

بررسی اثر ضد تشننجی عصاره مтанولی گیاه زیرفون در موش سوری

محمود رضا حیدری (Pharm D, PhD)^{۱*}، میترا مهربانی (Pharm D, PhD)^۲، علی اسدی پور (Pharm D, PhD)^۳، حسام مقدم

منش (BSc)^۴، محمد حیدری^۵، جلال وفازاده (Pharm D)^۶

۱- مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، نوروساینس و فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۲- گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳- گروه شیمی داروئی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۴- دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۵- دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران

دریافت: ۱۵/۱۱/۸۷، اصلاح: ۲۳/۲/۸۸، پذیرش: ۲۴/۴/۸۸

خلاصه

سابقه و هدف: در بعضی منابع به اثرات مفید گیاه زیرفون بر بیماریهای عصبی از جمله تشننج، اشاره شده است از آنجاییکه مطالعه کلاسیک علمی در دسترس نمی باشد. در این مطالعه به اثر عصاره مтанولی پرکوله گیاه (*Tilia plathyphyllos*) بر تشننج ناشی از پیکروتوکسین و پنتیلین تترازول در موش سوری پرداخته شد.

مواد و روشهای: در این تحقیق تجربی، گروههای ۵ تائی از موشهای سوری از طریق تزریق داخل صفاقی با دوزهای مختلف از عصاره مтанولی پرکوله سرشاخه های گلدار گیاه زیرفون (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) پیش درمانی شده و پس از ۲۰ دقیقه به آنها پیکروتوکسین ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن یا پنتیلین تترازول ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به صورت داخل صفاقی تزریق و میزان تاثیر عصاره در تاخیر شروع حملات تشننجی، زمان مرگ ناشی از تشننج و در صد مرگ و میر در گروههای آزمایش و کنترل، اندازه گیری و مقایسه گردید.

یافته ها: پیش درمانی حیوانات با دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن عصاره گیاه زیرفون به ترتیب باعث تاخیر در شروع حملات تشننجی ناشی از پیکروتوکسین از ۲۰۸ ثانیه به ۲۹۸ ثانیه ($p < 0.01$) و 570 ثانیه ($p < 0.05$) شد. دوز ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از عصاره باعث تاخیر تشننج ناشی از پنتیلین تترازول از ۲۳۳ ثانیه به ۳۵۱ ثانیه ($p < 0.01$) شد. زمان مرگ موشهای نیز با دوز ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن عصاره از ۱۲۳۷ به ۱۴۹۸ ثانیه ($p < 0.05$) در مورد پیکروتوکسین و از ۱۹۷۳ به ۲۵۰۸ ثانیه ($p < 0.01$) در مورد پنتیلین تترازول، به تاخیر افتاد ($p < 0.05$). درصد مرگ و میر ناشی از پیکروتوکسین و پنتیلین تترازول از ۱۰۰٪ به ۸۰٪ ($p < 0.05$) و 40% ($p < 0.05$) رسید.

نتیجه گیری: عصاره مтанولی سرشاخه های گلدار گیاه زیرفون باعث تاخیر در شروع حملات تشننجی، تاخیر در مرگ و کاهش درصد مرگ و میر ناشی از پیکروتوکسین و پنتیلین تترازول میگردد و برای استفاده از آن بعنوان ضد تشننج، بایستی مطالعات تکمیلی روی آن انجام شود.

واژه های کلیدی: گیاه زیرفون، تشننج، پیکروتوکسین، پنتیلین تترازول، موش سوری.

مقدمه

یک مکانیسم مسؤول انواع تشننج می باشد، بعید به نظر می رسد بتوان دارویی یافت که تمام انواع صرع را درمان کند (۳). عامل محدود کننده دیگر در مصرف

اگرچه با درمان استاندارد در ۸۰ درصد موارد می توان حملات تشننج را کنترل نمود، ولی میلیونها نفر صرع کنترل نشده دارند (۱۲). از آنجاییکه بیش از

هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۱۵/۸۳-۸۳ مرکز تحقیقات علوم اعصاب و حاصل پایان نامه حسام مقدم منش دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کرمان می باشد.

* مسئول مقاله:

e-mail: Heidarimr@yahoo.com

آدرس: کرمان، دانشکده داروسازی استاد گروه سه شناسی، ۱-۲۰۰۵۳۱-۳۴۱

حیوانات تا ۲۴ ساعت تحت هیچ نوع آزمایشی قرار نگرفتند و به جز زمان آزمایش، به راحتی به آب و غذا دسترسی داشتند. رژیم غذایی موش‌ها عبارت بود از غذای آماده، ساخت کارخانه خوراک دام پارس و آب تصفیه شده شهری. حیوانات از سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی برخوردار بودند. نگهداری حیوانات بطور جمعی بوده و حداقل یک ساعت قبل از شروع آزمایش در محفظه‌ی انفرادی قرار گرفته‌است. دمای محیط بین 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد بود و از هر موش فقط در یک آزمایش استفاده شد (۱۰ و ۸).

مواد: مواد مورد استفاده در تحقیق متابول، نرمال‌سالین، پیکروتوکسین، پنتیلن تترازول و فنوباربیتال بود.

گیاه مورد مطالعه: سرشاره‌های گلدار گیاه *Tilia plathyphylllos* Scop از خانواده Tiliaceae که از عطاری‌های شهر کرمان تهیه و جنس و گونه آن به تأیید بخش فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی کرمان رسید (۵). تهیه محلول‌های دارویی تزریقی: محلول‌های تزریقی پیکروتوکسین ۱۰ میلی گرم در ۱۰ سی سی و پنتیلن تترازول ۸۰ میلی گرم در ۱۰ سی سی و فنوباربیتال ۴۰ میلی گرم در ۱۰ سی سی توسط حامل نرمال‌سالین تهیه شد که در طی آزمایشها از محلول‌های تازه تهیه شده به میزان ۱/۰ میلی لیتر در ۱۰ گرم وزن حیوان استفاده گردید تا حیوانات دوزهای ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن و ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از داروها را دریافت کرده باشند (۲۶ و ۱۰ و ۷).

استخراج و تهیه مواد مؤثره گیاه: برای عصاره‌گیری از این گیاه از روش پرکولاسیون استفاده شد. در این روش ابتدا ۵۰ گرم از سرشاره‌های گلدار گیاه زیرفون را خرد نموده، در ظرفی به نام پرکولاتور ریخته و عمل عصاره‌گیری انجام شد. در این تحقیق عمل عصاره‌گیری تا ۷۲ ساعت طول کشید تا محلول خروجی نسبتاً سفاف شد (۲۹).

تغییل و خشک کردن عصاره: عصاره حاصل از پرکولاسیون توسط دستگاه تقطیر در خلاء چرخان (Rotary Evaporator) در حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد تقطیر شد، سپس عصاره تقطیر شده داخل شیشه ساعت متنقل شد و به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا کاملاً خشک شود. در این تحقیق وزن عصاره خشک ۱۰ گرم بود (۲۰ درصد).

چگونگی تهیه محلول تزریقی از عصاره گیاه: عصاره تهیه شده حلالیت خوبی در نرمال‌سالین نشان داد. نابراین برای تهیه غلظت‌های مختلف عصاره از آن استفاده شد. مثلاً برای تهیه محلول تزریقی ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، مقدار ۱۰۰ میلی گرم از عصاره در ۱۰ میلی لیتر نرمال‌سالین حل شد که اگر میزان ۱/۰ میلی لیتر در ۱۰ گرم به حیوان تزریق شود، دوز ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به حیوان تجویز شده است (۷۸ و ۷۰).

گروههای کنترل: گروه کنترل منفی و مثبت شامل موش‌هایی که قبلاً از پیکروتوکسین ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم یا پنتیلن تترازول ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم، برتری به میزان ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم یا فنوباربیتال با دوز ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن دریافت کرده‌اند (۱۰ و ۷).

گروههای تحت درمان: تزریق داروها و دوزهای مختلف عصاره: در مرحله اول عصاره با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای پیکروتوکسین و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای پنتیلن تترازول به گروههای ۵ تائی از موشها تزریق شد تا ضمن بررسی اثرات ضدتشنجی دوزهای

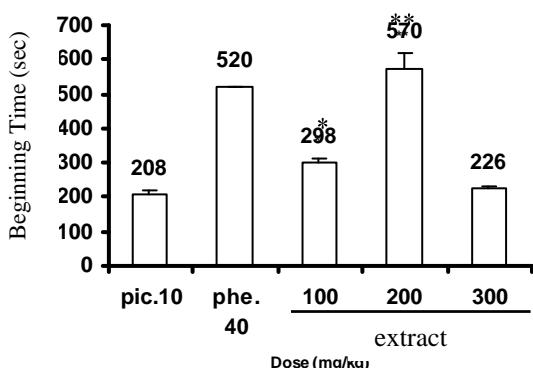
توأم داروهای ضدصرع، عوارض نامطلوب آنها است که به علت نیاز بیماران به مصرف طولانی مدت و مدام داروها اهمیت بیشتری پیدا می‌کند (۴). در تحقیقات انجام شده به اثر ضدتشنجی گیاهان مختلف از جمله نعناع، لاواند، صتر، ریحان‌الارض، مریمیه اشاره شده است (۵). در مورد بعضی از گیاهان مطالعات اولیه فارماکولوژیک با متدهای جدید انجام شده است که به عنوان نمونه می‌توان به اثرات گیاه بادرنجبویه (*L. officinalis*) بر تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری و اثرات گل گاویزان، روزماری، خشکاش بر تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری و اثرات ضدتشنجی، دانه گیاه باریجه (*Ferula gummosa* Boiss) بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول در موش سوری اشاره کرد (۶-۱۰).

در این تحقیق از گل و یا سرشاره‌های گلدار گیاه زیرفون با نام علمی *Tilia Plathyphylllos* Scop از خانواده Tiliaceae که محل رویش آن جنگلهای جلگه‌ای شمال کشور و همین‌طور بلوجستان و بندرعباس می‌باشد، استفاده شد (۱۱ و ۱۲). زمان گل‌دهی و برداشت این گیاه خرداد و تیر می‌باشد (۱۲). مواد مؤثره این گیاه فلاونوئیدهای مختلف مانند Kaempferol کورستین (Qurectin)، ایزوکورستین (Isoquercetin) و دوتین (rutin) و آمینواسیدهای مختلف شامل آلانین، سیستئین و سیستین می‌باشد (۱۳ و ۱۵ و ۱۶ و ۱۷). گل‌های زیرفون دارای اسانسی است که بر اثر تقطیر با آب از آن به دست می‌آید و دارای ماده‌ای به نام فارنسول Farnesol تانن، موسیلاز و قند نیز می‌باشد (۱۲). قسمت‌های خشک گیاه زیرفون اشتها آور، آرام‌بخش و مدر است (۱۱). اثرات آرام‌بخشی و بطرف‌کننده اسپاسیم نیز برای گیاه زیرفون ذکر شده است (۱۶). از خواص درمانی دیگر گیاه زیرفون مفید بودن آن در درمان Insomnia Bronchosis، روماتیسم و اپی‌پسی می‌باشد (۱۷). دم کرده آن به صورت غرغره و حمام جهت رفع تحریکات مخاط دهان بکار می‌رود. گیاه زیرفون دارای اثرات آرام‌بخش و ضدتشنج و ضداسپاسیم استفاده می‌شده است (۱۹ و ۲۰ و ۵). اثرات خواب آور و ضد اضطراب واریته ای از زیرفون مورد بررسی قرار گرفته و در بعضی منابع نیز برای گیاه زیرفون خاصیت مدر، معرق، آرام‌کننده و ضدتشنج ذکر شده است (۲۱ و ۲۲). با توجه به خواص ذکر شده به نظر می‌رسد که این گیاه دارای اثرات ضدتشنجی باشد، اما تاکنون مطالعه ای علمی و کلاسیک در مورد بررسی اثر ضد تشنجی گیاه زیرفون انجام نشده. لذا در این تحقیق اثر عصاره متابولی سرشاره‌های گلدار گیاه زیرفون با استفاده از دو مدل شیمیایی رایج، شامل تشنجات عمومی ناشی از پیکروتوکسین، آنتاکوئینیست گیرنده‌های GABA-A (۲۴ و ۲۵ و ۷۰ و ۷۸) و تشنجات کلولیک ناشی از پنتیلن تترازول (۲۸ و ۲۶)، روی موش سوری مورد بررسی قرار گرفت تا در مورد اثرات ضدتشنجی این گیاه قضاؤت علمی شود.

مواد و روشها

حیوانات: در این تحقیق از موش سوری سفید از جنس نر با سن حدود ۵-۶ هفته و وزنی بین ۲۶±۲ گرم که از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پژوهشکی کرمان تهیه شده است. موش‌ها پس از انتقال به بخش نگهداری

پرش سر به جلو و پایین نمایان می شد. این مرحله به عنوان تشنج تونیک در نظر گرفته شد که چند دقیقه طول می کشید. بعد موش یکباره دچار لرزش های پی دربی و غیرارادی با فرکанс بالا شد که این مرحله بخصوص در مقایسه با مشاهدی که تنها حامل دریافت کرده بودند بهوضوح قابل مشاهده بود. در این مرحله حیوان به شدت دچار حرکات تشنجه و بی قراری شد که اغلب تمام قسمت های بدن را درگیر نمود و کاملاً فراگیر (Generalized) بود. گاهی شدت حملات به حدی بود که موش به سمت بالا پرتاب می شد و بر خلاف مرحله تونیک، در این مرحله اغلب کمر حیوان بطور غیرعادی خم شده و موش حالت کلاف به خود می گرفت. ممکن است بر عکس، دست ها و پاها به صورت کاملاً کشیده و منقبض در امتداد طول بدن حیوان از هم باز شوند و سر حیوان از فسمت گردن به پشت خم شود که معمولاً در این مرحله حیوان تعاملی دارد به پشت بچرخد. در زمانهایی نیز ممکن است دم حیوان در حالت انقباض شدید به صورت شلاقی حرکاتی در امتداد بالا – پایین یا کمی منحرف به طرفین انجام دهد. همچنین گاهی دوین و حشیانه (Wild running) نیز مشاهده می شد. با اینکه دقیقاً الگوی کاملاً ثابتی نمی توان برای رفتار حیوان در هنگام بروز تشنج قائل شد، این مرحله، با این مشاهدات خاص به عنوان تشنج کلونیک در موش سوری در نظر گرفته شد. پیکروتوکسین با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به تنها در موش سوری باعث شروع حملات تشنجه در مدت زمان ۲۰۸ ثانیه شد. پیش درمانی حیوانات با دوزهای مختلف عصاره باعث تأخیر در شروع حملات تشنجه شد (نمودار ۱).



نمودار ۱. اثر عصاره مثانولی گیاه *Tilia Plathyphylllos* بر زمان شروع

تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری

دوزهای مختلف عصاره یا فنوباریتال ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، ۲۰ دقیقه قبل از تزریق پیکروتوکسین ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، به صورت داخل صفاقی به حیوانات تجویز شده است (N=۵).

* p<0.05 و ** p<0.01 اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل

زمان مرگ ناشی از پیکروتوکسین با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به تنها در موش سوی ۱۲۳۷ ثانیه بود. در حیواناتی که با دوزهای مختلف عصاره پیش درمانی شدند، این زمان به تأخیر افتاد (نمودار ۲). دوام تشنج ناشی از پیکروتوکسین با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به تنها در موش سوری ۱۰۳۲ ثانیه بود و پیش درمانی حیوانات با دوزهای مختلف عصاره تاثیر معنی داری در دوام تشنج نداشت (نمودار ۳).

فوق، مؤثرترین دوز عصاره نیز تعیین شود (۱۰ و ۷). در مرحله دوم اثر ضد تشنجی پیکروتوکسین و مؤثرترین دوز عصاره بر تشنج ناشی از دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم پنتیلن تترازول ارزیابی شد.

زمان و نحوه تزریق: عصاره گیاه یا فنوباریتال، ۲۰ دقیقه قبل از پیکروتوکسین یا پنتیلن تترازول به گروههای ۵ تائی از موش ها تزریق شد. کلیه تزریق ها به صورت داخل صفاقی (Intraperitoneal-IP) انجام گرفت.

تشنج (Convulsion): به حملاتی اطلاق می گردد که با حرکات بدن شدید به صورت تونیک یا کلونیک یا هر دو همراه است که ممکن است در یک اندام (Focal) یا همه اندام ها (Generalized) دیده شود (۳۰ و ۳۱). موش ها تا یک ساعت بعد از تزریق پیکروتوکسین یا پنتیلن تترازول به صورت انفرادی تحت نظر قرار گرفتند و زمان شروع تشنج، دوام تشنج، زمان مرگ، درصد مرگ و میر و مشاهدات عینی ثبت شد (۷ و ۳۲).

زمان شروع تشنج: فاصله زمانی از لحظه تزریق ماده تشنج زا تا شروع علائم تشنج

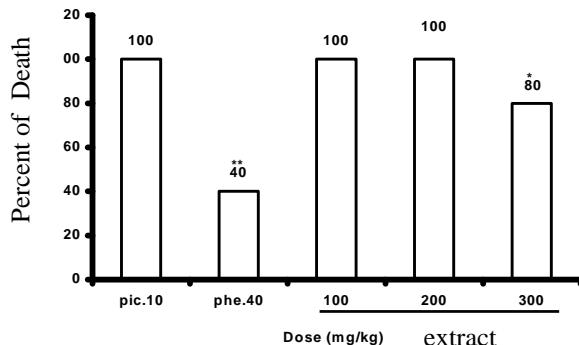
دوام تشنج: فاصله زمانی از لحظه شروع تشنج تا خاتمه تشنج یا مرگ ناشی از تشنج

زمان مرگ: فاصله زمانی از لحظه تزریق ماده تشنج زا تا مرگ ناشی از تشنج معیار ثبت تشنج در موش ها، مشاهده هر کدام از علائم مانند لرزش خفیف بدن که بخصوص در نواحی پهلوها مشهود است، خوابیده شدن گوشها، پرش گوشها، تکانه های خفیف، افزایش ضربان قلب و انقباض خفیف دم است که البته لازم نیست تمام این مشاهدات در حیوان دیده شود تا نشانگر شروع تشنج باشد. سپس موش ها تا ۴ ساعت در قفسه های مجزا تحت مراقبت بودند. مشاهدی که زنده می مانندند تا روز بعد در همان قفس نگهداری می شدند و دسترسی به آب و غذا داشتند و آنگاه از طریق قطع نخاع کشته شدند (۷). در هر سری از آزمایش ها اثر دوزهای مختلف عصاره گیاه و فنوباریتال بر زمان شروع تشنج، دوام تشنج و مرگ ناشی از پیکروتوکسین و پنتیلن تترازول به صورت ANOVA t-test و با استفاده از آزمونهای آماری Mean±SEM ثبت و با معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

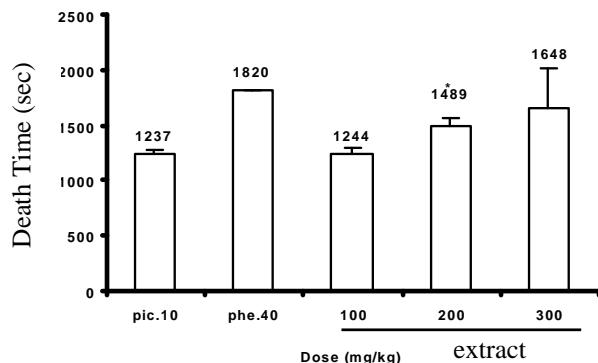
تشنج ناشی از تزریق ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم پیکروتوکسین در موش سوری: تزریق داخل صفاقی ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن پیکروتوکسین ابتدا باعث انقباضات خفیف تا متوسط و معمولاً پراکنده در موش سوری شد. این انقباضات به صورت مشاهده افزایش ضربان قلب، تیکه های خفیف (بخصوص در گوش ها و ناحیه گردن)، خوابیدن گوشها، راستشدن دم، جمع کردن دست ها و به ندرت به صورت انقباضات پاها بروز کرد. پاها معمولاً از هم باز شده و قدرت حرکت حیوان محدود شده و در زمانهای ابتدایی بدن به صورت کشیده روی زمین قرار گرفت. بطوطی که دم حیوان، در حالت انقباض در امتداد بدن قرار گرفته و دست ها به صورت جمع شده در زیر بدن واقع شد. ممکن است کمر و قامت حیوان در حالت عادی باشد و ستون فقرات آن به صورت کمان قرار گیرد که در این صورت تیکه هایی در قسمت گردن موش مشهود خواهد بود و به شکل

را به عنوان تشنج تونیک در نظر گرفته شد که در مقایسه با پیکروتوکسین، پنتیلین تترزاول تشنج تونیک ملایم‌تری را نشان داد که هم از لحاظ شدت تشنج و هم از لحاظ زمانی خفیفتر به نظر می‌رسید.



نمودار ۴. درصد مرگ و میر در گروه‌های دریافت پیکروتوکسین و عصاره دوزهای مختلف عصاره یا فنوباربیتال ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، ۲۰ دقیقه قبل از تزریق پیکروتوکسین ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، به صورت داخلی صفاقی به حیوانات تجویز شده است ($N=5$).
 $p<0.05$ و $p<0.01$ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل.

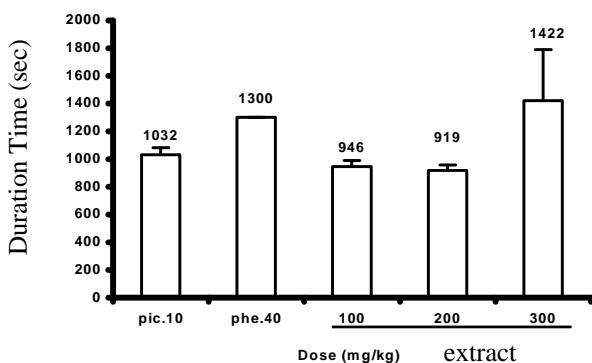
بعد از این مرحله موش ناگهان دچار لرزش‌های بی‌دری و غیر ارادی با فرکانس بالا شد که کاملاً قابل مشاهده بود. حیوان در این مرحله از تشنج شدت دچار تحرکات تشنجی و بی‌قراری شد و اغلب تمام قسمت‌های بدن را درگیر نموده و کاملاً فراغیر (Generalized) بود. در مورد پنتیلین تترزاول شدت این نوع حملات بیشتر از پیکروتوکسین بود، بطوری که موش باورها به سمت بالا پرتاب شد. در این مرحله کمر حیوان بطور غیرعادی خم و موش حالت کلاف به خود گرفت. در مورد پنتیلین تترزاول بازها دیده شد که دستها و پاها به صورت کاملاً کشیده و منقبض در امتداد طول بدن جانور از هم باز شدند و سر حیوان از قسمت گردن به پشت خم شد که گاهی با اژگون شدن حیوان به سمت عقب همراه بود. از وجه مشخصه این مرحله در مورد پنتیلین تترزاول، دوین و حشیانه (Wild running) بود که در اکثر موش‌ها برآورده شد. با توجه به این که دقیقاً الگوی ثابتی برای بروز تشنج وجود ندارد، این مرحله را با این مشاهدات خاص عنوان تشنج کلونیک در موش سوری درنظر گرفتیم. پنتیلین تترزاول با دوز ۰.۵ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بنتهایی در موش سوری باعث شروع حملات تشنجی در مدت زمان ۲۳۳ ثانیه شد. پیش‌درمانی حیوانات با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن باعث تأخیر در شروع حملات تشنجی شد (جدول ۱). زمان مرگ ناشی از پنتیلین تترزاول با دوز ۸۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بنتهایی در موش سوری ۱۹۷۳ ثانیه بود. در حیواناتی که با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن پیش‌درمانی شدند، این زمان به تأخیر افتاد. دوام تشنج ناشی از پنتیلین تترزاول با دوز ۸۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن در موش سوری ۱۷۴۰ ثانیه بود و عصاره زیرفون دوام تشنج را تا حد ۲۱۵۷ ثانیه بالا برد. در گروه کنترل مرگ و میر ۱۰۰٪ و در گروه تحت درمان با دوز ۲۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم عصاره، ۲ مورد (۴۰٪) بود (جدول ۱). در پیش‌درمانی با فنوباربیتال عنوان کنترل مثبت، در آزمایش پنتیلین تترزاول موش‌ها هیچ‌گونه علایم تشنجی نشان ندادند و تشنج در این موش‌ها کاملاً کنترل شد.



نمودار ۲. اثر عصاره مtanولی گیاه *Tilia Plathyphyllos* بر زمان مرگ ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری

دوزهای مختلف عصاره یا فنوباربیتال ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، ۲۰ دقیقه قبل از تزریق پیکروتوکسین ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، به صورت داخلی صفاقی به حیوانات تجویز شده است ($N=5$).

* $p<0.05$ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل



نمودار ۳. اثر عصاره مtanولی گیاه *Tilia Plathyphyllos* بر دوام تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری

دوزهای مختلف عصاره یا فنوباربیتال ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، ۲۰ دقیقه قبل از تزریق پیکروتوکسین ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، به صورت داخلی صفاقی به حیوانات تجویز شده است ($N=5$).

میزان مرگ و میر در گروه کنترل ۱۰۰٪ بود و در گروه درمان شده با دوز ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن مرگ و میر ۸۰٪ بود (نمودار ۴). تزریق پیکروتوکسین با انقباضات خفیف تا متوسط در موش سوری شروع شد که به تدریج با افزایش ضربان قلب، تیک‌های خفیف (بخصوص در گوش‌ها و ناحیه گردن)، خوابیدن گوش‌ها، راست شدن دم، جمع کردن دستها و کمتر به صورت انقباضات پاها بروز کرد. وضعیت پاها تقریباً همانند عالم تشنج ناشی از تزریق پیکروتوکسین بود و در این حالت دم حیوان، در حالت انقباض در امتداد بدن قرار گرفت و دستها به صورت جمع شده در زیر بدن واقع شد. کمر و قامت حیوان به صورت قوسی قرار گرفت که در این صورت تیک‌هایی در قسمت گردن موش مشهود بود که به شکل پرش سر به جلو و پایین نمایان شد. این مرحله از تشنج

جدول ۱. اثر عصاره متانولی زیرفون بر شاخصهای تشنج ناشی از پنتیلن ترازوول در موش سوری

گروه های درمانی	معیارهای اندازه گیری	زمان شروع	دوم تشنج	زمان مرگ	مرگ و میر	تعداد(%)	زمان (ثانیه)	دوم تشنج (ثانیه)	نashی از
نرمال سالین+پنتیلن ترازوول	نرمال سالین به میزان ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم یا دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم به گروههای ۵ تائی از موشیهای سوری بصورت داخل صفائی تجویز شده است.		۲۳۳±۳	۱۹۷۳±۸	۱۷۴۰±۷	(۱۰۰)۵	۱۹۷۳±۸	۱۷۴۰±۷	نashی از
عصاره +۱۰۰ پنتیلن ترازوول	عصاره +۱۰۰ پنتیلن ترازوول به میزان ۱۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم وزن گیاه دارای بیشترین اثر		۲۵۸±۵	۲۰۵۹±۴۱	۱۸۰۱±۳۹	(۱۰۰)۵	۲۰۵۹±۴۱	۱۸۰۱±۳۹	+۱۰۰ پنتیلن ترازوول
عصاره +۲۰۰ پنتیلن ترازوول	عصاره +۲۰۰ پنتیلن ترازوول به میزان ۲۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم وزن گیاه دارای بیشترین اثر		۳۵۱±۶*	۲۵۰۸±۳۴*	۲۱۵۷±۳۵*	(۴۰)۲*	۲۵۰۸±۳۴*	۲۱۵۷±۳۵*	+۲۰۰ پنتیلن ترازوول

نرمال سالین به میزان ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم یا دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم به گروههای ۵ تائی از موشیهای سوری بصورت داخل صفائی تجویز شده است.
**، p<0.01 : اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل

بحث و نتیجه گیری

کیلوگرم وزن دریافت کرده بود ۱۰۰ درصد بود. دوز مؤثر در محافظت از مرگ ناشی از پنتیلن ترازوول، ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بود که درصد مرگ و میر را به ۴۰٪ کاهش داد. درصد مرگ و میر در گروه کنترل که تنها پنتیلن ترازوول با دوز ۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن دریافت کرده بود، ۱۰۰٪ بود. در گروههایی که پیکرتوکسین دریافت کردند، عصاره زیرفون بر دام تشنج تاثیری نداشت ولی در گروههای مورد آزمایش با پنتیلن ترازوول، دوز ۲۰۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن به دلیل به تأخیر انداختن زمان مرگ باعث بقای بیشتر حیواناتی شد که مدت زمان بیشتری در مرحله تشنج به سر برده بودند و از طرفی شدت حملات در گروههایی که دوزهای مختلف عصاره بخصوص دوز ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن را دریافت کرده بودند، بسیار خفیفتر از گروه کنترل که تنها پنتیلن ترازوول دریافت کردند، بود.
در این مطالعه از فنوبایپریتال که یک داروی مؤثر ضدتشنج است، به عنوان کنترل مثبت استفاده شد که مکانیسم ضدتشنجی آن مشخص و مربوط به گیرنده‌های GABA_A می‌باشد. در مغز سه نوع گیرنده GABA وجود دارد: GABA_A، GABA_B و GABA_C. گیرنده‌ی نوع B وابسته به پروتئین G می‌باشد، در حالی که گیرنده‌های نوع A و C کانالهای لیگاندی یون کلر هستند که پلاریزاسیون غشای نورون را افزایش می‌دهند و مستقیماً عمل می‌نماید (۹). پیکرتوکسین و بیکوکولین آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی GABA_A هستند که هر دو می‌توانند شدیداً باعث ایجاد تشنج شوند (۲۶ و ۳۷). پنتیلن ترازوول به عنوان محرك در بیوهشی عمومی و برای برگشت دپرسیون تفسی و همچنین در درمان دپرسیون سایکوسکیزوفرنی کاربرد دارد (۳۰). پنتیلن ترازوول در دوزهای بالاتر باعث ایجاد تشنج عمومی از نوع Petit mal می‌شود (۱۰ و ۳۶). پنتیلن ترازوول با تحریک مستقیم گیرنده‌های NMDA تشنج ایجاد می‌کند (۱۰ و ۳۷). استفاده از دو ماده تشنج‌زا روش غربالگری اولیه مناسب برای بررسی اثر ضدتشنجی می‌باشد و با قطعیت بیشتری می‌توان اثر ضدتشنجی گیاه و دوز مؤثر آن را مشخص کرد (۲۶ و ۳۶). پنتیلن ترازوول با تحریک گیرنده NMDA در دوزهای بالا باعث تحریک سیستم عصبی مرکزی و ایجاد تشنج می‌شود (۱۰ و ۲۶). آزمایش‌های الکتروفیزیولوژیک نشان داده‌اند که این ماده با اثر مستقیم روی گیرنده NMDA همانند نوروتانسیمتر گلوماتات، موجب تحریک گیرنده‌های فوق می‌گردد (۲). این ماده با ایجاد صرع در حیوانات آزمایشگاهی مدل حیوانی مناسبی برای بررسی اثرات ضدتشنجی (کلونیک) داروها به دست می‌دهد

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی بر کوله سر شاخه‌های گلدار گیاه زیرفون دارای اثرات ضد تشنجی در موش سوری می‌باشد. دوز ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از عصاره این گیاه دارای بیشترین اثر ضد تشنجی بوده، زمان شروع تشنج را نسبت به گروههای کنترل که پیکرتوکسین یا پنتیلن ترازوول به تنها یکی دریافت کرده‌اند، به میزان قابل توجهی به تأخیر انداخت که قابل مقایسه با دوز ۶/۲۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از عصاره گیاه گل گاوزبان ایرانی است (۷). مؤثرترین دوز عصاره ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بود که باعث تأخیر در شروع حملات تشنجی گردید. دوز ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن اثرات کمتری از خود نشان داد. به نظر می‌رسد که این دوز قادر به ایجاد غلظت خونی کافی برای ایجاد حداکثر اثر نیست (۳۳). از طرفی افزایش دوز نیز باعث کاهش اثرات عصاره گردید که این احتمال را تقویت می‌کند که دوز ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن غلظت خونی بالاتر از حد درمانی ایجاد کرده و آثار مشاهده شده ناشی از اثرات غیرداروئی و سمی عصاره باشد (۳۳). همچنین اثرات مذکور ممکن است با خاطر وجود بعضی ترکیبات ناشاخته یا متابولیتهای آمها باشد. نتایج مشابهی در تحقیقات انجام شده روی عصاره گیاهی گزارش شده است (۲۶ و ۲۷). مشاهدات عینی هنگام انجام آزمایشها در گروهی که دوز ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن را دریافت کرده، حاکی از اثرات غیر داروئی و سمی عصاره بود. بطوری که رفتارهای کاملاً متفاوت و چندگانه‌ای از حیوانات به چشم می‌خورد. این رفتارها شامل عدم توانایی در حرکت، کشیده شدن بدن در هنگام راه رفت، بطوری که پاهای جلو حرکت می‌کرد و پاهای عقب جا می‌ماند و این باعث می‌شد که طول حیوان ۱/۵ برابر طول طبیعی شود. نوعی حالت گیجی و منگی، بی‌اختیاری در دفع ادرار و مدفوع و بطور کلی نوعی فلنج عضلانی بهوضوح در حیوانات دیده شد و (Muscular relaxant) این احتمال را که عصاره خاصیت شل کنندگی عضله را از طریق بلوك کانالهای کلسیمی داشته باشد را تقویت می‌کند. عصاره متانولی زیرفون در به تعویق انداختن زمان مرگ ناشی از تشنجات القا شده با پیکرتوکسین و پنتیلن ترازوول اثر معنی داری داشته است.

دوز ۳۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از عصاره باعث کاهش درصد مرگ و میر ناشی از پیکرتوکسین به ۸۰ درصد شد که قابل مقایسه با دوز ۶/۲۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن گیاه گل گاوزبان می‌باشد (۷). درصد مرگ و میر در گروه کنترل که تنها پیکرتوکسین با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای هر

NMDA و اثبات این امر نیازمند جدا نمودن این ترکیبات از گیاه و تحقیق اختصاصی بر روی هر یک از مواد موثره می‌باشد که مستلزم صرف وقت و هزینه‌های بیشتر می‌باشد. از آنجا که گیاه زیرفون به عنوان آرامبخش و ضد تشنج در طب سنتی ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد، همچنین گیاهی است که در مناطق جنوبی و شمالی ایران به وفور یافت می‌شود (۴۳)، اهمیت تحقیق در زمینه آنالیزهای فیتوشیمیابی و مطالعات دقیق‌تر و گستردگرتر فارماکولوژیک آشکارتر می‌شود. بر اساس نتایج این مطالعه عصاره مтанولی سرشاخه‌های گلدار گیاه زیرفون باعث تأخیر در شروع حملات تشنجی، تاخیر در مرگ و کاهش درصد مرگ و میر ناشی از پیکروتوکسین و پنتیلن تترازول می‌گردد و برای استفاده از آن بعنوان ضد تشنج، بایستی مطالعات تکمیلی روى آن انجام شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان بخاطر تامین بخشی از هزینه‌های این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود.

(۲۰ و ۲۶). پیکروتوکسین، آنتاگونیست گیرنده GABA-A بوده و از طریق مهار این گیرنده باعث بروز حملات تشنج عمومی در حیوانات آزمایشگاهی می‌شود و داروی مناسبی برای بررسی اثرات ضد تشنجی ترکیبات مختلف می‌باشد (۲۴ و ۲۵).

مواد اصلی در این گیاه شامل فلاونوئیدهای مختلف، Kaempferol کورستین، هایپروسید و روتین و گلی‌کوزیدها (مانند آسترالیان)، کامفرون و آمینواسیدهای مختلف شامل آلانین، سیستین و سیستین می‌باشد (۳۸ و ۳۹). گزارشاتی در خصوص وجود مواد موثره در گونه‌ای از *Tilia* که بر روی گیرنده‌های بنزودیازپینی اثر می‌گذارد (۴۰) و همچنین گزارشاتی در خصوص واسط گری گیرنده‌های بنزودیازپینی در اثرات ضد اخطرای فلاونوئیدها وجود دارد (۴۱-۴۲). لذا با توجه به نتایج مطالعات قبلی (۷) و با توجه به ماده موثره موجود در گیاه زیرفون احتمال دخالت فلاونوئیدها که تمایل زیادی به گیرنده‌های بنزودیازپینی متصل به گیرنده GABA_A دارند، در اثرات ضد تشنجی گیاه زیرفون وجود دارد. با این حال مشخص نیست که آیا ماده موثره موجود در عصاره گیاه زیرفون از طریق گیرنده‌های GABA_A عمل می‌کند یا گیرنده‌های

Study of the Anticonvulsant Effects of Methanolic Extract of *Tilia Plathyphyllos Scop.* in Mice

**M.R. Heidari (Pharm D, PhD)^{1*}, M. Mehrabani (Pharm D, PhD)², A. Assadipour (Pharm D, PhD)³,
 E. Moghadammanesh (Pharm D)⁴, M. Heidari⁵, J. Vafazadeh (BSc)⁴**

1. Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutics Neuroscience and Physiology Research Centers, Keramn, Iran
 2. Pharmacognosy Department, Faculty of Pharmacy, Kerman, Iran
 3. Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Kerman, Iran
 4. Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
 5. Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
-

Received: Feb 3rd 2009, Revised: May 13th 2009, Accepted: Jul 15th 2009.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: There are some reports indicating the effects of *Tilia plathyphyllos Scop.* in nervous disorders including seizure in traditional literatures. Since classical study is not available, in the present investigation, the effects of methanolic extract of *Tilia plathyphyllos Scop* on seizure induced by picrotoxin and pentylenetetrazole were studied in mice.

METHODS: In this experimental study, groups of 5 animals pretreated with doses of 100, 200 and 300 mg/kg of methanolic extract of flowered branches of *Tilia plathyphyllos*, via intraperitoneal injection. After 20 minutes each animal received picrotoxin 10 mg/kg or pentylenetetrazole 80 mg/kg intraperitoneally, for induction of seizure. Latency of seizure, death time and percent of death were determined in treated and control groups.

FINDINGS: The latency of seizure induce by picrotoxin were increased in groups that pretreated with doses of 100 and 200 mg/kg of *Tilia plathyphyllos* extract, from 208 Sec to 298 (p<0.05) and 570 Sec (p<0.01) respectively. The latency of seizure induced by pentylenetetrazole were increased with dose of 200 mg/kg, from 233 Sec to 351 Sec (p<0.01). In addition the dose of 200 mg/kg of extract delayed the death time induced by picrotoxin from 1237 to 1498 Sec (p<0.05) and pentylenetetrazole from 1973 to 2508 Sec (p<0.01). The percentage of mortality from seizure induced by picrotoxin and pentylenetetrazole from 100% were decreased to 80% (p<0.05) and 40% (p<0.01) respectively.

CONCLUSION: Methanolic extract of flowered branches of *Tilia plathyphyllos* delayed the onset of seizure, death time and decreased the percentage of mortality from picrotoxin and pentylenetetrazole. Further studies are needed for use of this, as antiseizure.

KEY WORDS: *Tilia plathyphyllos*, Seizure, Picrotoxin, Pentylenetetrazole, Mice.

*Corresponding Author;

Address: Department Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, P.O. Box 76175-493, Kerman, Iran

Tel: +98 341 3205001-2

E-mail: heidarimr@kmu.ac.ir

References

- Hopkins A, Shorvon S, Cascino G. Epilepsy, 2nd ed, London, Chapman & Hall 1995; pp: 38-42, 82.
- Purves d, Dav A. Neuroscience, 3rd ed, Sunderland, Massachusetts: Sinauer CP 1997; pp: 110-12, 137-8.
- Katzung BG. Basic & Clinical Pharmacology, 10th ed, United States, Appleton and Lange 2007; pp: 374-94.
- Carvey PM. Drug action in the central nervous system, New York: Oxford University Press, 1998; pp: 201.
- Zargari, A. Medicinal plants, 7th ed, Vol 1, Tehran, Tehran University Publications 1997; pp: 399-402. [in Persian]
- Mahmoodi M, Heidari MR, Zohoor AR. Experimental study to evaluate the pretreatment of *Melissa officinalis* extract against lethal seizures induced by pentylenetetrazole in Wistar rats. *J Kerman Univ Med Sci* 2001; 8(2): 88-94. [in Persian]
- Heidari MR, Mandegary A, Hosseini A, Vahedian M. Anticonvulsant effect of methanolic extract of *eichium amoenum* Fisch and C.A Mey against seizure induced by picrotoxin in mice. *Pakistan J Biol Sci* 2006; 9(4): 772-6.
- Heidari MR, Assadipour A, Rashid-Farokhi P, Assad H, Mandegary A. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. Extract on the seizure induced by picrotoxin in mice. *Pakistan J Biol Sci* 2005; 8(12): 1807-11.
- Heidari MR, Bayat M. Effects of methanolic extract of *Papaver somniferum* L. on seizure induced by picrotoxin in male mice. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2003; 2(3 and 4): 187-94. [in Persian]
- Sayyah M, Mandegary A, Kamalinejad M. Evaluation of the anticonvulsant activity of the seed aceton extract *ferula gummosa* Boiss against seizures induced by pentylenetetrazole and electroconvulsive shock in mice. *J Ethopharmacol* 2002; 82(2-3): 105-9.
- Fluke H. Medicinal plants, 5th ed, Tehran, Roozbahan Publication 2000; p: 97. [in Persian]
- Volak J, Stodola JIRI. Text of medicinal plants, Translator: Par Saed Zaman, 4th ed, Grund edition, Tehran 1997; pp: 322-3. [in Persian]
- Samsam Shariat H. Herbal treatment advantages: principle of prescription, 6th ed, Tehran, Roozbahan Publication 1994; p: 134. [in Persian]
- Brickman G. Herbal medicine, 1st ed, London, Integrative Medicine Communication 2000; pp: 240-2.
- Toker G, Aslan M, Yesilada E, Memisoglu M, Ito S. Comparative evaluation of the flavonoid content in officinal *Tiliae Flos* and Turkish lime species for quality assessment. *J Pharm Biomed Anal* 2001; 26(1): 111-21.
- Bremness L. Herbs, 2nd ed, London, Dorling Kindersly Book 1994; p: 88.
- Duke JA. Handbook of Medicinal herbs, 1st ed, Boca Raton, CRC Press 2002; pp: 467-8.
- Zeppa S, Vallorani L, Potenza L, et al. Estimation of fungal biomass and transcript levels in *Tilia plathyphylllos* Tuber borchii ectomycorrhizae. *FEMS Microbial Lett* 2000; 188(2): 119-24.
- Rojhan MS. Drug and herbal treatment, 4th ed, Tehran, Tehran University Publication 1995; p: 86. [in Persian]
- Silver DB. Healing plants, 2nd ed, London, McGraw Hill Co 2000; pp: 160-1.
- Aguirre-Hernández E, Martínez AL, González-Trujano ME, Moreno J, Vibrans H, Soto-Hernández M. Pharmacological evaluation of the anxiolytic and sedative effects of *Tilia americana* L. var. *mexicana* in mice. *J Ethnopharmacol* 2007; 109(1): 140-5.
- Pérez-Ortegaa G, Guevara-Feferb P, Chávez M, et al. Sedative and anxiolytic efficacy of *Tilia americana* var. *mexicana* inflorescences used traditionally by communities of State of Michoacan, Mexico. *J Ethnopharmacol* 2008; 116(3): 461-8.
- Herrera-Ruiz M, Román-Ramos R, Zamilpa A, Tortoriello J, Jiménez Ferrer JE. Flavonoids from *Tilia americana* with anxiolytic activity in plus-maze test. *J Ethnopharmacol* 2008; 118(2): 312-7.
- Swinyard EA. Laboratory evaluation of antiepileptic drugs. Review of laboratory methods. *Epilepsia* 1969; 10(2): 107-19.

25. Meckenzie L, Medvedev A, Hiscock JJ, Pope KJ, Willoughby JO. Picrotoxin-induced generalized convulsion seizure in rat: changes in regional distribution and frequency of the power of electroencephalogram rhythms. *Clin Neurophysiol* 2002; 113(4): 586-96.
26. Nevins ME, Arnolde SM. A comparison of the anticonvulsant effects of competitive and noncompetitive antagonists of the N-methyl-D-aspartate receptor. *Brain Res* 1989; 503(1): 1-4.
27. Mehrabani M, Modirian E, Ebrahimabadi AR, Vafazadeh J, Shahnavaz Sh, Heidari MR. Study of the effect of hydro-methanol extract of *Lavandula vera* DC. and *Cuscuta epithymum* Murr on the seizure induced by pentylenetetrazol in mice. *J Kerman Univ Med Sci* 2007; 14(1): 25-32. [in Persian]
28. Ojewole JA. Anticonvulsant effect of *Rhus chirindensis* (Baker F.) (Anacardiaceae) stem-bark aqueous extract in mice. *J Ethnopharmacol* 2008; 117(1): 130-5.
29. Samsam-Shariat H. Extraction and quantitative and qualitative evaluation of active constituents and control methods for medicinal plants, 1st ed, Isfahan, Maani Publication 1992; pp: 12-16. [in Persian]
30. Fauci AS, Braunwald E, Kasper D, et al. Harrison's principles of internal medicine, 17th ed, Vol 2, New York, Mc Graw Hill 2008; pp: 2498-500.
31. Gower AJ, Noyer M, Verloes R, Gobert J, Wulfert E. Anti-convulsant drug: Pharmacological profile in animals. *Eur J Pharmacol* 1992; 222(2-3): 193-203.
32. Yamaguchi S, Rogawski MA. Effects of anticonvulsant drugs on 4-amino pyridine induced seizures in mice. *Epilepsy Res* 1992; 11(1): 9-16.
33. Sharpe L, Mutnick AH, Souney PF, Souney PF, Swanson LN. Comprehensive Pharmacy Review, 4th ed, Lippincott Williams & Wilkins 2001; pp: 822-44.
34. Lian XY, Zhang ZZ, Striger JL. Anticonvulsant activity of ginseng on seizures induced by chemical convulsants. *Epilepsia* 2005; 46(1): 15-22.
35. Heidari MR, Khalili F, Ghazi Khansari M, Hashemi B, Zarrindast MR. Effect of picrotoxin on antinociception in the formalin test. *Pharmacol Toxicol* 1996; 78(5): 313-16.
36. Upton N. Mechanisms of action of new antiepileptic drugs: rational design and serendipitous findings. *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15(12): 456-63.
37. White HS. Clinical significance of animal seizure models and mechanism of action studies of potential antiepileptic drugs. *Epilepsia* 1997; 38(Suppl 1): 9-17.
38. Ainechi, Y. Medicinal plants, 1st ed, Tehran, Tehran University Publications 1991; pp: 1024. [in Persian]
39. Viola H, Wolfman C, Levi de Stein M, et al. Isolation of pharmacologically active benzodiazepine receptor ligands from *Tilia tomentosa* (Tiliaceae). *J Ethnopharmacol* 1994; 44(1): 47-53.
40. Du XM, Sun NY, Takizawa N, Guo YT, Shoyama Y. Sedative and anticonvulsant activities of goodyerin, a flavonol glycoside from *Goodyera schlechtendaliana*. *Phytother Res* 2002; 16(3): 261-3.
41. Medina JH, Viola H, Wolfman C, et al. Overview-flavonoids a new family of benzodiazepine receptor ligands. *Neurochem Res* 1997; 22(4): 419-25.
42. Salgueiro JB, Ardenghi P, Dias M, Ferreira MB, Izquierdo I, Medina JH. Anxiolytic natural and synthetic flavonoid ligands of the central benzodiazepine receptor have no effect on memory tasks in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 58(4): 887-91.
43. Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names. Tehran, Farhang Moaser 1996; pp: 548-9.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.