



Effect of intracerebroventricular injection of aqueous extract and essential oil of *Pulicaria gnaphalodes* on PTZ-induced seizures in male rat

Morteza Zendehdel^{1*}, Roza Fallah¹, Ali Baghbanzadeh¹, Maryam Pourrahipi¹, Nabi Shariatifar²,
Sedigheh Garavand³

1. Division of Physiology, Dep. Of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Dept. of Environment Health, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran
3. Dep. of Biology, Faculty of Sciences, Payame Nour University of Kuhdasht, Lorestan, Iran

Received: 20 Jan 2013

Accepted: 24 Sept 2012

Abstract

Introduction: *Pulicaria gnaphalodes* contains terpenoids and flavonoids. Referring to the role of benzodiazepine (BZD) receptor ligands as drug candidates in the treatment of epilepsy, anxiety and sleep disturbances, and since natural flavonoids are among these candidates and hold promise as BZD receptor ligands, this research was done to assess the effects of aqueous extract and essential oil of *Pulicaria gnaphalodes* on seizures induced by pentylenetetrazol (PTZ).

Methods: In this research, male Wistar rats (200±20 g) were injected intracerebroventrically by vehicle, aqueous extract (125, 250 and 500 µg) or essential oil (0.125%, 0.25% and 0.5%) (1 µL volume in each), before intraperitoneal administration of PTZ (80 mg/kg) for induction of seizure. Then, onset times of myoclonic (stages 1, 2 and 3) and tonic-clonic (stages 4 and 5) seizures were recorded during 20 minutes after PTZ administration. Data were analyzed by one-way analysis of variance.

Results: The results of this study showed that aqueous extract and essential oil of *Pulicaria gnaphalodes* increase initiation time of PTZ-induced myoclonic and tonic-clonic seizures.

Conclusion: Aqueous extract and essential oil of *Pulicaria gnaphalodes* probably have dose-dependent anticonvulsant property.

Key words: Epilepsy, *Pulicaria gnaphalodes*, PTZ

* Corresponding author e-mail: zendedel@ut.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

اثر تزریق داخل بطنی مغزی عصاره آبی و اسانس گیاه پولیکاریا (*P. gnaphalodes*) بر تشنجات ناشی از PTZ در موش صحرایی نر

مرتضی زنده دل^{۱*}، رزا فلاح^۱، علی باغبان زاده^۱، مریم پور رحیمی^۱، نبی شریعتی فر^۲، صدیقه گراوند^۳

۱. بخش فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران

۲. گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه پیام نور کوهدشت، لرستان

پذیرش: ۱ بهمن ۹۱

دریافت: ۳ مهر ۹۱

چکیده

مقدمه: پولیکاریا گنافالود (*P. gnaphalodes*) دارای ترکیباتی از جمله تری ترپن ها و فلاونوئیدها است. با توجه به این که لیگاندهای رسپتور بنزودیازپینی به عنوان کاندیداهای دارویی در درمان صرع، اضطراب و اختلالات خواب نقش دارند و فلاونوئیدهای طبیعی در شمار این کاندیداها و لیگاندهای رسپتور بنزودیازپینی به حساب می آیند. پژوهش حاضر به منظور ارزیابی اثر عصاره آبی و اسانس پولیکاریا گنافالود بر تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول به انجام رسیده است.

روش ها: در این تحقیق موش های صحرایی نر نژاد ویستار (۲۰۰±۲۰g) قبل از تجویز داخل صفاقی پنتیلن تترازول (۸۰mg/kg) برای القاء تشنج، تحت تزریق داخل بطنی مغزی حلال، عصاره آبی (۱۲۵ µg، ۲۵۰ µg و ۵۰۰ µg) و یا اسانس پولیکاریا (۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد) (هر یک به حجم یک میکرولیتر) قرار گرفتند. سپس زمان بروز هر یک از مراحل تشنجات میوکلونیک (مراحل ۱، ۲ و ۳) و تونیک - کلونیک (مراحل ۴ و ۵) در مدت زمان ۲۰ دقیقه پس از تجویز پنتیلن تترازول ثبت گردید. یافته های حاصل از اندازه گیری مذکور با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی و اسانس پولیکاریا گنافالود زمان شروع تشنجات میوکلونیک و تونیک - کلونیک را افزایش می دهد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج حاصل، احتمالاً عصاره آبی و اسانس پولیکاریا گنافالود دارای خاصیت ضد تشنجی بصورت وابسته به دوز است.

واژه های کلیدی: صرع، پولیکاریا گنافالود، پنتیلن تترازول

مقدمه

۴، ۱۸] و نیم تا یک درصد مردم دنیا را تحت تأثیر قرار می دهد [۵، ۲۱]. با وجود استفاده از دارو های ضد صرع رایج، باز هم ۳۰٪ تا ۴۰٪ بیماران مبتلا به صرع در کنترل حملات صرعی با مشکل مواجهند. بنابراین نیاز به دارو های ضد صرع جدید با قدرت زیاد و اثرات جانبی کمتر ضروری به نظر می رسد [۳، ۴، ۹]. نوروترنسمیترهای مختلف به ویژه گابا و گلوتامات نقش کلیدی در پاتولوژی صرع دارند [۶، ۱۰]. گابا و رسپتورهای آن سیستم مهاری مهمی در سیستم اعصاب مرکزی هستند [۱۰]. گابا کانال سیناپسی یون کلر را در رسپتورهای گابا باز می کند که به وسیله تعداد زیادی از دارو ها

صرع (epilepsy) یکی از مهمترین اختلالات سیستم اعصاب مرکزی به شمار می رود که در جامعه امروزی از شیوع و اهمیت بالایی برخوردار است بطوریکه طبق گزارشات موجود میزان شیوع آن ۵۰ مورد از هر ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال است [۱].

zendedel@ut.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسندگان مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

کتامین (۱۰۰ mg/kg, ip) و زایلازین (۲۵ mg/kg, ip) [۱۴، ۱۷، ۱۹] تحت عمل جراحی قرار گرفته و به کمک دستگاه استریوتاکسی (ساخت شرکت stoelting آمریکا) و اطلس مختصات مغز موش صحرایی (Paxinos and Watson)، کانول تزریق در ناحیه بطن جانبی مغز موش قرار گرفت ($AP = -0.8$ mm، $ML = +1.6$ mm و $DV = -3.3$ mm) (سطح مجمله) [۷، ۸]. یک هفته پس از جراحی، یعنی زمانی که محل جراحی بهبود یافت، موش‌ها جهت انجام تزریقات و بررسی شاخص‌های مورد نظر به ۸ گروه (شامل ۲ گروه کنترل و گروه‌های مورد تزریق با مقادیر مختلف عصاره آبی و اسانس پولیکاریا گنافالود تقسیم شدند ($n=7-9$). حیوانات در گروه کنترل مربوط به عصاره آبی تحت تزریق درون بطنی مغزی یک میکرولیتر سالین و در ۳ گروه آزمایشی تحت تزریق داخل بطنی مغزی دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم عصاره آبی گیاه پولیکاریا (به حجم یک میکرولیتر به ازای هر حیوان) قرار گرفتند که این دوزها بر اساس pilot Study و همچنین مطالعات قبلی انتخاب شدند [۷، ۱۸]. همچنین برای گروه کنترل مربوط به اسانس از توپین ۸۰ [Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate] با غلظت نیم درصد به عنوان حلال استفاده شد و ۳ گروه آزمایشی دیگر نیز تحت تزریق داخل بطنی مغزی ۱۲۵/۰، ۲۵۰/۰ و ۵۰۰/۰ درصد اسانس فیلتره شده از پولیکاریا گنافالود (هر یک به حجم یک میکرولیتر) واقع شدند [۲۰]. به منظور تزریق درون بطنی مغزی از سرنگ هامیلتون (ساخت شرکت هامیلتون سوئیس) و سر سوزن دندانپزشکی شماره ۲۹ استفاده شد در ضمن هنگام تزریق حیوان آزاد بود و مدت زمان تزریق ۶۰ ثانیه طول کشید. بلافاصله بعد از تزریق درون بطنی مغزی، در تمام گروه‌ها به منظور القاء تشنج حاد، مقدار ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن موش، داروی پنتیلن تترازول تزریق شد که این دوز بر اساس مطالعات قبلی [۷، ۱۹] و Pilot Study انتخاب گردید. سپس زمان بروز هر یک از مراحل تشنج پس از تزریق درون صفاقی PTZ در مدت ۲۰ دقیقه مورد ارزیابی و ثبت قرار گرفت. ضمناً در پایان آزمایشات مقدار یک میکرولیتر ماده‌ی رنگی بلودومیلین از طریق کانول راهنما تزریق شد و پس از جدا کردن سر حیوان مغز آنها خارج گردید و از مغز موش‌ها مقاطع بافتی تهیه و فقط نتایج حاصل

شامل باریتوراتها، استروئیدها و بنزودیازپین‌ها تنظیم می‌شوند [۱۰]. بیشتر لیگاندهای رسپتور بنزودیازپین کاندیداهای دارویی در درمان صرع، اضطراب و اختلالات خواب هستند [۱۷، ۱۸، ۲۰] و فلاونوئیدهای طبیعی در شمار این کاندیدها به حساب می‌آیند و به عنوان لیگاند رسپتور بنزودیازپین‌ها عمل می‌کنند [۱۰، ۱۶].

پولیکاریا گنافالود (*P. gnaphalodes*) گیاهی است مقاوم و به بلندی ۳۰-۸ سانتیمتر با برگ‌های زرد طلائی که در مکانهای سخت و شنی در شبه جزیره عربی، ایران، ترکمنستان و افغانستان رشد می‌کند [۱۲، ۲۳]. طبق مطالعات موجود این گیاه دارای ترکیباتی از جمله فلاونوئیدها، تیمول‌ها، بنزوئیک اسید، استروئیدها، تری ترپن‌ها و ترکیبات فنولی است [۱۲، ۱۵، ۲۳]. با توجه به مطالب فوق و نقش فلاونوئیدها به عنوان لیگاند رسپتور بنزودیازپینی در درمان صرع، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر تجویز داخل بطنی مغزی عصاره آبی و اسانس پولیکاریا گنافالود در بروز تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول در موش صحرایی نر به انجام رسیده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 20 گرم (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) استفاده شد. حیوانات به طور تصادفی گروه بندی شدند و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای 23 ± 3 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۷، ۸]. در طی مدت نگهداری، حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذای کافی (خوراک دام پارس، تهران) داشتند. در این مطالعه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. داروهای مورد استفاده در این مطالعه پنتیلن تترازول (ساخت شرکت دارویی سیگما، آمریکا) و عصاره آبی و اسانس پولیکاریا گنافالود بود. هر سه ماده ابتدا در حلال مربوط به خود حل شدند و سپس مورد استفاده قرار گرفتند. در این پژوهش به منظور تعبیه کانول راهنما (سر سوزن شماره ۲۱) در بطن جانبی مغز موش، از روش جراحی استریوتاکسی استفاده شد. بدین منظور

Mean $\pm$ SEM می‌باشد.

برای اطمینان از وجود ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه ابتدا ۱ گرم از عصاره بدست آمده را با پترولیوم اتر شستشو داده سپس باقیمانده را در الکل حل نموده و به آن اسید کلریدریک و نیزیم اضافه گردید. مشاهده رنگ قرمز یا نارنجی نشان دهنده وجود ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه بود (۲) که طبق این آزمایش وجود ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه به اثبات رسید.

یافته ها

بر اساس نتایج حاصل از مرحله اول تحقیق، تزریق درون بطنی مغزی دوز ۱۲۵ میکروگرم از عصاره آبی گیاه پولیکاریا میانگین زمان لازم برای شروع تشنجات سطحی (میوکلونیک) و همچنین تشنجات جنرالیزه (تونیک - کلونیک) القا شده توسط پنتیلن تترازول را در مقایسه با گروه کنترل بصورت معنی دار و وابسته به دوز افزایش داد ($P < 0.05$). این افزایش برای تشنجات میوکلونیک بیش از دو برابر و برای تشنجات تونیک - کلونیک بیشتر از چهار برابر بود (جدول ۱). همچنین عصاره آبی گیاه پولیکاریا با دوز ۲۵۰ میکروگرم توانست زمان لازم برای شروع تشنجات میوکلونیک را بطور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش دهد و از بروز تشنجات تونیک - کلونیک نیز جلوگیری کند ($P < 0.05$) (جدول ۱). دوز ۵۰۰ میکروگرم از عصاره نیز علاوه بر تشنجات تونیک - کلونیک از

از حیواناتی که کانول راهنما در داخل بطن طرفی مغز قرار داشت مورد استفاده قرار گرفت. مراحل مختلف امتیاز تشنجی (seizure score) و مشخصات رفتاری موش‌ها به صورت زیر مورد بررسی قرار گرفت [۷، ۱۹].

مرحله صفر: رفتارهای معمولی حیوان

مرحله ۱: تشنجات منفرد میوکلونیک سر (تیک سر)

مرحله ۲: تشنجات مکرر سر همراه با تکان‌های ناگهانی اندام قدامی و سرازیر شدن بزاق دهانی

مرحله ۳: تشنج کل بدن و اندام حرکتی قدامی، معمولاً

پاها از هم باز شده و حیوان بر روی پاها بلند می‌شود.

مرحله ۴: تشنجهای کلونیک - تونیک جنرالیزه

مرحله ۵: چرخش و پرش مکرر حیوان و افتادن به پهلو

مرحله ۶: مرگ

نحوه محاسبات داده‌ها به شرح زیر است:

Initiation of Stage: مدت زمان رسیدن به مراحل

مختلف تشنج

ضمناً مراحل ۱ تا ۳ به عنوان تشنجهای میوکلونیک

(سطحی) و مراحل ۴ و ۵ به عنوان تشنجهای جنرالیزه

(تونیک - کلونیک) در نظر گرفته شد.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری یافته‌های حاصل از این

پژوهش از آنالیز واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) و

جهت مقایسه گروه‌های مختلف از آزمون tukey در سطح

معنی داری $P < 0.05$ استفاده گردید. داده‌ها بصورت

جدول ۱- اثر تزریق داخل بطنی مغزی عصاره آبی گیاه پولیکاریا گنافالود (با دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم به ازای هر حیوان و به حجم یک میکرولیتر) بر زمان تأخیر تا شروع تشنجات میوکلونیک (مراحل ۱، ۲ و ۳) و تونیک - کلونیک (مراحل ۴ و ۵) تشنج ناشی از پنتیلن تترازول در موش صحرایی نر. داده‌ها بصورت mean $\pm$ SEM می‌باشد. کنترل: سالی، تعداد حیوان در هر گروه = ۹-۷. حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار می‌باشد ($P < 0$

جدول ۲- اثر تزریق داخل بطنی مغزی اسانس گیاه پولیکاریا (با دوزهای ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد به ازای هر حیوان و به حجم یک میکرولیتر) بر زمان تأخیر تا شروع تشنجات میوکلونیک (مراحل ۱، ۲ و ۳) و تونیک-کلونیک (مراحل ۴ و ۵) تشنج ناشی از پنتیلین تترازول در موش صحرایی نر. داده‌ها بصورت $\text{mean} \pm \text{SEM}$ می‌باشد. کنترل: تویین ۸۰ با غلظت ۰/۵ درصد، تعداد حیوان در هر گروه = ۹-۷. حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار می‌باشد ($P < 0.05$).

Group	Initiation time of myoclonic seizures (ITMS) (sec)			Initiation time of tonic-clonic seizures (ITTS) (sec)	
	stage 1	stage 2	stage 3	stage 4	stage 5
Control	25.1 $\pm$ 4.6 ^a	37.2 $\pm$ 7.4 ^a	51.5 $\pm$ 18.2 ^a	78.4 $\pm$ 17.5 ^a	84 $\pm$ 22.6 ^a
<i>P. gnaphalodes</i> (0.125%/rat)	34 $\pm$ 10.2 ^a	44 $\pm$ 12 ^a	60.3 $\pm$ 14.3 ^a	80 $\pm$ 19.3 ^a	97.3 $\pm$ 28.1 ^a
<i>P. gnaphalodes</i> (0.25%/rat)	55.6 $\pm$ 13.1 ^b	78.9 $\pm$ 15.8 ^b	88.9 $\pm$ 19.2 ^a	106.4 $\pm$ 23.6 ^a	139.8 $\pm$ 32.4 ^a
<i>P. gnaphalodes</i> (0.5%/rat)	99.7 $\pm$ 21 ^c	101.2 $\pm$ 23.5 ^b	125.4 $\pm$ 26 ^b	174 $\pm$ 32.8 ^b	218.6 $\pm$ 37 ^b

جدول ۳- اثر تزریق داخل بطنی - مغزی عصاره آبی و اسانس گیاه پولیکاریا بر درصد مرگ و میر ناشی از تشنج القاء شده با پنتیلین تترازول در موش صحرایی نر

Group	Aqueous extract of <i>P. gnaphalodes</i>				Essential oil of <i>P. gnaphalodes</i>			
	Control	125 $\mu\text{g}/\text{rat}$	250 $\mu\text{g}/\text{rat}$	500 $\mu\text{g}/\text{rat}$	Control	0.125%/rat	0.25 %/rat	0.5 %/rat
Mortality rate (%)	100	0	0	0	100	83.3	66.6	33.3

بحث

ترکیب به اثبات رسیده است که اثرات خود را از طریق گیرنده های گابا اعمال می‌کند [۱۰]. از طرفی پیشنهاد شده که هیسپیدولین به وسیله انتشار ساده از سد خونی-مغزی عبور می‌کند و مصارف خوراکی آن نیز می‌تواند در پیشگیری و درمان صرع موثر باشد [۱۰، ۱۳].

در مطالعه حاضر نیز اثرات ضد تشنجی گیاه پولیکاریا احتمالاً بدلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجود در آن باشد، بطوریکه فلاونوئیدها به عنوان یک ترکیب گیاهی بدلیل تمایلی که برای اتصال به گیرنده های گابا A از خود نشان می‌دهند و همچنین بدلیل توانایی آنها در عبور از سد خونی-مغزی، دارای اثرات ضد تشنجی هستند [۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۸]. همچنین بر اساس گزارشات موجود آپی ژنین، منوترین ها و تری ترین ها نیز که جزء ترکیبات فلاونوئیدی هستند دارای اثرات ضد تشنجی هستند [۱۱، ۲۲]. روتین نیز به عنوان یک فلاونوئید با اتصال به جایگاه بنزودیازپین ها بر روی گیرنده های گابا A دارای فعالیت ضد تشنجی است [۱۶، ۱۷].

بروز فاز آخر تشنجات میوکلونیک (مرحله ۳) جلوگیری کرد ($P < 0.05$) (جدول ۱).

</

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شده و مؤلفین مراتب تقدیر و تشکر خود را از این معاونت اعلام می‌دارند.

بنابراین شاید بتوان گفت حداقل بخشی از اثرات ضد تشنجی گیاه پولیکاریا بدلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجود در آن می‌باشد که برای مشخص شدن دقیق‌تر این اثرات نیاز به تخلیص و جداسازی هر یک از ترکیبات گیاه بصورت جداگانه و بررسی اثرات ضد تشنجی آنها می‌باشد.

References

- [1] Akula KK, Dhir A, Kulkarni SK, Rofecoxib a selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor increases pentylenetetrazol seizure threshold in mice: possible involvement of adenosinergic mechanism. *Epilepsy Res* 78 (2008) 60-70.
- [2] Bakhtiari A, *Detection of pyrrolizidine alkaloids in Heotrouplum Bacciferum*. St. Enghelab: University of Tehran., 2006.
- [3] Barkai E, Grossman Y, Gutnick MJ, Long-term changes in neocortical activity after chemical kindling with systemic pentylenetetrazole: an in vitro study. *J Neurophysiol* 72 (1994) 72-83.
- [4] Bauer B, Hartz AM, Pekcec A, Toellner K, Miller DS, Potschka H, Seizure-induced up-regulation of P-glycoprotein at the blood-brain barrier through glutamate and cyclooxygenase-2 signaling. *Mol Pharmacol* 73 (2008) 1444-53.
- [5] Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK, Effect of cyclooxygenase inhibitors on pentylenetetrazol (PTZ)-induced convulsions: Possible mechanism of action. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 30 (2006) 1478-1485.
- [6] Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK, Neuroprotective effect of nimesulide, a preferential COX-2 inhibitor, against pentylenetetrazol (PTZ)-induced chemical kindling and associated biochemical parameters in mice. *Seizure* 16 (2007) 691-697.
- [7] Garavand S, Keramati K, Zendehtdel M, Jadidoleslami M, Garavand S, The effect of intracerebroventricular injection of flunixin meglumine on PTZ- induced seizure in male rat. *Physiol Pharmacol* 14 (2010) 4-40.
- [8] Harooni HE, Naghdi N, Sepehri H, Haeri Rohani A, The role of hippocampal nitric oxide (NO) on learning and immediate, short- and long-term memory retrieval in inhibitory avoidance task in male adult rats. *Behav Brain Res* 201 (2009) 166-172.
- [9] Jiang R, Miyamoto A, Martz A, Specht A, Ishibashi H, Kueny-Stotz M, Chassaing S, Brouillard R, de Carvalho LP, Goeldner M, Nabekura J, Nielsen M, Grutter T, Retrochalcone derivatives are positive allosteric modulators at synaptic and extrasynaptic GABA(A) receptors in vitro. *Br J Pharmacol* 162 (2011) 1326-1339.
- [10] Kavvadias D, Sand P, Youdim KA, Qaiser MZ, Rice-Evans C, Baur R, Sigel E, Rausch WD, Riederer P, Schreier P, The flavone hispidulin, a benzodiazepine receptor ligand with positive allosteric properties, traverses the blood-brain barrier and exhibits anticonvulsive effects. *Br J Pharmacol* 142 (2004) 811-820.
- [11] Kawashty SA, Mosharafa SA, EL-Gibali M, Saleh NA, The flavonoids of four Pistacia species in Egypt. *Biochem Syst Ecol* 28 (2000) 915-917.
- [12] Liu LL, Yang JL, Shi YP, Phytochemicals and biological activities of Pulicaria species. *Chem Biodivers* 7 (2010) 327- 49.
- [13] Miliuskas G, Mulder E, Linssen JP, Houben JH, van Beek TA, Venskutonis PR, Evaluation of antioxidative properties of Geranium macrorrhizum and Potentilla fruticosa extracts in Dutch style fermented sausages. *Meat Sci* 77 (2007) 703.
- [14] Moradpour F, Naghdi N, Fathollahi Y, Anastrozole improve testosterone-induced impairment acquisition of spatial learning and memory in the hippocampal CA₁ region in adult male rats. *Behav Brain Res* 175 (2006) 223-232.
- [15] Mothana RA, Gruener TR, Bednarski PG, Lindequist U, Evaluation of the in vitro anticancer, antimicrobial and antioxidant activities of some Yemeni plants used in folk medicine. *Pharmazie* 64 (2009) 260-8.
- [16] Nassiri-Asl M, Mortazari SR, Samiee-Rad F, Zangivand

- AA, Safdari F, Saroukhani Abbasi E, The effects of rutin on the development of pentylenetetrazole kindling and memory retrieval in rats. *Epilepsy Behave* 18 (2010) 50-3.
- [17] Nassiri-Asl M, Shariati-Rads S, Zamansoltani F, Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32 (2008) 989-93.
- [18] Nassiri-Asl M, Shariati-Rad S, Zamansoltani F, Anticonvulsant effects of aerial parts of *Passiflora incarnata* extract in mice: involvement of benzodiazepine and opioid receptors. *BMC Complement Altern Med* 7 (2007) 26.
- [19] Noroozi E, Keramati K, Zendehdel M, The effect of intracerebroventricular injection of COX-1 inhibitor (ketoprofen) on PTZ-induced seizures in male rat. *Physiol Pharmacol* 14 (2010) 262- 267.
- [20] Ragab FA, El-Sayed NA, Eissa AA, El Kerdawy AM, Synthesis and anticonvulsant activity of certain substituted furochromone, benzofuran and flavone derivatives. *Chem Pharm Bull* 58 (2010) 1148-1156.
- [21] Rakhade SN, Loeb JA, Focal reduction of neuronal glutamate transporters in human neocortical epilepsy. *Epilepsia* 49 (2008) 226-236.
- [22] Sayyah M, Moaied S, Kamalinejad M, Anticonvulsant activity of *Heracleum persicum* seed. *J Ethnopharmacol* 8 (2005) 209-11.
- [23] Weyerstahl P, Marschall H, Wahlburg HC, Christainsen C, Rustaian A, Mirjalili F, Constituents of the essential oil of *pulicaria gnaphalodes* (veat). Boiss from Iran. *Flavour Frag J* 14 (1999) 121-130.