

اثر عصاره هیدروالکلی گیاه سداب (*Ruta graveolens*) بر تشنج القا شده با پنتیلن تترازول در موش سوری نر

فائزه کیهانیان^۱، محمد رستم پور واجاری (PhD)^{۲*}، امین سعیدی نیا^۱، علیرضا علمیه (PhD)^۳

۱- باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت

۲- گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی گیلان

۳- گروه فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت

دریافت: ۹۰/۷/۸، اصلاح: ۹۰/۸/۱۸، پذیرش: ۹۰/۱۱/۱۹

خلاصه

سابقه و هدف: تشنج از مهمترین علائم صرع و بسیاری دیگر از آسیب های نوروزنیک است. علی رغم وجود داروهای ضد تشنج متنوع فعلی، تحقیقات برای کشف داروهای جدید با اثربخشی بهتر و عوارض نامطلوب کمتر، ادامه دارد. گیاهان دارویی با داشتن مواد متنوع طبیعی و خواص متفاوت، زمینه مناسبی برای این گونه تحقیقات می باشند. این مطالعه به منظور بررسی اثر ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی گیاه سداب (*Ruta graveolens*) در موش سوری نر انجام شد.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی بر روی ۵۶ سر موش سوری از نژاد NMRI در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۵ گرم که به طور تصادفی به ۷ گروه ۸ تایی شامل ۵ گروه آزمایش و یک گروه کنترل مثبت و یک گروه کنترل منفی تقسیم شدند، انجام گردید. به گروه های آزمایش دوزهای ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، عصاره و به گروه کنترل مثبت، میزان ۴۰ mg/kg، فنوباریتال، و به گروه کنترل منفی ۱۰ میلی لیتر در هر کیلوگرم نرمال سالین از طریق داخل صفاقی تزریق شد. بعد از ۴۵ دقیقه به تمام گروهها پنتیلن تترازول (۸۰ mg/kg) از طریق داخل صفاقی تزریق گردید و فاکتورهای شروع تشنجات میوکلونیک و تونیک-کلونیک و میزان مرگ و میر ۲۴ ساعته مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

یافته ها: گروه کنترل مثبت، هیچ گونه تشنجات میوکلونیک، تونیک - کلونیک و مرگ و میر در ۲۴ ساعت مشاهده نگردید. عصاره هیدروالکلی سداب به صورت وابسته به دوز موجب افزایش تأخیر در شروع تشنجات میوکلونیک گردید. تأخیر برای تشنج میوکلونیک در دوزهای ۱۰۰۰، ۸۰۰، ۵۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ($p < 0.001$) و در دوز ۱۰۰ mg/kg ($p < 0.01$) نسبت به گروه کنترل منفی دار بود. تأخیر برای تشنج تونیک-کلونیک در دوز ۱۰۰۰ mg/kg ($p < 0.001$) و دوزهای ۸۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم ($p < 0.05$) نسبت به گروه کنترل منفی دار بود.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه سداب موجب کاهش تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول در موش سوری نر می گردد.

واژه های کلیدی: سداب، تشنج، پنتیلن تترازول، موش سوری.

مقدمه

تشنج (Seizure)، رویداد نهایی اختلال عملکرد مغزی و ناشی از تخلیه غیرطبیعی نورون های مغزی می باشد که اغلب از یک منطقه شروع می شود و به سایر نقاط نیز گسترش می یابد (۱ و ۲) بسته به میزان و چگونگی انتشار آن تظاهرات بالینی متفاوتی بروز می نماید (۳). عواملی از جمله کمبود اکسیژن، کمبود گلوکز خون، کمبود کلسیم خون، آکالوز خونی، احتباس مایعات در بدن، کمبود خواب و بعضی از داروها، تحریکات نورونی را تشدید کرده و باعث ایجاد تشنج

می گردند (۴). درمان رایج صرع، که به دلیل تخلیه همزمان و غیرطبیعی دسته های بزرگی از نورون های مرتبط با هم اتفاق می افتد (۵)، عموماً به صورت مهار تشنج می باشد (۶ و ۷). با توجه به این که حملات تشنجی از جمله شایع ترین علایم بیماری های سیستم اعصاب مرکزی می باشند و افراد زیادی در سطح جامعه از آن رنج می برند، یافتن داروها و راه کارهای درمانی مناسب برای آن از اهمیت ویژه ای برخوردار است (۸). علیرغم استفاده از داروهای شیمیایی با مکانیسم های

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۸۹۹۶۵ باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت می باشد.
* مسئول مقاله:

آدرس: رشت، کیلومتر ۷ جاده تهران، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، تلفن: ۰۱۳۱-۶۶۹۰۰۹۹

e-mail: rost_vi@yahoo.com

توجه محققین قرار گرفته است. بیوفلاونوئیدها از این نظر که توانایی حذف رادیکال های آزاد را دارند، اهمیت زیادی داشته و اثرات هیدروکسیل اتیل روتین در مطالعات فارماکولوژیک بسیاری بررسی شده است (۲۶).

لذا با توجه به اثرات گیاه سداب بر سیستم های عصبی، این مطالعه به منظور بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ سداب بر تشنج ناشی از (Pentylene-tetrazole, PTZ) در موش های سوری نر انجام شد.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی از ۵۶ سر موش سوری نر نژاد NMRI با وزن تقریبی ۲۵-۳۵ گرم که از حیوان خانه دانشکده پزشکی رشت تهیه شد، استفاده گردید. موش ها به طور تصادفی به ۷ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. حیوانات به جز در زمان آزمایش، در مدت نگهداری به طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. رژیم غذایی موش ها، شامل غذای آماده (ساخت کارخانه خوراک دام پارس) و آب تصفیه شده شهری بود. موش ها از سیکل ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی برخوردار بودند. حیوانات به طور دسته جمعی نگهداری می شدند و فقط در روز آزمایش (حداقل یک ساعت قبل از شروع آزمایش)، در قفس انفرادی نگهداری شدند. درجه حرارت آزمایشگاه در حد 22 ± 2 درجه سانتی گراد نگه داشته شد و از هر موش فقط در یک آزمایش استفاده گردید. کلیه اصول کار بر روی حیوانات، مطابق استاندارد رعایت گردید (۲۷).

قسمت های هوایی گیاه سداب (*Ruta graveolans*) در اردیبهشت ماه از سطح شهرستان رشت جمع آوری، شناسایی و توسط کارشناس دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، تأیید شد. پس از خشک کردن، گیاه توسط آسیاب خرد گردید. ۴۰ گرم از گیاه خشک شده در یک ارلن، با ۲۵۰ میلی لیتر آب و ۲۵۰ میلی لیتر الکل ۷۰ درصد مخلوط و پس از مسدود نمودن دهانه آن با فویل آلومینیوم، روی حرارت بن ماری به دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت نیم ساعت قرار داده شد تا مواد مؤثره گیاه به محلول منتقل گردد. پس از قرار دادن نمونه در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت، مایع حاوی مواد مؤثره گیاه از صافی گذرانده شد تا تفاله های گیاهی از آن جدا شود. محلول حاوی مواد مؤثره به بالون حجمی مخصوص دستگاه تقطیر در خلا (Rotary evaporator) منتقل شد و پس از تبخیر الکل و آب آن، محلول حاصل درون آون با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک گردد (۵).

وزن عصاره خشک بدست آمده، ۹ گرم بود. در این مطالعه ۴۵ دقیقه قبل از تزریق پنتیلن تترازول (ساخت شرکت سیگما، آمریکا) (۸۰ میلی گرم در هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی)، به ۵ گروه تحت آزمایش غلظت های ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم، عصاره هیدروالکلی سداب، به گروه کنترل مثبت، ۴۰ mg/kg فنوباریتال (ساخت آلمان) و به گروه کنترل منفی نرمال سالین (۱۰۰ میلی لیتر در هر کیلوگرم) به طریق داخل صفاقی تزریق شد (۲۸) و زمان شروع تشنجات میوکلونیک، تونیک-کلونیک و میزان مرگ و میر ۲۴ ساعته مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، حمله میوکلونیک به حالتی اطلاق می شود که در آن پرش ناگهانی اندامها (کنده شدن از زمین توسط ۴ دست و پا) رخ می دهد. حمله تونیک-کلونیک نیز حالتی است که اندامها در یک وضعیت کشیده (Extension) و سخت قرار می گیرند و موش دچار حرکات لرزشی

متنوع جهت درمان صرع و تشنج، در حدود ۱۵ درصد از بیماران این علائم با درمان دارویی قابل کنترل نیست (۹). مصرف داروهای ضدصرع، همواره توأم با عوارض جانبی (۶ و ۷) و تداخلات دارویی متعدد بوده و در برخی موارد مقاومت به دارو نیز دیده می شود (۱۰). داروهای ضدصرع را به علت عوارضی مانند پتانسیل ترانژنسیستی، نمی توان به صورت طولانی مدت و توأم مصرف نمود. از سوی دیگر چنانچه تشنج بیماران صرعی درمان نشود، به دلیل محدودیت هایی که ایجاد می کند بسیاری از توانایی های فرد را تحت تأثیر قرار می دهد (۱۱).

تاکنون برای درمان صرع و تشنج داروهای شیمیایی بسیاری تولید شده است که اثربخشی مناسبی داشته اند ولی با درمان های موجود در ۸۰ درصد موارد می توان حملات تشنجی را کنترل نمود و میلیون ها نفر در دنیا صرع کنترل نشده دارند (۱۲). عوارض نامطلوب داروهای ضد صرع به علت نیاز بیماران به مصرف طولانی مدت و مداوم داروها اهمیت بیشتری پیدا می کند (۱۳). بنابراین نیاز به داروهای موثرتر و اختصاصی تر کاملاً محسوس است و یافتن داروهای جدید با محدودیت های کمتر می تواند از پیشرفت های با ارزش در درمان صرع محسوب شود. امروزه گیاهان دارویی به عنوان منبعی مناسب برای یافتن داروهای جدید مورد توجه محققان قرار گرفته اند (۱۲).

علت عمده توجه به استفاده از طب سنتی و گیاهان دارویی این است که گیاهان دارویی از قرن ها پیش مورد استفاده پزشکی بوده اند و اثرات درمانی و بی ضرر آن ها در طول سالیان متمادی به اثبات رسیده است (۳). با توجه به این که گیاهان دارای مواد مؤثره متعدد می باشند (۱۷-۱۴) و بر اساس تحقیقات انجام شده (۲۰-۱۸)، منطقی است با تحقیق بر روی گیاهانی که در مورد اثرات مفید آنها بر سیستم عصبی ادعاهایی وجود دارد و یا در بعضی منابع اثرات ضد تشنجی آنها ذکر شده، اقدام به تحقیق نمود (۲۱). یکی از گیاهان دارویی که در طب سنتی ایران و ملل مختلف سابقه مصرف دیرینه داشته و خواص درمانی چشمگیری برای آن ذکر کرده اند، گیاه سداب است. ارزش درمانی این گیاه به قدری زیاد می باشد که از آن به عنوان درمان کننده "جميع بیماری ها" نام برده شده است (۲۲).

سداب گیاهی است که در طب سنتی ایران و ملل مختلف سابقه مصرف دیرینه داشته و خواص درمانی چشمگیری برای آن ذکر کرده اند که از جمله، تشنج می باشد (۲۳ و ۲۴). نکته جالب توجه در مورد این گیاه طیف وسیع اثرات درمانی آن در انسان و اثرات کشنده یا متوقف کننده رشد در موجودات تک سلولی و پر سلولی مزاحم انسان و همچنین اثرات بیولوژیک بر گیاهان دیگر است. اما در تحقیقات بالینی و آزمایشگاهی انجام شده بر این گیاه، هنوز بسیاری از مکانیسم های عملکردی گیاه و ترکیب یا ترکیبات مؤثر آن شناخته نشده است و از آنجا که طبق شواهد و مدارک به جا مانده از پیشینیان، این گیاه ارزش درمانی بالایی داشته و نیز اثرات درمانی آن در برخی از بیماری های صعب العلاج یا لاعلاجی چون سرطان، آلزایمر و اسکروز مولتیپل گزارش شده است، لذا انجام تحقیقات بیشتر بر روی این گیاه می تواند نتایج با ارزشی به دنبال داشته باشد (۲۵). کاربردهای بسیاری از جمله درمان فلج، تشنج و... برای این گیاه ذکر شده است (۲۳). تاکنون بیش از ۸۵ ماده از قسمت های مختلف (برگ، ساقه، ریشه و دانه) گیاه سداب با استفاده از کروماتوگرافی گازی، شناسایی شده که شامل انواع گلیکوزید، آلکالوئیدهای کینولینی، کومارین ها، لیگنین ها و فلاونوئیدها می باشند (۲۴). از میان این دسته مواد، فلاونوئیدها و به خصوص روتین (Rutin) مورد

یافته ها

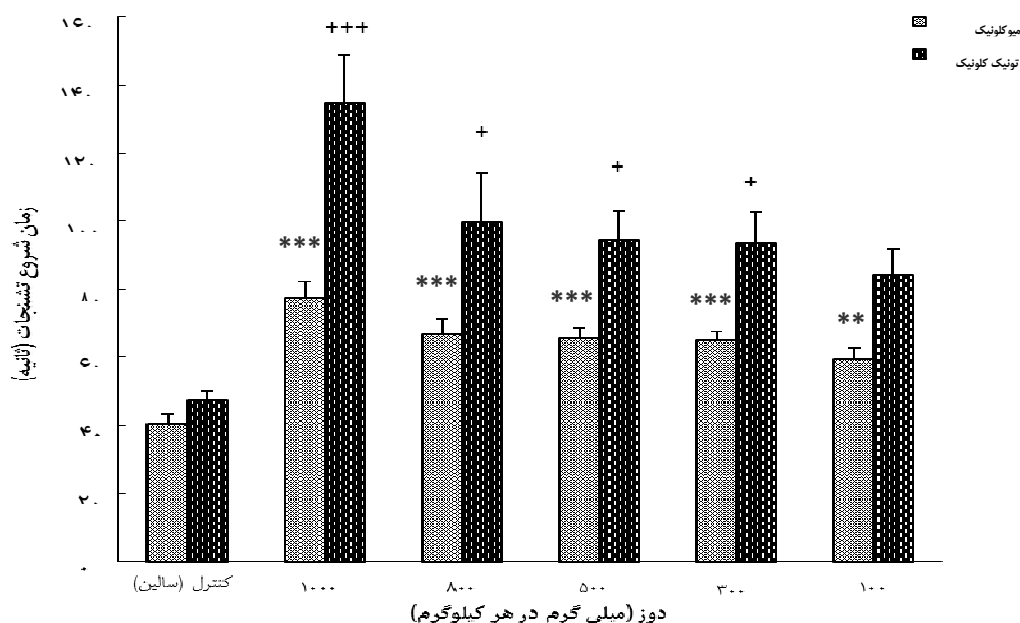
پی در پی و غیر ارادی منظم می شود (۲۹).

جهت بررسی آماری کمیت های اندازه گیری، از روش آنالیز واریانس و جهت تشخیص اختلاف بین گروه های مختلف از آزمون توکی Tukey استفاده شد و $p < 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

در گروه کنترل مثبت، هیچ گونه تشنجات میوکلونیک، تونیک - کلونیک و مرگ ومیر در ۲۴ ساعت مشاهده نگردید. عصاره هیدروالکلی سداب بصورت وابسته به دوز موجب افزایش تأخیر در شروع تشنجات میوکلونیک گردید (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج میانگین شروع تشنج میوکلونیک و تونیک کلونیک در گروه های تحت تیمار و کنترل

گروه ها	شروع تشنج میوکلونیک (ثانیه) (mean±SD)	شروع تشنج تونیک - کلونیک (ثانیه) (mean±SD)	درصد مرگ و میر ۲۴ ساعته (%)
کنترل منفی (سالین)	۴۰/۷۵±۲/۳۸۹	۴۷/۳۷۲±۲/۸۲۲	۱۰۰
کنترل مثبت (فنوباریتال ۴۰ میلی گرم در کیلوگرم)	> ۳۶۰۰	> ۳۶۰۰	۰
سداب (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)	۵۹/۳۷۵±۳/۵۸	۸۴/۲۵±۷/۶۹۲	۵۰
سداب (۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)	۶۵±۲/۷۱۷	۹۳/۳۷۵±۹/۳۱	۵۰
سداب (۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)	۶۵/۶۲۵±۳/۱۰۵	۹۴/۳۷۵±۸/۶۰۴	۵۰
سداب (۸۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)	۶۶/۸۷۵±۴/۳۹۸	۹۹/۶۲۵±۱۴/۴۲۸	۳۷/۵
سداب (۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)	۷۷/۶۲۵±۴/۴۹۲	۱۳۴/۸۷۵±۱۴/۱۵۴	۲۵



شکل ۱: نمودار دوز-پاسخ تزریق دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی برگ سداب بر زمان شروع تشنجات

میوکلونیک و تونیک کلونیک ناشی از تزریق داخل صفاقی PTZ

$P < 0.01$ و $***P < 0.001$ — مقایسه بین گروه های تحت تزریق عصاره و گروه کنترل برای شروع تشنجات میوکلونیک
 $P < 0.05$ و $+++P < 0.001$ — مقایسه بین گروه های تحت تزریق عصاره و گروه کنترل برای شروع تشنجات تونیک کلونیک

۱۰۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم با $P < 0.001$ نسبت به گروه کنترل معنی دار بود (نمودار ۱).

ب: بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ سداب بر شروع تشنجات تونیک-کلونیک ناشی از پنتیلن تترازول: نتایج نشان داد که دوزهای ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی برگ

الف: بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ سداب بر شروع تشنجات میوکلونیک ناشی از پنتیلن تترازول: نتایج نشان داد که دوزهای ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی برگ سداب نسبت به گروه کنترل، زمان شروع تشنجات میوکلونیک را افزایش داد که این افزایش در دوز ۱۰۰ mg/kg با $p < 0.01$ و در دوزهای ۳۰۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و

گیرنده های $GABA_A$ در سیستم اعصاب مرکزی می باشد (۳۶ و ۳۷). بعلاوه آشکار شده است که آن ها به عنوان مولکول های شبه بنزودیازپینی عمل می کنند (۴۰-۳۸). از جمله مواد فلاونوئیدی موجود در گیاه سداب، روتین (Rutin) می باشد. گزارش شد که روتین اثرات ضد تشنجی را از طریق کمپلکس گیرنده گابا A- بنزودیازپین اعمال می کند. بنابراین احتمال داده می شود که روتین لیگاندی برای گیرنده های بنزودیازپینی باشد (۴۱). از طرفی دیگر در مطالعات *In vitro* نشان داده شده که روتین اثرات مهاری بر گابا ترانس آمیناز ($GABA-T$) و سوکسینیک سمی آلدئید دهیدروژناز ($SSADH$) دارد. مهار هر دو آنزیم در بافت مغزی، میزان $GABA$ را افزایش می دهد و ممکن است کاربردهای درمانی در اختلالات نورولوژیکی داشته باشد. همچنین $GABA-T$ به عنوان هدف مهمی برای بعضی داروهای موثر بر مغز شناخته شده است. بنابراین، عمل مهاری فلاونوئید ها بر این آنزیم ها ممکن است باعث بروز اثرات نوروفارماکولوژی آن ها بشود (۴۲). از طرفی دیگر مطالعات، ارتباطی را بین تشنج و میزان سایتوکین های التهابی در مغز نشان داده اند (۴۳)، به عبارت دیگر در اختلالات صرعی واکنش های التهابی در مغز رخ داده و تحریک پذیری نورونی و قابلیت نفوذ از سد خونی مغزی را افزایش و بقای سلولی را کاهش می دهند. اگر چه اینترلوکین ۶ و TNF آلفا در مغز طبیعی، به میزان پایینی بیان می شوند، اما پس از القای تشنج میزان آن ها به سرعت بالا می رود (۴۴).

اثرات ضد التهاب سداب در آزمایش های متعددی بر روی حیوانات و نیز در سطح سلولی به اثبات رسیده است. تحقیقات نشان داده اند که مکانیسم اثرات ضد التهابی این گیاه از طریق مهار تولید برخی از فاکتورهای التهابی به توسط فلاونوئیدها و کومارین های موجود در آن است. روتین، فلاونوئید استخراج شده از سداب و کوئرستین (که از هیدرولیز روتین توسط گلوکوزیداز در دستگاه گوارش حاصل می شود) می توانند بر تولید نیتریک اکسید ناشی از القای لیپولی ساکارد باکتری ها توسط ماکروفاژ پریتونال در *in vivo* و *in vitro* اثر مهاری داشته باشند. هر چند که اثر خود روتین خفیف می باشد ولی مشتق آن اثر کاهشی وابسته به دوز نشان داده است. به علاوه کاهشی در میزان آنزیم القایی سازنده نیتریک اکسید ($iNOS$) کبدی و ریوی موش ها نیز دیده شده، اما در میزان آنزیم سیکلوکسیژناز ۲ تغییری مشاهده نشده است. همچنین نشان داده شده که عصاره ۵۰ درصد متانلی سداب، توانایی مهار بیان ژن آنزیم $iNOS$ و سیکلوکسیژناز ۲ ($COX-2$) در سلول های ماکروفاژ را دارد (۲۳). لذا با توجه به اثرات ضد تشنجی آنتی اکسیدان ها (۴۵) و اثرات آنتی اکسیدانی سداب، به نظر می رسد بخشی از اثرات ضد تشنجی سداب به خاطر اثرات آنتی اکسیدانی آن می باشد.

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه، اثرات کاهشی احتمالی عصاره هیدروالکلی گیاه سداب را بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول نشان می دهد؛ اگرچه برای مشخص تر شدن سایر مکانیسم های اثرات احتمالی ضد تشنجی سداب، نیاز به مطالعات بیشتری می باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری ها و کمک های آقایان دکتر بخشی و اسعدی در دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان و همچنین از باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت تشکر و قدردانی می گردد.

سداب زمان شروع تشنجات تونیک-کلونیک را نسبت به گروه کنترل افزایش داد که این افزایش در دوزهای ۳۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم با $p < 0.05$ و در دوز 1000 mg/kg با $p < 0.001$ نسبت به گروه کنترل معنی دار بود (نمودار ۱).

ج: بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ سداب بر میزان مرگ و میر ۲۴ ساعته ناشی از پنتیلن تترازول: بررسی ها کاهش میزان مرگ و میر ۲۴ ساعته را در دوزهای ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی برگ سداب نسبت به گروه کنترل نشان داد. این کاهش مرگ و میر ۲۴ ساعته موش ها در دوزهای ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم به میزان ۵۰٪ و در دوز ۸۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم به میزان ۶۲٪ و در دوز ۱۰۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل به میزان ۷۵٪ بود. این کاهش مرگ و میر در دوز 800 mg/kg با $p < 0.05$ و در دوز 1000 mg/kg با $p < 0.01$ نسبت به گروه کنترل معنی دار بود.

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی سداب به صورت وابسته به دوز موجب تاخیر در شروع تشنجات میوکلونیک و تونیک-کلونیک و کاهش مرگ و میر ۲۴ ساعته ناشی از تشنج نسبت به گروه کنترل گردید. دوز 1000 mg/kg بیشترین اثر را در جلوگیری از مرگ ۲۴ ساعته و نیز بیشترین تاخیر در شروع تشنجات تونیک-کلونیک و میوکلونیک داشت. دوز 500 mg/kg منجر به مرگ نیمی از موش ها گردید و به عنوان دوز LD_{50} برای عصاره هیدروالکلی سداب در این مطالعه شناخته شد.

تشنج القا شده به وسیله PTZ شایع ترین مدل برای غربالگری اثرات ضد تشنجی داروها است. PTZ به عنوان یک آنتاگونیست گیرنده $GABA_A$ که در غشای نورونی سیستم عصبی مرکزی قرار دارد، عمل می کند. $GABA$ مهمترین نوروترانسمیتر مهاری در تشنج به شمار می رود. در واقع PTZ با مهار انتقال پیام از این گیرنده موجب ایجاد تشنج می گردد و داروهای ضد تشنجی موجود همچون دیازپام و فنوباریتال با اثر آگونیستی که بر این گیرنده دارند منجر به تقویت انتقال پیام از آن شده و موجب سرکوب تشنج می شوند. همچنین برخی از داروهای ضد تشنج مانند بنزودیازپین ها و والپروئیک اسید با افزایش $GABA$ در داخل مغز موجب اثر ضد تشنجی می شوند (۳۰).

بر اساس بررسی های فیتوشیمیایی انجام شده، گیاه سداب دارای ترکیبات متعددی شامل مواد فلاونوئیدی و انواع فورانوکومارین ها از جمله زانتوتوکسین می باشد (۳۰ و ۱۳). گزارش شده است که فورانوکومارین ها دارای فعالیت ضد تشنجی می باشند (۳۱). لذا یکی از عوامل احتمالی اثرات ضد تشنجی عصاره سداب به خاطر دارا بودن فورانوکومارین ها می باشد. همچنین گزارش دیگری به اثرات ضد تشنجی زانتوتوکسین اشاره دارد (۳۲). این ماده نیز در عصاره سداب وجود دارد. از جمله مواد موثره دیگر در گیاه سداب، ترکیبات فلاونوئیدی می باشد. در مطالعه Arzi و همکاران، از جمله عوامل موثر در بروز اثرات ضد تشنجی عصاره بابونه در پیش گیری از تشنج ناشی از نیکوتین، به مواد فلاونوئیدی اشاره شده است (۲۸). مطالعات متعددی به اثرات فلاونوئید ها بر سیستم عصبی اشاره کرده اند (۳۳-۳۵). نشان داده شده که عمده این ترکیبات، لیگاندهایی برای

Effect of *Ruta Graveolens* Hydro-Alcoholic Extract on Pentylentetrazole-Induced Seizure in Male Mice

F. Keihanian¹, M. Rostampour Vajari (PhD)^{2*}, A. Saeidynia, A.R. Elmieh (PhD)³

1. Young Researchers Club of Azad University of Rasht Branch, Rasht, Iran
2. Department of Physiology, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
3. Department of Physiology, Azad University of Rasht Branch, Rasht, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(4); Jul 2012; pp: 30-36.

Received: Sep 30th 2011, Revised: Nov 9th 2011, Accepted: Feb 8th 2012.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Seizure is an important symptom of epilepsy and many other neurogenic disorders. Despite a variety of current anti-convulsive drugs, research for discovering new drugs with more efficacy and less unsuitable adverse effects has been continued. Herbal medicine has various natural substances and proper context for this type of research. The aim of this study was to survey the anticonvulsant effects of hydro-alcoholic extract of rue (*Ruta graveolens*) in male mice.

METHODS: In this experimental study anticonvulsant effect of extract evaluated by PTZ induced seizure. Fifty-six NMRI mice in the range of 25-35 gr were divided to 7 groups of 8 mice that included five cases, one positive control group and one negative control group. Case groups have been injected by 100, 300, 500, 800 and 1000 mg/kg of extracts, positive control group 40 ml/kg phenobarbital and negative control group 10 ml/kg normal saline intraperitoneally. All groups were injected by pentylentetrazole (80mg/kg) intraperitoneally after 45 minutes, and initiation time of myoclonic and tonic-colonic seizures and rate of 24 hours death were measured.

FINDINGS: Consequences of different doses of rue hydro-alcoholic extract increased delay in initiation of myoclonic and tonic-colonic seizures rather than control group dose-dependently and reduced 24 hours seizure-induced mortality ($p<0.05$). Delay in myoclonic seizures in doses of 300, 500, 800 and 1000 mg/kg ($p<0.001$) and 100 mg/kg ($p<0.01$) was significant in comparison with negative control group. Delay in tonic-colonic seizures in dose of 1000 mg/kg ($p<0.001$) and doses of 300, 500 and 800 mg/kg ($p<0.05$) was significant in comparison with negative control group.

CONCLUSION: Regarding to our findings, it seems that extract of this herb has decremental effect on PTZ-induced seizure in male adult mice.

KEY WORDS: *Rue, Seizure, Pentylentetrazole, Mice.*

*Corresponding Author;

Address: Department of Physiology, Medical Faculty, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

Tel: +98 131 6690099

E-mail: rost_v@yahoo.com

References

1. Rajeri S, Aminof MJ, Greenberg DA. Clinical neurology. Translated by Seyedian M. 4th ed. Tehran: Tabib Publication 1998; pp: 296-311. [in Persian]
2. Carvey PM. Drug action in the central nervous system. 5th ed. New York: Oxford University Press 1998; pp: 104-18.
3. Karimi Gh, Hosseinzadeh H, Bakhtiyari H. Study of anticonvulsant activity of Valeriana Officinalis roots and Rhizomes hydroalcoholic extract in mice and relation to Nitric Oxide. J Med Plants 2003;7(2):43-8.
4. Arzi A, Galehdar F. New attitude in epileptic drug therapy. 1st ed. Tehran: Research assistance of Health ministry of Iran 1990; pp: 2-42. [in Persian]
5. Arzi A, Shafie M. The effect of hydroalcoholic extract of Melissa Officinalis in prevention of convulsions induced by Nicotine in mice. J Babol Univ Med Sci 2002;4(2):18-22. [in Persian]
6. Jan Ahmadi M, Ganjkhani M, Fathi Moghadam H. Effects of a new Quinazolinone compound on underlying ionic currents induced in an epileptic model using voltage clamp technique. J Pejouhandeh 2001;7(4):319-29. [in Persian]
7. Sugaya E, Sugaya A, Kajiwar K, et al. Cellular physiology of epileptogenic phenomena—A hint for future therapy by a herbal mixture. In: L. Tang, S. Tang. Neurochemistry in clinical application. New York: Plenum 1994; pp: 165-79.
8. Sugaya E, Sugaya A. Cellular physiology of epileptogenic phenomena and its application of therapy intractable epilepsy. Comp Biochem Physiol C 1991;98(1):249-70.
9. Arzi A, Zahedi Asl S, Fallahzadeh D. Study of the preventive effect of hydroalcoholic extract of Thymus Vulgaris (TV) Nicotine induced convulsion. Sci Med J Ahwaz Univ Med Sci 2003;37:61-72. [in Persian]
10. Shahriari H, Beigi B F, Ersali A, Rahmanifard M. Anticonvulsant effect of Lavandula officinalis in two animal model of seizure. Iran J Basic Med Sci 2004;8 (3):172-8.
11. Emamghoreishi M, Heidari-Hamedani GH. Effect of extract and essential oil of Coriandrum sativum seed against pentylenetetrazole-induced seizure. Pharm Sci 2008;3:1-10. [in Persian]
12. Emamghoreishi M, Heidari Hamedani GH. Effect of extract and essential oil of Corindrum sativum seed against pentylenetetrazole-induced seizure. J Pharm Sci Tabriz Univ Med Sci 2008;14:1-10. [in Persian]
13. Heidari MR, Mehrabani M, Assadipour A, Moghadammanesh E, Heidari M, Vafazadeh J. Study of the anticonvulsant effects of methanolic extract of Tilia Plathyphyllos Scop in mice. J Babol Univ Med Sci 2010;11(6):7-15. [in Persian]
14. Katzung BG, Roger JP, Brian SM. Antiseizure drugs. In: Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. 9th ed. New York: Appleton and Lange 2004; pp: 379-400.
15. Zahedi A. Herbal dictionary. 1st ed. Tehran: Tehran University Publication 1997; pp: 99.
16. Zargari A. Medicinal plants. 6th ed. Tehran: Tehran University Publication 1995; pp: 106-15.
17. Velak J, Estudella J. Methods of cultivation of medicinal plants and color atlas of 256 herbs. 4th ed. Translated by Zaman S. Tehran: Ghoghnoos Publications 1999; p: 209. [in Persian]
18. Evans WC, Evanc D. Trease and evans pharmacognosy. 15th ed. London: W.B. Saunders 2002; pp: 369-70.
19. Heidari MR, Razban F. Effects of valeriana officinalis extract on the seizure induced by picrotoxin in mice. J Kerman Univ Med Sci 2003;11(2):100-8. [in Persian]
20. Sayyah M, Mandegary A, Kamalinejad M. Evaluation of the anticonvulsant activity of the seed acetone extract of Ferula gummosa Boiss. Against seizure induced by pentylenetetrazole and electroconvulsive shock in mice. J Ethnopharmacol 2002;82(2-3):105-9.
21. Bienvenu E, Amabeoku GJ, Eagles PK, Scott G, Spring Field EP. Anticonvulsant activity of aqueous extract of Leonotis Leonurus. Phytomedicine 2002;9(3):217-23.
22. Heidari M, Ebrahimi S, Mehrabani M, Pardakhti A, Vafazadeh J. Effects of methanolic extract of achillea Wilhelmsii C. koch on seizure induced by picrotoxin in mice. J Babol Univ Med Sci 2005;7(4):7-13. [in Persian]

23. Naghibi Harat Z, Kamalinejad M, Sadeghi MR, Sadeghipour HR, Eshraghian MR. A review on *Ruta graveolens* L.; its usage in traditional medicine and modern research data. *J Med Plants* 2009;30(8):1-19. [in Persian]
24. Momen Tonekaboni M. *Tohfatoilmomenin*. 1st ed. Corrected by Rahimi R, Shams Ardakani MR, Farjadmand F. Tehran: Nashr Shahr Publications 2007; pp: 241-2. [in Persian]
25. Zargari A. *Medicinal plants*. 6th ed. Tehran: Tehran University Publications 1996; pp: 464-7. [in Persian]
26. Stashenko EE, Acosta R, Martinez JR. High resolution gas-chromatographic analysis of the secondary metabolites obtained by subcritical-fluid extraction from Colombian rue (*Rutagraveolens* L.). *J Biochem Biophys Methods* 2000; 43(1-3):379-90.
27. Bowd AD. Ethics and animal experimentation. *Am Psychol* 1980;35:224-5.
28. Arzi A, Kesmati M, Alikhani M. Preventive effect of hydroalcoholic extract of *Matricaria Chamomilla* on Nicotine induced convulsions in mice. *J Babol Univ Med Sci* 2003;6(22):12-17. [in Persian]
29. Rosenberg HC, Tietz EI, Chiu TH. Differential tolerance to the antipentylentetrazole activity of benzodiazepines in flurazepam treated rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1991;39(3):711-6.
30. Weiss RF, Fintelman V. *Herbal medicine*. 2nd ed. Germany: Thieme 2000; pp: 181-330.
31. Tosun F, Kızılay CA, Erol K, Kılıc FS, Kurkcuoglu M, Baser KHC. Anticonvulsant activity of furanocoumarins and the essential oil obtained from the fruits of *Heracleum crenatifolium*. *Food Chem* 2008;107(3):990-3.
32. Luszczki JJ, Andres-Mach M, Gleńsk M, Skalicka-Woźniak K. Anticonvulsant effects of four linear furanocoumarins, bergapten, imperatorin, oxypeucedanin, and xanthotoxin, in the mouse maximal electroshock-induced seizure model: a comparative study. *Pharmacol Rep* 2010;62(6):1231-6.
33. Gupta R, Singh M, Sharma A. Neuroprotective effect of antioxidants on ischemia and reperfusion-induced cerebral injury. *Pharmacol Res* 2003;48(2):209-15.
34. Medina JH, Paladini AC, Wolfman C, et al. Chrysin (5,7-di-OH-flavone), a naturally-occurring ligand for benzodiazepine receptors with anticonvulsant properties. *Biochem Pharmacol* 1990;40(10):2227-31.
35. Tsang SY, Xue H. Development of effective therapeutics targeting the GABAA receptor: naturally occurring alternatives. *Cur Pharm Des* 2004;10(9):1035-44.
36. Marder M, Paladini AC. GABA_A-receptor ligands of flavonoid structure. *Cur Top Med Chem* 2002;2(8):853-67.
37. Medina JH, Viola H, Wolfman C, et al. Overview-- flavonoids: a new family of benzodiazepine receptor ligands. *Neurochem Res* 1997;22(4):419-25.
38. Kahnberg P, Lager E, Rosenberg C, et al. Refinement and evaluation of a pharmacophore model for flavone derivatives binding to the benzodiazepine site of the GABA (A) receptor. *J Med Chem* 2002;45:4188-4120.
39. Wasowski C, Marder M, Viola H, Medina JH, Paladini AC. Isolation and identification of 6-methylapigenin, a competitive ligand for the brain GABA_A receptors, from *Valerina walliichii*. *Planta Medica* 2002;68(10):934-6.
40. Fernandez SP, Wasowski C, Loscalzo LM, et al. Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides. *Eur J Pharmacol* 2006;539(3):168-76.
41. Nassiri-Asl M, Shariati-Rad S, Zamansoltani F. Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008;32(4):989-93.
42. Tao YH, Jiang DY, Xu HB, Yang XL. Inhibitory effect of *Erigeron breviscapus* extract and its flavonoid components on GABA shunt enzymes. *Phytomedicine* 2008;15(1-2):92-7.
43. Auin S, Shin D, Mazarati A, Nakagawa J, Miyamoto J, Sankar R. Inflammation exacerbates seizure-induced injury in the immature brain. *Epilepsia* 2007;48(Suppl 5): 27-34.
44. Vezzani A, Granata T. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia* 2005;46(11):1724-43.
45. Sundha K, Rao AV, Rao A. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy. *Clin Chem Acta* 2001;303(1-2):19-24.