنبل‌الطیب از گروه روغن‌های اساسی یا فرار می‌باشند. این مواد، فرار و معطر بوده و حاوی الکل‌های ترپن، آلدئیدها، کتون‌ها و استرها (بیش از ۹۰ درصد) و یا مشتقات فیل پروپان و غالباً در اتانول محلول می‌باشند ولی به میزان بسیار محدودی در آب حل می‌شوند (۳۰).

در این تحقیق عصاره‌گیری بروش پرکولاسیون انجام شد (۳). پس از استخراج، عصاره توسط روتاری اوپریاتور، تغلیظ گردید (۳). عصاره تغلیظ شده به داخل شیشه ساعت منتقل و به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا کاملاً خشک شد.

۵- تهیه محلول تزریقی از عصاره خشک شده

از آنجا که عصاره خشک شده، حلالیت نسبتاً کمی در آب داشت، جهت تهیه محلول تزریقی، کمک حلال‌های مختلفی به آن اضافه گردید. از بین موادی همچون پروپیلن گلیکول، اسیداستیک، کلروفرم و اتانول، از اتانول با غلظت ۲٪ نتیجه قابل قبولی کسب شد ولی مطالعات پایلوت نشان داد که این غلظت از الکل اثر بارزی بر رفتار موش‌ها می‌گذارد. بنابراین اثر سورفاکتانت‌هایی همچون انواع توتین و اسپان و همچنین صمغ عربی آزمایش شدند که صمغ عربی با غلظت ۰/۱ درصد اثر کاملاً رضایت‌بخشی داشت و حاصل آن یک سوسپانسیون ایده‌آل بود. سوسپانسیون حاصله نه تنها از لحاظ اندازه ذرات بلکه از لحاظ پایداری، قابل قبول بود. بنابراین محلول ۰/۱ درصد صمغ عربی در نرمالین سالین، به عنوان حلال یا حامل در آزمایشات به کار برده شد.

۶- تهیه محلول‌های دارویی تزریقی

محلول‌های تزریقی پیکروتوکسین و فنوباریتال توسط حامل (نرمال سالین حاوی ۰/۱ درصد صمغ عربی) تهیه شدند. در طی آزمایشات از محلول‌های تازه تهیه شده، استفاده گردیده است.

۷- تعریف واژه‌ها

- تشنج (Convulsion): به حملاتی اطلاق می‌گردد که معمولاً با حرکات بدنی شدید به صورت تونیک یا کلونیک یا هر دو همراه است و ممکن است در یک اندام (Focal) یا همه اعضا (Generalized) دیده شود (۲، ۱۴).

- تونیک (Tonic): اندام‌ها در یک وضعیت کشیده و سخت (Extension rigidity) قرار گرفته و معمولاً کمتر از یکی دو دقیقه در آن موقعیت باقی می‌مانند. بروز صرع ممکن است تنها به شکل تونیک باشد (۲، ۱۴).

دسترسی به آب و غذا داشتند و آنگاه از طریق قطع نخاع کشته می‌شدند (۲۹).

۱۱- محاسبات آماری

در هر سری از آزمایشات اثر دوزهای مختلف عصاره گیاه و فنوباریتال بر تشنج ناشی از دوزهای متفاوت پیکروتوکسین، به صورت میانگین و میانگین خطای استاندارد در ۸ عدد موش ثبت می‌شد. جهت تعیین وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه‌های آزمایشی از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و متعاقب آن Newman keuls استفاده شد. اختلاف با $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شده است (۱۶،۲۱). از تعداد موش‌هایی که در هر گروه به آزمایشات پاسخ داده‌اند برای محاسبه درصد محافظت ($\text{Protection percentage} = P\%$) از فرمول زیر استفاده شده است (۱۵):

$$100 * \left(1 - \frac{nt/Nt}{nc/Nc}\right) P\%$$

nt : تعداد موش‌های گروه آزمایش که پاسخ داده‌اند.

Nt : تعداد کل موش‌های گروه آزمایش

nc : تعداد موش‌های گروه کنترل که پاسخ داده‌اند.

Nc : تعداد موش‌های گروه کنترل

آنگاه برای مقایسه $P\%$ هر کدام از پارامترها از آزمون آماری مجذور کای استفاده شد و اختلاف با $P < 0/05$ معنی‌دار منظور گردید.

نتایج

تشنج ناشی از تزریق پیکروتوکسین با دوز ۶mg/kg

تزریق داخل صفاقی ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم پیکروتوکسین ابتدا باعث انقباضاتی کمابیش خفیف تا متوسط و معمولاً پراکنده در موش سوری شد. این انقباضات به صورت تیک‌های خفیف، راست شدن دم، خوابیدن گوش‌ها و جمع کردن دست‌ها و به ندرت به صورت انقباض پاها بروز کرد. پاها از هم باز شده و قدرت حرکت حیوان محدود گردید. با وجود این، وضعیت کمر و قامت حیوان عادی بود. این مرحله به عنوان تشنج تونیک در نظر گرفته شد.

- کلونیک (Clonic): یکی یا همه اندام‌ها دچار حرکات لرزشی پی‌درپی و غیرارادی می‌شود (۲). در موش این مرحله می‌تواند همراه با حالتی موسوم به «دویدن وحشیانه» (Wild running) باشد (۱۵).

- مدت زنده ماندن (Survival time): فاصله زمانی بین تزریق پیکروتوکسین تا مرگ ناشی از تشنج (۳۱).

- گروه‌های کنترل: در این تحقیق گروه‌های کنترل عبارت بودند از:

گروه کنترل مثبت: موش‌هایی که فنوباریتال به عنوان داروی ضد تشنج استاندارد با دوز مؤثر ۴۰mg/kg دریافت نموده بودند (۵).

گروه کنترل منفی: موش‌هایی که حامل دریافت نموده بودند.

۸- تزریق داروها و دوزهای مختلف عصاره

تزریق دوزهای تجربی ۶ و ۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از پیکروتوکسین که در مطالعات پایلوت حداقل دوزهای تشنج‌زا و کشنده این ماده بودند، باعث ایجاد تشنج در موش‌های سوری شدند. در مرحله اول، فنوباریتال یا دوزهای مختلف عصاره با مقادیر تجربی ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌ها تزریق شد تا ضمن بررسی اثرات ضد تشنجی این دوزها، مؤثرترین دوز عصاره نیز تعیین شود (۲۳). در مرحله دوم اثر ضد تشنجی فنوباریتال و مؤثرترین دوز عصاره بر تشنج ناشی از دوز بالاتر پیکروتوکسین ارزیابی شد (۱۵).

۹- زمان و نحوه تزریق به موش‌ها

دوزهای مختلف عصاره گیاه یا فنوباریتال ۲۰ دقیقه قبل از پیکروتوکسین به موش‌ها تزریق شد. کلیه تزریق‌ها به صورت داخل صفاقی (Intraperitoneal=I.P) و به میزان ۱۰ml/kg انجام گرفت (۶،۲۴).

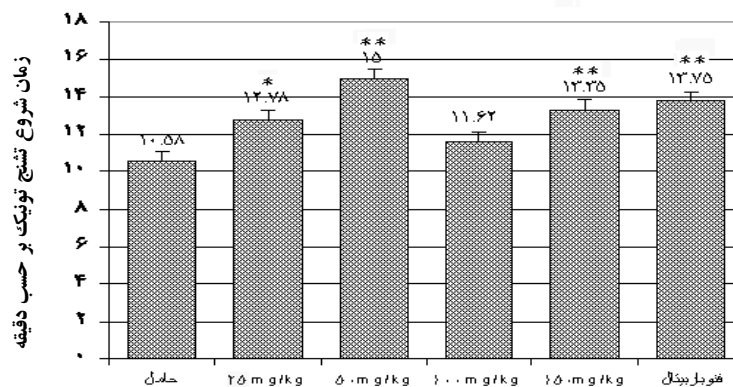
۱۰- ثبت داده‌ها

موش‌ها تا یک ساعت بعد از تزریق پیکروتوکسین، به صورت انفرادی تحت نظر قرار گرفتند و زمان شروع، نوع تشنجات و زمان مرگ آنها ثبت شد. موش‌هایی که زنده می‌ماندند تا ۴ ساعت در قفس‌های مجزا تحت مراقبت بودند و تا روز بعد در همان قفس‌ها نگهداری می‌شدند و

موش‌های گروه کنترل، مدتی بعد تشنجاتی از نوع کلونیک و تونیک - کلونیک از خود بروز دادند. در مرحله فوق همان‌گونه که قبلاً گفته شد، یکی یا همه اندام‌ها دچار حرکات لرزشی پی‌درپی و غیرارادی شده و با انقباض شدید، حیوان به صورت گلوله توپی در می‌آمد. گاه بالعکس، انقباض کمر به طرف خارج مشاهده شده و حیوان با حرکات وحشیانه‌ای به اطراف می‌دوید (Wild running).

اثر عصاره متانولی سنبل‌الطیب بر زمان شروع تشنج ناشی از پیکروتوکسین با دوز ۶ mg/kg

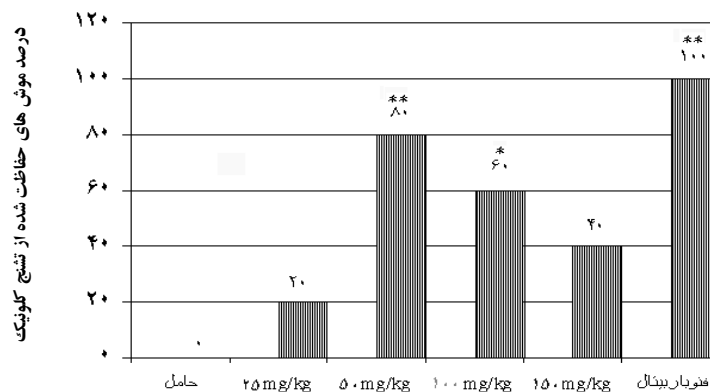
بر اساس نمودار ۱ تزریق دوزهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره گیاه سنبل‌الطیب باعث افزایش زمان تأخیر حملات تونیک در موش سوری شد. این اختلاف زمان در مورد تمام دوزها به جز ۱۰۰ mg/kg نسبت به گروه کنترل، معنی‌دار است (به ترتیب $P < 0/05$ ، $P < 0/01$ ، $P < 0/01$). دوز ۵۰ mg/kg عصاره بیشترین اثر را در این مورد از خود نشان داد. تعدادی از موش‌ها مخصوصاً



درمان‌ها

نمودار ۱: اثر عصاره سنبل‌الطیب بر زمان شروع حمله تونیک ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری

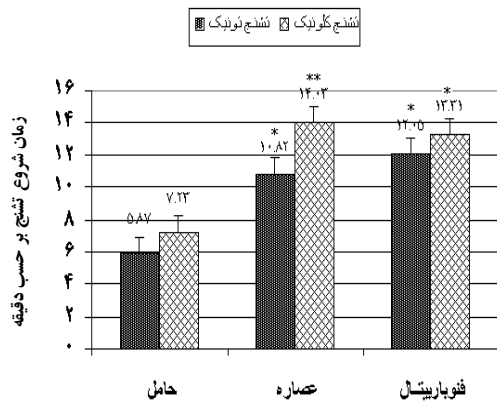
حامل (۱۰ ml/kg)، فنوباربیتال (۴۰ mg/kg) و یا دوزهای مختلف عصاره (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg) ۲۰ دقیقه قبل از پیکروتوکسین، به صورت داخل صفاقی به موش تزریق شده‌اند. پیکروتوکسین (۶ mg/kg) نیز داخل صفاقی تزریق شده و زمان شروع حملات تونیک تا مدت یک ساعت ثبت شده است (n=۸) $P < 0/05$ *، $P < 0/01$ ** : اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه حامل



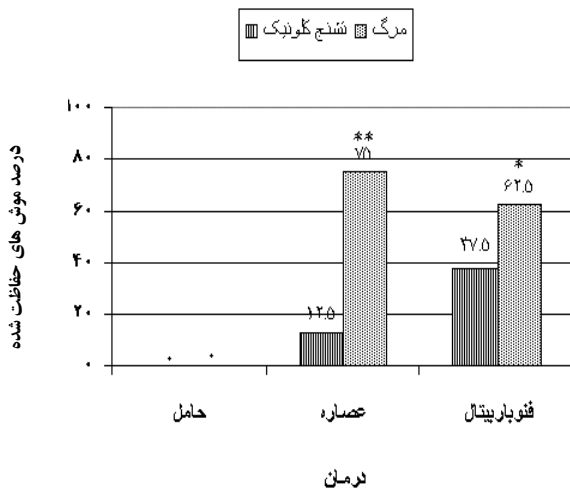
درمان‌ها

نمودار ۲: اثر عصاره سنبل‌الطیب بر تشنج کلونیک ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری

حامل (۱۰ ml/kg)، فنوباربیتال (۴۰ mg/kg) و یا دوزهای مختلف عصاره (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg) ۲۰ دقیقه قبل از پیکروتوکسین، به صورت داخل صفاقی به موش تزریق شده‌اند. پیکروتوکسین (۶ mg/kg) نیز داخل صفاقی تزریق شده و زمان شروع حملات کلونیک در مدت یک ساعت ثبت شده است (n=۸) $P < 0/05$ *، $P < 0/01$ ** : اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه حامل



نمودار ۳: اثر عصاره سنبل الطیب بر زمان شروع حمله تونیک و کلونیک ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری حامل (۱۰ ml/kg)، فنوباریتال (۴۰ mg/kg) و یا عصاره (۵۰ mg/kg) ۲۰ دقیقه قبل از پیکروتوکسین، به صورت داخل صفاقی به موش تزریق شده‌اند. پیکروتوکسین (۱۲/۵ mg/kg) نیز داخل صفاقی تزریق شده و زمان شروع حملات ثبت شده است (n=۸)
* P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱: اختلاف معنی دار نسبت به گروه حامل



نمودار ۲: اثر عصاره سنبل الطیب بر تشنج کلونیک و مرگ ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری حامل (۱۰ ml/kg)، فنوباریتال (۴۰ mg/kg) و یا عصاره (۵۰ mg/kg) ۲۰ دقیقه قبل از پیکروتوکسین، به صورت داخل صفاقی به موش ها تزریق شده‌اند. پیکروتوکسین (۱۲/۵ mg/kg) نیز داخل صفاقی تزریق شده است. میزان وقوع حملات کلونیک به مدت یک ساعت و بروز مرگ تا یک روز ثبت شده است (n=۸)
* P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱: اختلاف معنی دار نسبت به گروه حامل

اثر عصاره متانولی سنبل الطیب بر تشنجات کلونیک ناشی از پیکروتوکسین با دوز ۶ mg/kg

بر اساس نمودار ۲، درصد محافظت (%P) گروه کنترل در برابر بروز حمله کلونیک، صفر و فنوباریتال بیشترین درصد محافظت (۱۰۰) را داشت دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره با درصدهای محافظت ۸۰ و ۶۰ تنها دوزهایی بودند که درصد محافظت شان نسبت به گروه کنترل معنی دار شد (به ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۵).

تشنج ناشی از تزریق ۱۲/۵ mg/kg پیکروتوکسین

تزریق داخل صفاقی ۱۲/۵ mg/kg پیکروتوکسین به علت بالا بودن دوز، باعث ایجاد حملات تشنجی سریعی در موش سوری گردید. این حملات گاه آنقدر تند بود که تفکیک نوع تشنج به سختی صورت پذیرفت و حیوان به سرعت دچار تشنجات تونیک و تونیک - کلونیک گردید.

اثر عصاره متانولی سنبل الطیب بر زمان شروع حملات تونیک و کلونیک ناشی از پیکروتوکسین با دوز ۱۲/۵ mg/kg

بر اساس نمودار ۳، تزریق ۵۰ mg/kg از عصاره سنبل الطیب در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری (P<۰/۰۵) باعث به تعویق افتادن زمان شروع تشنج تونیک ناشی از پیکروتوکسین شد. این اختلاف زمان خصوصاً در مورد زمان شروع تشنج کلونیک در حیوان بیشتر بود (P<۰/۰۱). موش‌هایی که این دوز پیکروتوکسین را دریافت نمودند، معمولاً بعد از تشنجات شدید که از چند ثانیه تا چند دقیقه طول کشید، دچار یک حالت کشیده و سخت (Extension rigidity) شده و مردند. در این حالت بدن حیوان سفت شده و پاها کاملاً در امتداد بدن قرار می گرفت.

اثر عصاره متانولی سنبل الطیب بر تشنج کلونیک و مرگ ناشی از پیکروتوکسین با دوز ۱۲/۵ mg/kg

مطابق نمودار ۴، درصد محافظت حامل (%P) در برابر بروز تشنج کلونیک، صفر و درصد محافظت عصاره و فنوباریتال به ترتیب ۱۲/۵ و ۳۷/۵ درصد می باشد، در حالی که درصد محافظت حامل در برابر مرگ حیوان صفر و این مقدار برای عصاره و فنوباریتال به ترتیب ۷۵٪ (P<۰/۰۱) و ۶۲/۵٪ (P<۰/۰۵) درصد می باشد.

بحث

می‌تواند باعث رهاسازی GABA در سیناپتوزوم کورتکس مغز موش‌های صحرایی شود (۲۸).

همچنین تحقیقی که برای بررسی فرآیند جذب و آزادسازی GABA در سیناپتوزوم‌های جدا شده از کورتکس مغز موش‌های صحرایی، در اثر عصاره آبی سنبل‌الطیب انجام شده است، نشان می‌دهد که این عصاره با حضور یا عدم حضور دپلاریزاسیون K^+ ، جذب GABA را متوقف ساخته و باعث تحریک آزادسازی آن می‌شود. این آزادسازی وابسته به یون Na^+ و مستقل از حضور یون Ca^{2+} در مایع خارج سلولی می‌باشد. این افزایش در آزادسازی GABA از فعالیت پمپ $Na^+K^+ATPase$ و پتانسیل غشاء نیز مستقل می‌باشد (۲۷). فنوباریتال مانند سایر باریتورات‌ها با اتصال به جایگاه ویژه روی گیرنده GABA می‌تواند موجب تشدید سیستم مهاری GABA گردد (۲۴). همانگونه که در نتایج مشاهده شد، غلظت مناسب درمانی از فنوباریتال به خوبی تشنج ناشی از پیکروتوکسین را کنترل نمود و دوز 50 mg/kg از عصاره نیز اثراتی در حد فنوباریتال ایجاد نموده است.

با توجه به شواهد موجود می‌توان اذعان داشت که سنبل‌الطیب نیز با تشدید روندهای مهاری و کاهش انتقال تحریکی در کنترل تشنجات مؤثر باشد. این اثر در عصاره گیاه *Valeriana fauriei* هم دیده شده است (۲۳). عصاره *jatamansii Valeriana* تشنج ناشی از تیوسمی کاربازاید (Thiosemicarbazide) را آنتاگونیزه می‌کند ولی بر تشنج ناشی از پیکروتوکسین بی‌اثر است (۱۰). بنابراین به طور قطع نمی‌توان مکانیسم پیشنهادی را تنها مکانیسم ضد تشنجی گیاه سنبل‌الطیب دانست و این امر نیازمند تحقیقات بیشتر روی مدل‌های حیوانی و توسط عوامل تشنج‌زای دیگر می‌باشد.

اثرات بارز در مصرف چند هزار ساله این گیاه و حضور آن در فارماکوپه‌های معتبر جهان که حداقل عوارض جانبی آن را تأیید می‌نمایند، اهمیت این تحقیقات را بیشتر می‌سازد. در بررسی منابع اطلاعاتی در مورد اثر ضد تشنجی بعضی از گیاهان دارویی مانند بادرنجبویه، میخک و باریجه مقالاتی وجود دارد (۶، ۲۴، ۲۹). ولی در مورد اثر ضد تشنجی گیاه سنبل‌الطیب مقاله‌ای یافت نشد که نتایج این تحقیق با آنها مقایسه شود.

در مطالعات قبلی اثر ضد درد پیکروتوکسین با دوزهای $2-3 \text{ mg/kg}$ مشخص شده است (۱۶). این ماده در دوزهای بالاتر باعث ایجاد حملات تشنجی در موش سوری می‌شود. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره متانولی گیاه *Valeriana officinalis* دارای اثرات بارز ضد تشنجی در حیوان می‌باشد. این عصاره همچنین اثرات چشمگیری در افزایش زمان زنده ماندن حیوان بعد از تشنجات عمومی دارد.

بیشترین اثر ضد تشنجی مربوط به دوز 50 mg/kg عصاره سنبل‌الطیب بوده و لذا به نظر می‌رسد که این دوز از عصاره غلظت خونی کافی برای القاء اثر ضد تشنجی ایجاد کرده باشد و با افزایش دوز اثرات ضد تشنجی کمتر می‌شود که احتمالاً ناشی از اثرات غیر فارماکولوژیک و شاید سمی آن باشد (۶).

برای بررسی مکانیسم‌های احتمالی این اثرات، نیاز به بررسی تغییراتی که با تزریق عصاره حاصل می‌شوند، می‌باشد. در تحقیقاتی که برای بررسی تداخل اثر عصاره آبی و هیدروالکلی سنبل‌الطیب و ترکیبات موجود در آنها (آمینواسیدها و والریک‌اسید) با گیرنده‌های $GABA_A$ بر پایه تکنیک اتصال به $[H_3]$ موسیمول در غشای سیناپتیک کورتکس مغز موش‌های صحرایی (Rat) انجام گردیده است، مشخص شده که هر دو نوع عصاره در باند $[H_3]$ موسیمول قرار می‌گیرند و این اثر فقط می‌تواند به علت محتوای آمینواسیدهای آنها به ویژه GABA باشد. این مطالعه اثر *In vitro* عصاره‌های سنبل‌الطیب را بر گیرنده‌های $GABA_A$ تأیید می‌کند، هر چند نمی‌توان با آن اثر خواب‌آور آنها را توجیه نمود (۱۲، ۲۲). قابل ذکر است که سه نوع گیرنده GABA در مغز وجود دارد: $GABA_A$ ، $GABA_B$ ، $GABA_C$. گیرنده‌های $GABA_B$ وابسته به پروتئین G می‌باشند، در صورتی که گیرنده‌های $GABA_A$ و $GABA_C$ کانال‌های لیگاندی یون کلر هستند که پلاریزاسیون غشاء را افزایش می‌دهند و هر دو مستقیماً عمل می‌کنند. آنتاگونیست‌های $GABA_A$ ، بیکوکولین و پیکروتوکسین، شدیداً باعث ایجاد تشنج می‌شوند. در گیرنده‌های GABA، مناطق اتصال برای GABA، بنزودیازپین‌ها و باریتورات‌ها وجود دارد (۱۱). گزارش دیگری موجود است که نشان می‌دهد مقادیر GABA موجود در عصاره آبی سنبل‌الطیب

سپاسگزاری

بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی که بخشی از هزینه‌های این تحقیق را تقبل نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

امید است نتایج حاصل از تحقیق حاضر، کمک کوچکی به مبتلایان صرع و روزنه‌ای برای تحقیقات تکمیلی بعدی باشد.

Summary**Effects of *Valeriana Officinalis* Extract on the Seizure Induced by Picrotoxin in Mice**

Heidari M.R. PhD¹ and Razban F. Pharm D²

1. Associate Professor of Toxicology and Pharmacology, School of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran 2. Pharmacist

Neurological effects of Valeriana officinalis have been recognized for many years. In this study, the anticonvulsant activity of methanolic extract of the plant were investigated in mice. Picrotoxin with doses of 6 and 12.5 mg/kg were used for induction of seizures. The effects of different doses of methanolic extract of the plant on the variation of beginning time of seizures, the incidence of tonic and clonic seizures and mortality rate were determined. The beginning time of tonic seizures induced by picrotoxin (6 & 12.5 mg/kg I.P.) were delayed significantly in group which received extract (50 mg/kg I.P.) 20 min. before picrotoxin administration. Latency of beginning time of tonic seizures in mice which receive picrotoxin 6mg/kg were increased significantly from 10.58 min to 15 min ($P < 0.05$) and in case of 12mg/kg of picrotoxin from 5.87 to 10.82 min. ($P < 0.01$). The incidence of clonic seizures and mortality rate were decreased in this group of animals ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The results indicated that valerian extract may be effective on generalized tonic, clonic and tonic - clonic seizures and the dose of 50 mg/kg was enough to produce effective concentration for anticonvulsive activity of the extract in mice.

Key Words: *Valeriana officinalis, Seizure, Picrotoxin, Mice*

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2004; 11(2):100-108

منابع

۱. زرگری، علی: گیاهان دارویی. جلد دوم، چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۱، ص ۷۶۰-۷۲۵.
۲. سلطان‌زاده، اکبر: بیماریهای مغز و اعصاب و عضلات. چاپ دوم، تهران: جعفری، ۱۳۷۶، ص ۲۳۷.
۳. صمصام شریعت، هادی: عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزیابی آنها. چاپ اول، تهران: مانی، ۱۳۷۱، صص ۱۶-۱۲ و ۱۸۸-۱۸۷.
۴. صمصام شریعت، هادی و معطر، فریبرز: گیاهان و داروهای طبیعی (مفردات پزشکی). جلد سوم، تهران، روزبهان، ۱۳۶۵، ص ۴۳۸.
۵. کاتزونگ، برترام: فارماکولوژی پایه و بالینی کاتزونگ. ترجمه: مژدهی، همایون؛ نیایش، مهران و مدرس موسوی، فرزاد زیر نظر جهانگیری، بیژن: تهران، ارجمند، ۱۳۷۷ صص ۷۶۰-۷۵۲ و ۵۲۵-۵۲۴.
۶. محمودی، مجید؛ حیدری، محمودرضا و ظهور، علیرضا: بررسی اثر عصاره گیاه بادرنجبویه بر تشنجات صرعی ناشی از تزریق پنتیلن تترازول در موش سوری. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۸۰، دوره هشتم، شماره ۲، ص ۸۸-۹۴.
7. Bremness L: Herbs. London, Dorling Kindersley, 1994; p224.
8. British herbal medicine association, British herbal pharmacopeia. 3rd ed., London, 1989; p226.
9. British pharmacopeia (1993) addendum (1997) London: HMSO (P.2035).
10. Cao, B. and Hong, G.X. [Central inhibition action of *Valeriana jatamansii jones*] Chung. kuo. Chung. Yao. Tsa. Chih., 1994; 19(1): 40-42, 63.

11. Carvey P.M: Drug action in the central nervous system. New York, Oxford University press, 1998; p201.
12. Cavadas C, Araujo I, Cotrim MD *et al.* *In vitro* study on the interaction of Valeriana officinalis. extracts and their amino acids on GABA A receptor in rat brain. *Arzneimittelforschung* 1995; 45 (7): 753-755.
13. Evans W.C: Trease and Evans' pharmacognosy. London, W.B. Saunders 1996; pp323-325.
14. Fauci, A.S, Braunwald E, Isselbacher KJ, *et al.* Harrison's principles of internal medicine. New York: McGraw-Hill 1998 ; PP 2316-2317.
15. Gower, A.J., Noyer, M., Varloes, R., Gobert, J. and Wulfert, E. ucb L059, a novel anti-convulsant drug: pharmacological profile in animals. *European Journal of Pharmacology*, 1995; 222 (2-3) :193-203.
16. Heidari M.R., Khalili, F., Ghazi-Khansari M., Hashemi B. and Zarrindast M.R. Effect of picrotoxin on antinociception in the formalin test. *Pharmacol Toxicol* 1996; 78(5): 313-316.
17. Haas L.F. Neurological stamp. Valeriana officinalis (garden heliotrope). 1996; 60(3): 225.
18. Hobbs C. Phu: Valerian and other anti-hysterics in European and American medicine (1733-1936). *Pharm hist* 1990; 32(3): 132-137.
19. Hopkins A., Shorvon S. and Cascino G: Epilepsy. London, Chapman & Hall, 1995; pp38-42.
20. Houghton P.J. Biological activity of valerian and related plants. *J Ethnopharmacol* 1988; 22(2): 121-142.
21. Leuschner J., Muller J. and Rudmann M. Characterisation of the central nervous depressant activity of a commercially available valerian root extract. *Arzneimittelforschung* 1993; 43(6): 638-641.
22. Mennini T, Bernasconi P, Bombardelli E. and Morazzoni, P. *In vitro* study on the interaction of extracts and pure compounds from Valeriana officinalis roots with GABA, benzodiazepine and barbiturate receptors in rat brain. *Fitoterapia*, 1993; 64 (4): 291-300.
23. Oshima Y, Matsuoka S. and Ohizumi Y. Antidepressant principles of Valeriana fauriei roots. *Chem Pharm Bul.* 1995; 43(1): 169-170.
24. Pourgholami MH, Kamalinejad M, Javadi M, Majzoob S and Sayyah M. Evaluation of the anticonvulsant activity of the essential oil of Eugenia caryophyllata in male mice. *J Ethnopharmacol* 1999; 64(2): 167-171.
25. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, *et al.* Neuroscience. Sunderland, Massachusetts: Sinauer, 1997; PP110-112, 137-138.
26. Ros R. Woerdenbag, H.J. and Zwaving, J.H. [Valerian and valerian preparations]. *Pharmaceutisch Weekblad*, 1994; 129 (1): 37-43.
27. Santos M.S, Ferreira F, Cunha AP, Carvalho AP, Ribeiro CF and Macedo T. Synaptosomal GABA release is influenced by valerian root, involvement of the GABA carrier. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1994; 327 (2): 220-231.
28. Santos MS, Ferreira F, Faro C *et al.* The amount of GABA present in aqueous extracts of valerian is sufficient to account for [3H] GABA release in synaptosomes. *Planta Med* 1994; 60(5): 475-476.
29. Sayyah M, Mnadgary A and Kamalinejad M. Evaluation of the anticonvulsant activity of the seed acetone extract of ferula gummosa Boiss. against seizures induced by pentylenetetrazole and electroconvulsive shock in mice. *J Ethnopharmacol* 2002; 82(2-3): 105-109.
30. Wagner H. and Bladt S: Plant drug analysis. Berlin, Heidelberg: Springer, 1996; P341.
31. Yamaguchi S. and Rogawski MA. Effects of anticonvulsant drugs on 4-aminopyridine induced seizures in mice. *Epilepsy Res* 1992; 11(1): 9-16.