



Screening of the anticonvulsant potential of some common medicinal plants of Iran in pentylenetetrazole and maximal electroshock seizure models in male mice

Mohammad Sayyah^{1*}, Hanife Faraji^{1,2}, Aghdas Dehghani¹, Hamid Bakhtiari³, Mohammad Kamalinejad³,
Jamshid Narenjkar²

1. Dept. Physiology & Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

2. School of Medicine, Shahed University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 19 Oct 2010

Accepted: 24 Nov 2010

Abstract

Introduction: *Jugulans regia* (Jugulandaceae), *Astragalus hamosus* (Papilionaceae), *Crocus pallasii* subsp. *haussknechtii* boiss. (Iridaceae) and *Cassia angustifolia* Vahl. (Caesalpinaceae) have been suggested as antiepileptic remedies in traditional medicine of Iran. The possible anticonvulsant effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *J. regia*, fruits of *A. hamosus*, corm of *C. haussknechtii*, and aerial parts of *C. angustifolia* was evaluated in common experimental seizure tests in mice.

Methods: The hydroalcoholic extracts of the plants were obtained by percolation of 100g of air-dried part of each plant in 900 ml ethanol 80%. Different doses of the extracts were intraperitoneally (i.p.) administered in mice (10 male mice in each group) and occurrence of clonic seizures induced by pentylenetetrazol (PTZ; 60mg/kg, i.p.) or tonic seizures induced by maximal electroshock (MES; 50mA, 50Hz, 0.5sec) was observed 30 min thereafter. Acute toxicity of the extracts was also assessed.

Results: *J. regia*, *C. haussknechtii*, *C. angustifolia* did not show any anticonvulsant activity up to the maximum safe doses of 3 g/kg, 0.25 g/kg and 2 g/kg, respectively. *A. hamosus* had anticonvulsant effect in PTZ test at the high and sedative dose of 6 g/kg. The extracts did not affect tonic seizures induced by MES.

Conclusion: *J. regia*, *C. haussknechtii*, *C. angustifolia* and *A. hamosus* had no anticonvulsant activity in PTZ and MES seizure tests.

Key words: *J. regia*, *C. haussknechtii*, *C. angustifolia*, *A. hamosus*, seizure

* Corresponding author e-mail: sayyahm2@pasteur.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

غربالگری اثر ضد تشنجی چند گیاه متداول در طب سنتی ایران در مدل‌های آزمایشگاهی پنتیلن تترازول و شوک الکتریکی حداکثر در موش سوری نر

محمد سیاح^{۱*}، حنیفه فرجی^۲، اقدس دهقانی^۱، حمید بختیاری^۳، محمد کمالی نژاد^۳، جمشید نارنجکار^۲

۱. گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران

۲. دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران

۳. دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

پذیرش: ۳ آذر ۸۹

دریافت: ۲۷ مهر ۸۹

چکیده

مقدمه: با توجه به گزارشات موجود در طب سنتی مبنی بر خواص ضد صرعی گیاهان گردو، جو قاسم، سنا و ناخنک، در این مطالعه اثرات ضد تشنجی احتمالی عصاره هیدروالکلی برگ گردو، بنه جو قاسم، سرشاخه های هوایی سنا و میوه گیاه ناخنک در مدل‌های تشنجی پنتیلن تترازول و شوک الکتریکی حداکثر در موش سوری بررسی گردید. **روش ها:** ۱۰۰ گرم از پودر گیاهان فوق با ۹۰۰ میلی لیتر اتانل ۸۰٪ به روش پرکولاسیون عصاره گیری و تغلیظ شد. دوزهای مختلفی از عصاره ها از راه داخل صفاقی (i.p.) به گروههای ۱۰ تایی از موشهای سوری نر تزریق و پس از نیم ساعت تشنج کلونیک با استفاده از پنتیلن تترازول (60 mg/kg, i.p.) و تشنج تونیک با استفاده از شوک الکتریکی حداکثر (50mA, 50Hz, 0.5sec) به حیوانات اعمال گردید. بروز یا عدم بروز تشنج و نیز هر گونه اختلال رفتاری تا نیم ساعت پس از تزریق مشاهده و ثبت گردید. سمیت حاد عصاره های فوق نیز بررسی شد.

یافته ها: عصاره برگ گردو تا حداکثر دوز 3g/kg، عصاره جو قاسم تا حداکثر دوز غیر سمی 0.25g/kg، و عصاره سنا تا دوز قابل تحمل 2g/kg نتوانستند تشنجات کلونیک ناشی از PTZ را مهار کنند. عصاره ناخنک فقط در دوز بسیار زیاد و سداتیو 6g/kg تشنجات کلونیک را مهار نمود. هیچکدام از عصاره ها تا حداکثر دوز بکار رفته اثری بر تشنجات تونیک ناشی از شوک الکتریکی حداکثر نداشتند.

نتیجه گیری: عصاره هیدروالکلی بدست آمده از برگ گردو، سرشاخه های هوایی سنا، بنه جو قاسم و میوه ناخنک در دوز های غیر سمی تاثیری بر تشنجات تونیک و کلونیک ناشی از پنتیلن تترازول و شوک الکتریکی حداکثر ندارند.

واژه‌های کلیدی: گردو، سنا، ناخنک، جو قاسم، تشنج

مقدمه

زودگذر، تکرار شونده و غیر قابل پیش بینی در سیستم اعصاب مرکزی رخ می دهد. حمله یا تشنج به تخلیه ناگهانی و دسته جمعی گروهی از سلولهای عصبی در یک منطقه از مغز اطلاق می شود. صرع بعد از سکته مغزی، دومین اختلال شایع نورولوژیک می باشد [۱۳]. علی رغم وجود داروهای متعدد جهت کنترل حملات تشنجی، هنوز ۳۰٪ بیماران به کلیه روشهای دارو درمانی مقاوم بوده و حملات در آنها کنترل

صرع به مجموعه ای از اختلالات سیستم اعصاب مرکزی گفته می شود که به صورت حملات (seizures) ناگهانی،

sayyahm2@pasteur.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

در این تحقیق، اثر ضد تشنجی احتمالی ۴ گیاه فوق با علم به این که میزان اسانس آنها ناچیز می باشد در دو مدل آزمایشگاهی رایج و اولیه تشنجی (پنتیلین تترازول (PTZ) و شوک الکتریکی حداکثر (MES)) بررسی شد.

مواد و روش ها

برگهای تازه گردو در خردادماه ۱۳۸۸ از منطقه ازگل واقع در شمال شرق تهران جمع آوری شد. ناخنک (میوه گیاه) از عطاری خریداری و پس از بررسی مشخصات ظاهری و تایید گیاه شناسی برای مراحل بعدی استفاده گردید. گیاه سنا در خرداد ماه ۱۳۸۸ از ارتفاعات اطراف شیراز جمع آوری شد. بنه (Corm) گیاه جو قاسم در اردیبهشت ماه ۱۳۸۹ از شهرستان خدابنده (استان زنجان) جمع آوری گردید. گیاهان در اتاق تاریک خشک و سپس آسیاب شدند. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی از روش پرکولاسیون استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰ گرم از قسمت های مورد نظر هر کدام از گیاهان فوق (برگ گردو، میوه ناخنک، سرشاخه های هوایی سنا و بنه جو قاسم) در داخل قیف دکانتور با ۹۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ (در ۳ مرحله هر بار با ۳۰۰ میلی لیتر) به مدت ۴۸ ساعت در تماس قرار می گرفت. پس از جمع آوری مایع داخل دکانتور، اتانل موجود در عصاره ها بوسیله دستگاه روتاری جدا و عصاره پس از تغلیظ شدن در یخچال نگهداری می شد.

مطالعه در گروههای ۱۰ تایی از موشهای سوری نر بالغ نژاد NMRI با وزن ۲۰ تا ۳۰ گرم (پرورشی انستیتو پاستور ایران) انجام شد. در هر آزمایش علاوه بر گروههای آزمایشی (دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره ها)، یک گروه شاهد و یک گروه شاهد مثبت نیز وجود داشت. حیوانات گروه شاهد با حلال عصاره (روغن کنجد) و حیوانات گروه شاهد مثبت در مدل PTZ با داروی اتوسوکسیماید و در مدل MES با داروی فنی توئین مداوا می شدند. با توجه به این که عصاره های هیدروالکلی انحلال کاملی در محلول نرمال سالین ندارند، در این مطالعه از روغن کنجد جهت انحلال عصاره ها استفاده شد. تزریق ها به طریق داخل صفاقی انجام می شد. نیم ساعت پس از تزریق حیوانات در ۲ گروه کلی قرار می گرفتند. یک گروه PTZ با دوز 60mg/kg دریافت و تا نیم ساعت پس از تزریق

نمی شود. ۷۰٪ بقیه هم علی رغم کنترل حملات، با عوارض ناخواسته شایع و جدی دارو های ضد صرع روبرو هستند که این مسئله موجب کاهش همکاری بیماران و اختلال در درمان می گردد [۱۳]. طب سنتی ایران منبعی غنی و فوق العاده با ارزش مبتنی بر تجربیات پیشینیان می باشد که دارای پشتوانه چند هزار ساله می باشد. بیشتر گیاهانی که در طب سنتی به اثر ضد تشنجی آنها اشاره شده و یا گزارشات علمی در مورد اثرات ضد صرع آنها وجود دارد، گیاهان دارای اسانس هستند و غالباً اثر ضد تشنجی مشاهده شده نیز مربوط به همین اسانس ها می باشد. اسانس ها به دلیل عدم پتانسیل لازم برای تبدیل شدن به دارو (به دلیل ساختمان شیمیایی خاصی که دارند) مولکولهای خوبی برای مطالعه و اکتشاف دارو های ضد صرع نمی باشند. روش منطقی تر این است که مولکولهای دارویی در گیاهان فاقد اسانس جستجو گردد.

درخت گردو با نام علمی *Jugulans regia* از تیره گردو (*Jugulandaceae*) است. برگهای این گیاه به غیر از مصرف در صنایع آرایشی و بهداشتی در طب سنتی به عنوان پایین آورنده قند خون [۱۷]، درمان التهابات پوستی، زخمها، ضد اسهال، ضد کرم، ضد عفونی کننده و قابض [۲] بکار می رفته است. مطالعات نوین مبین اثرات گشاد کننده رگ [۱۲]، ضد درد و التهاب [۴] و آنتی اکسیدان و مهار کننده رشد سلولهای سرطانی [۲] برگهای این گیاه می باشد. در طب سنتی ایران به اثرات ضد صرعی برگ گردوا اشاره شده است [۹]. گیاه سنا با نام علمی *Cassia angustifolia* Vahl از تیره نخود (*Fabaceae*) و تیره فرعی گل ارغوان (*Caesalpinaceae*) است. این گیاه بدلیل اثر مسهل برگهای آن معروف است [۱۸]. مطالعات اخیر مؤید اثرات محافظتی برگهای این گیاه بر علیه سرطان کبد می باشد [۵، ۶]. در طب سنتی ایران از این گیاه در مداوای صرع استفاده می شده است [۱۰]. گیاه جو قاسم با نام علمی *Crocus pallasii* subsp. *hausknechtii* boiss. از تیره زنبق (*Iridaceae*) بوده و نوعی زعفران صحرایی بومی ایران است. این گیاه در طب سنتی ایران به عنوان ضد درد های مفصلی معرفی شده است [۱]. گیاه ناخنک با نام علمی *Astragalus hamosus* از تیره نخود و تیره فرعی پروانه وارن (*Papilionaceae*) می باشد. در طب سنتی ایران از میوه این گیاه به عنوان داروی ضد صرع یاد شده است [۱۱].

PTZ تشنج کلونیک فراگیر را نشان می دادند. نتایج نشان داد که در بین عصاره ها گردو تا حداکثر دوز 5g/kg، سنا تا دوز 2g/kg و جو قاسم تا دوز 0.25g/kg اثری بر تشنجات ناشی از PTZ و MES ندارند (جداول ۱ و ۲). عصاره ناخنک با این که در دوز 5g/kg موجب مهار تشنج کلونیک ناشی از PTZ گردید اما اختلال رفتاری شدید به شکل بیحالی و گوشه گیری در موشها ایجاد کرد و به همین دلیل اثر ضد تشنجی فوق فاقد ارزش برای مطالعات بعدی بود. عصاره جو قاسم نیز با این که در دوز 0.25g/kg تا حدی موجب مهار تشنج کلونیک ناشی از PTZ گردید اما در دوزهای بیشتر اختلال رفتاری قابل توجه به شکل بیحالی و گوشه گیری در موشها ایجاد کرد و به همین دلیل اثر ضد تشنجی دوزهای بیشتر بی ارزش بود. در مقادیر بکار رفته برای بررسی اثر ضد تشنجی، عصاره ها اثر کشنده نداشتند اما در دوزهای بیشتر از حد فوق اثرات سمی و کشنده آنها ظاهر می شد (جدول ۳) و به همین دلیل بررسی اثر ضد

بروز یا عدم بروز تشنج کلونیک و زمان تاخیر تا بروز تشنج در آنها ثبت می شد [۱۵]. گروه دوم تحت شوک الکتریکی حداکثر با مشخصات ۵۰ میلی آمپر، فرکانس ۵۰ هرتز و مدت تحریک نیم ثانیه قرار گرفته و بروز یا عدم بروز تشنج تونیک در آنها ثبت می شد [۱۵].

برای مقایسه ی اثر عصاره ها بر تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول و شوک الکتریکی حداکثر از آزمون دقیق فیشر استفاده گردید. جهت بررسی زمان تأخیر تا بروز تشنج از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست تکمیلی توکی استفاده شد. در تمام آنالیزها $P < 0.05$ به عنوان ملاک تفاوت معنی داری آماری در نظر گرفته شد.

یافته ها

در گروه شاهد حیوانات معمولاً ۲-۳ دقیقه پس از تزریق

جدول ۱- اثر عصاره هیدروالکلی گردو، ناخنک، جو قاسم و سنا بر تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول در موش سوری

تیمار	دوز	زمان تاخیر تا بروز تشنج (ثانیه)	حیوانات تشنج کرده (درصد)
روغن کنجد (شاهد)	10 ml/kg	162 ± 10	100
اتوسوکسیماید (شاهد مثبت)	150 mg/kg	-	0
برگ گردو	3g/kg	187 ± 32	90
برگ گردو	5g/kg	178 ± 28	90
ناخنک	3g/kg	183 ± 28	90
ناخنک	5g/kg	60.0** ± 19.0	30*
جو قاسم	0.25 g/kg	135 ± 10	100
سنا	2 g/kg	167 ± 17	100

*: تفاوت معنی دار با گروه شاهد با $p < 0.05$ (n=10). **: تفاوت معنی دار با گروه شاهد با $p < 0.01$ (n=10).

جدول ۲- اثر عصاره هیدروالکلی گردو، ناخنک، جو قاسم و سنا بر تشنجات ناشی از شوک الکتریکی حداکثر در موش سوری

تیمار	دوز	حیوانات تشنج کرده (درصد)
روغن کنجد (شاهد)	10 ml/kg	100
فنی تونین (شاهد مثبت)	20 mg/kg	0
برگ گردو	5g/kg	90
ناخنک	5g/kg	80
سنا	2 g/kg	90
جو قاسم	0.25 g/kg	60

نمی توان از عدم اثر بخشی گیاه اطمینان حاصل نمود و مجبور به استفاده از حلالهای دیگر و صرف وقت و مواد بیشتر خواهیم بود.

نتایج بررسی ما نشان داد که عصاره هیدرو الکلی ۴ گیاه گردو (*J. regia*)، جو قاسم (*C. haussknechtii*)، سنا (*C. angustifolia*) و ناخنک (*A. hamosus*) تا حداکثر دوز های غیر سمی فاقد اثرات ضد تشنجی بر علیه تشنجات تونیک ناشی از MES و کلونیک ناشی از PTZ می باشند. معمولا مواد مهار کننده تشنجهای ناشی از MES از طریق انسداد کانالهای سدیم حساس به ولتاژ و یا مهار گیرنده های اسید آمینه های تحریکی عمل می کنند [۱۴، ۸]. در حالیکه مواد مؤثر بر تشنجهای میوکلونیک ناشی از PTZ از طریق انسداد جریانهای کلسیمی نوع T و یا افزایش عملکرد سیستم مهاری گابا اعمال اثر می نماید [۱۶، ۱۴، ۸، ۳]. با توجه به عدم اثر بخشی عصاره های بکار رفته در این تحقیق بر تشنجهای ناشی از PTZ و MES به نظر می رسد این عصاره ها اگر هم اثر ضد تشنجی داشته باشند از طریق مکانیسم های مطروحه فوق نمی باشد. با اینکه معمولا در ۹۰٪ موارد اگر ماده ای بر تشنجات ناشی از PTZ و MES مؤثر نباشد در سایر مدل های تشنجی نیز با احتمال زیاد بی اثر خواهد بود [۷]، با این حال مطالعه اثر این عصاره ها در سایر مدل های تشنجی واجد مکانیسم تشنج زایی متفاوت از مدل های MES و PTZ پیشنهاد می گردد.

در مجموع نتایج تحقیق ما نشان داد که عصاره هیدرو الکلی گیاهان گردو (*J. regia*)، جو قاسم (*C. haussknechtii*) سنا (*C. angustifolia*) و ناخنک (*A. hamosus*) قادر به مهار تشنجات تونیک ناشی از MES و کلونیک ناشی از PTZ نبودند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از معاونت پژوهشی انستیتو پاستور ایران بخاطر تامین هزینه های این مطالعه از محل طرح مصوب شماره ۳۷۴ قدردانی نمایند.

جدول ۳- اثر کشنده عصاره هیدرو الکلی گردو، ناخنک، جو قاسم و سنا در موش سوری

تیمار	دوز	حیوانات مرده (درصد)
روغن کنجد	10 ml/kg	۰
برگ گردو	5g/kg	۰
ناخنک	5g/kg	۰
سنا	2 g/kg	۰
جو قاسم	0.25 g/kg	۰
جو قاسم	0.5 g/kg	۲۰

تشنجی دوزهای بالاتر امکان پذیر نبود.

بحث

در تحقیق حاضر اثر ضد تشنجی احتمالی عصاره هیدرو الکلی ۴ گیاه که در طب سنتی به اثرات ضد صرعی آنها اشاره شده است، در دو مدل عمومی و رایج تشنجی MES و PTZ بررسی گردید.

تشنج ایجاد شده با شوک الکتریکی حداکثر از نوع تونیک بوده و معادل حملات فراگیر تونیک-کلونیک در انسان می باشد در حالیکه در مدل PTZ تشنجات کلونیک هستند و به تشنجات ناشی از صرع میوکلونیک و نیز صرع غیاب در انسان شباهت دارند [۷].

در ارزیابی اولیه اثر ضد تشنجی احتمالی گیاهان دارویی بهتر است در گام اول از عصاره هیدرو الکلی (اتانل ۸۰٪) شروع کرد زیرا قسمت عمده مواد محلول در آب و محلول در چربی موجود در گیاه وارد این حلال می شوند و در صورتی که گیاه مورد مطالعه دارای مواد واجد خاصیت ضد تشنجی باشد احتمال مشاهده اثر ضد تشنجی بسیار زیاد خواهد داد که در این صورت با توجه به نوع و میزان پاسخ مشاهده شده می توان در مراحل بعدی با فراکشن گیری از عصاره بوسیله حلالهای آلی یا آبی به تعیین ماهیت آبدوست و یا چربی دوست آنها و جداسازی ترکیبات فعال پرداخت. اما اگر در گام اول، عصاره گیری با حلالهای کاملاً قطبی مثل آب و یا کاملاً غیر قطبی مثل هگزان انجام شود و پاسخ فارماکولوژیک مشاهده نشود

References

- [1] Amin GHR, *The most common medicinal plants of Iran*. Tehran: Tehran University of Medical Sciences, Research Directorate Publications, 2005, p. 124.
- [2] Carvalho M, Ferreira PJ, Mendes VS, Silva R, Pereira JA, Jeronimo C, Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of *Juglans regia* L. *Food Chem Toxicol* 48 (2010) 441-447.
- [3] Coulter DA, Huguenard JR, Prince DA, Characterization of the ethosuximide reduction of low-threshold calcium current in thalamic neurons. *Annal Neurol* 25 (1989) 582-593.
- [4] Erdemoglu N, Kupeli E, Yesilada E, Anti-inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *J Ethnopharmacol* 89 (2003) 123-129.
- [5] Ilavarasan R, Mohideen M, Vijayalakshmi M, Manonmani G, Hepatoprotective Effect Of *Cassia Angustifolia* Vahl. *Indian J Pharmaceutical Sci* 63 (2001) 504-507.
- [6] Lin LT, Liu LT, Chiang LC, Lin CC, In vitro anti-hepatoma activity of fifteen natural medicines from Canada. *Phytother Res* 16 (2002) 440-444.
- [7] Loscher W, Schmidt D, Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Res* 2 (1998) 145-181.
- [8] MacDonald RL, Kelly KM, Antiepileptic drug mechanisms of action. *Epilepsia* 36 (1995) S2-S12.
- [9] Momen MM, *Tohfat-ol-Momenin*. Tehran: Mahmoodi Publications, 1979, p. 255-256.
- [10] Momen MM, *Tohfat-ol-Momenin*. Tehran: Mahmoodi Publications, 1979, p. 510.
- [11] Momen MM, *Tohfat-ol-Momenin*. Tehran: Mahmoodi Publications, 1979, p. 100.
- [12] Perusquia M, Mendoza S, Bye R, Linares E, Mata R, Vasoactive effects of aqueous extracts from five Mexican medicinal plants on isolated rat aorta. *J Ethnopharmacol* 46 (1995) 63-69.
- [13] Porter RJ, Meldrum BS, Antiseizure Drugs. In: Katzung BG, editor. *Basic and clinical pharmacology*. 6th ed. New York, Mc Graw Hill, 2001, p. 395.
- [14] Rogawski MA, Porter RJ, Antiepileptic drugs and pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising development stage compounds. *Pharmacol Rev* 42 (1995) 223-286.
- [15] Sayyah M, Moaied S, Kamalinejad M, Anticonvulsant activity of *Heracleum persicum* seed. *J Ethnopharmacol* 98 (2005) 209-211.
- [16] White HS, Harmswoth WL, Sofia RD, Wolf HH. Felbamate modulates the strychnine-sensitive glycine receptor. *Epilepsy Res* 20 (1995) 41-48.
- [17] Zargari A, *Medicinal plants*. 4th ed. Tehran: Tehran University Publications, 1990 (4), p. 464-465.
- [18] Zargari A, *Medicinal plants*. 4th ed. Tehran: Tehran University Publications, 1988 (2), p. 98-105.