

## اثر عصاره ریشه سنبل الطیب بر آستانه تشنج ناشی از پنتیلن تترازول در موش سوری

میرهادی خیاط نوری<sup>۱\*</sup>، علی ناموران<sup>۲</sup>

۱- گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز-ایران.

۲- دانش آموخته دامپزشکی و عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز-ایران.

\* نویسنده مسئول: mh.khayatnouri@iaut.ac.ir

دریافت مقاله: ۱ بهمن ۸۹، پذیرش نهایی: ۱۰ خرداد ۹۰

### Effect of Valerian officinalis root extract on PTZ- induced seizure threshold in mice

Khayat Nouri, M.H.<sup>1\*</sup>, Namvaran, A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Veterinary Medicine Faculty, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

<sup>2</sup>Veterinary Medicine Faculty, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz- Iran.

#### Abstract

Different studies showed that the root of *Valerian officinalis* contains free amino acid like GABA and other material like Valeric acid and Isovalerat. Also showed that GABA, Valeric acid and Isovalerat had anticonvulsant effects in animal seizure models. In traditional medicine anticonvulsant effect of *Valerian officinalis* is reminded. In this study anticonvulsant effect of *Valerian officinalis* using standard method of making chemical seizure with PTZ in mice, was studied. After measuring seizure threshold with PTZ in control group, different doses of *Valerian officinalis* (0.25, 0.5, 1 g/kg) orally administrated. Results showed that the PTZ seizure threshold was 35.52 0.85 mg/kg in control group. In animals pretreated with *Valerian officinalis* the PTZ seizure threshold showed dose dependently increased ( $p < 0.05$ ). In conclusion results showed that: the mechanism of anticonvulsant effect of *Valerian officinalis* probably is via GABAergic effect of this agent. This subject needs to be more investigation in human. **Vet. Res. Bull. 7, Supplementary issue:43-47, 2012.**

**Keywords:** *Valerian officinalis*, PTZ, Seizure, Mice.

### چکیده

مطالعات مختلف نشان داده است که ریشه گیاه سنبل الطیب حاوی مقدار قابل توجهی از اسیدهای آمینه آزاد همچون گابا و مواد دیگر مثل والریک اسید و ایزووالرات است. همچنین آثار ضد تشنجی برای این مواد در مدل‌های حیوانی تشنج ذکر شده و در طب سنتی نیز ریشه این گیاه بعنوان داروی ضد تشنج مطرح گردیده است. در این مطالعه اثر ضد تشنجی عصاره آبی ریشه گیاه سنبل الطیب، با استفاده از روش استاندارد ایجاد تشنج شیمیایی، توسط پنتیلن تترازول (PTZ) در موش سوری بررسی شد. پس از تعیین آستانه تشنج در گروه کنترل، دوزهای مختلف سنبل الطیب (۱g/kg و ۰/۵ و ۰/۲۵) بصورت خوراکی تجویز و اثر آنها بر روی آستانه تشنجات ناشی از PTZ بررسی گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که آستانه تشنج ناشی از PTZ در موش‌های سوری گروه کنترل ۳۵/۰۵۲/۸۷ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بود و سنبل الطیب به صورت وابسته به دوز باعث افزایش معنی دار ( $p < 0.05$ ) آستانه تشنجات ناشی از PTZ شد. افزایش آستانه تشنج در این مطالعه توسط سنبل الطیب احتمالاً مربوط به درگیری سیستم مهاري گاباژیک است. البته اثر ضد تشنجی این ماده در انسان و مکانیسم‌های دخیل در آن نیاز به بررسی بیشتر دارد. پژوهشنامه دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۷، شماره تکمیلی، ۴۷-۴۳.

واژه‌های کلیدی: سنبل الطیب، پنتیلن تترازول، تشنج، موش سوری.

### مقدمه

تشنج که رویداد محدود عمل مغزی است، ناشی از تخلیه غیر طبیعی نورونهای مغزی است. علائم بالینی صرع شامل یک پدیده ناگهانی موقت غیر طبیعی از قبیل: تغییرات سطح هوشیاری، حرکتی، حسی، اتونومیک یا روانی است (۱۹). تا به

امروز مکانیسم صرع و عوامل مؤثر در بروز آن بطور دقیق و کامل شناسایی نشده است. علل حملات تشنج متعدد بوده و بیماریهای گوناگون عصبی از عفونت تا تومور و ضربه مغزی را در برمی گیرد. حدود ۳۰ درصد تشنجات ناشی از اختلال سیستم اعصاب مرکزی است. در کل تشنجات اپی لپتیک در اثر به هم



درمانی برمید پتاسیم مشخص شود از عصاره این گیاه برای درمان تشنج استفاده می‌کردند (۶ و ۱۸).

تشنجات ایجاد شده بوسیله آنتاگونیست گیرنده GABA، پنتیلن تترازول (PTZ)، معمولاً بعنوان مدل تشنجات عمومی شونده در جوندگان به کار برده می‌شوند که علت تکرار پذیری بسیار بالا و فراهم کردن زمینه‌ای برای مقایسه ترکیبات مختلف شیمیایی ضد تشنج تحت شرایط استاندارد از محاسن این دارو است. این ماده تشنج را به طور رقابتی گیرنده GABA را احتمالاً از طریق تداخل آلوستیک با این گیرنده آنتاگونیزه کرده و جریان یون کلراید ایجاد شده بوسیله GABA را مهار می‌کند (۱۵). بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره ریشه گیاه سنبل الطیب بر آستانه تشنجات ناشی از PTZ می‌باشد.

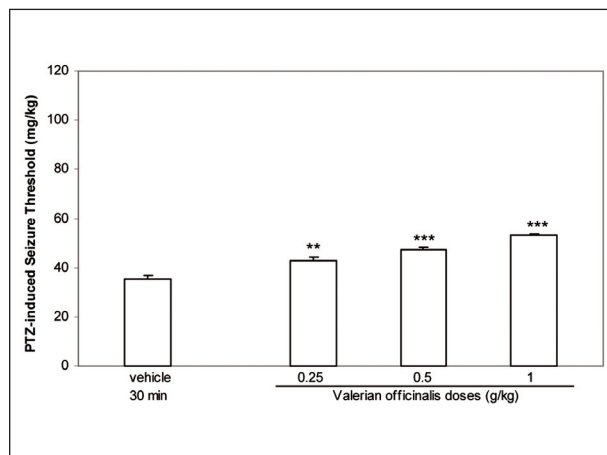
### مواد و روش کار

۷۲ سر موش سوری نر نژاد NMRI، با سن ۸ تا ۱۰ هفته و وزن بین ۲۵ تا ۳۰ گرم از مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی خریداری شده و در اتاق بادما، نور و رطوبت ثابت نگهداری شدند. حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. پنتیلن تترازول (PTZ) از شرکت Sigma-Aldrich خریداری شده و در نرمال سالین حل گردید. ریشه گیاه سنبل الطیب بعد از جمع آوری، در سایه خشک گردید. برای تهیه عصاره آبی ریشه سنبل الطیب بر طبق منبع (۱۰) عمل گردید که بطور خلاصه شامل خرد و آسیاب کردن و اضافه کردن آن به آب داغ (به مدت ۲۰ دقیقه)، صاف کردن و جدا کردن محلول، تا در نهایت یک عصاره زرد تا قهوه‌ای بدست آید. در ادامه عصاره تغلیظ شده را تحت وکیوم خشک کرده تا پودر بدست آید. در ادامه حیوانات بطور تصادفی در گروه‌های درمانی قرار داده شدند (۹ گروه و برای هر گروه  $n=8$ ). عصاره ریشه سنبل الطیب و حامل بصورت خوراکی بر اساس وزن هر حیوان توسط گاواژ تجویز شد. ابتدا آستانه تشنجات در گروه حیوانات دریافت کننده نرمال سالین ۳۰ دقیقه قبل از تعیین آستانه تشنجات مورد ارزیابی قرار گرفت. در آزمایش بعد، سنبل الطیب (۰/۲۵ g/kg) در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ دقیقه در چهار گروه مجزا، قبل از تعیین آستانه تشنج تجویز شد تا زمان حداکثر فعالیت ضد تشنجی بدست آید. حیوانات در ادامه آزمایش دوزهای مختلف سنبل الطیب (۰/۵ و ۰/۲۵ g/kg) را در سه گروه مجزا، ۳۰ دقیقه قبل از تعیین آستانه تشنج (بهترین زمان ضد تشنجی بدست آمده از آزمایش قبل) دریافت کردند.

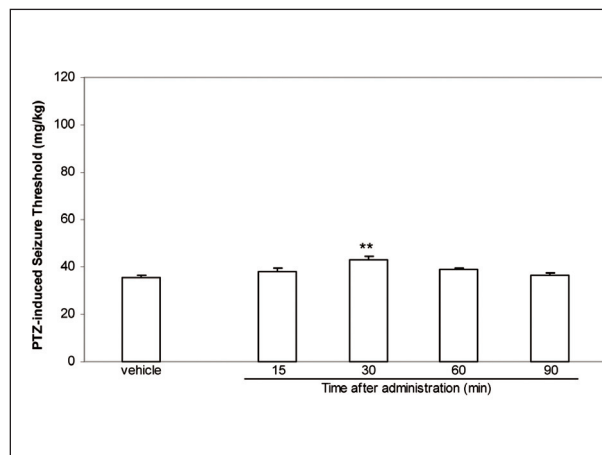
خوردن تعادل بین نورونهای تحریکی و مهارتی ایجاد می‌شود و مهمترین نقش را نوروترانسمیترهای گابا و گلوتامات بر عهده دارند (۵، ۸ و ۱۹). دارو درمانی در اغلب بیماران صرعی بر اساس طبقه‌بندی تجربی تشنجات صورت می‌گیرد. بدلیل متنوع بودن علل تشنج، داروها کمتر بصورت اختصاصی برای هر یک از علل فوق اثر می‌کنند. حدود ۱ درصد مردم دنیا مبتلا به صرع هستند و تقریباً ۱۰ درصد جمعیت تشنج را تجربه می‌کنند. اگر چه با درمان استاندارد در ۸۰ درصد موارد می‌توان حملات تشنج را کنترل کرد، با این همه میلیون‌ها نفر صرع کنترل نشده دارند (۷). با وجود پیشرفت‌های زیاد در عرصه علم پزشکی و داروسازی، درمان بیماران صرعی و اختلالات تشنجی همواره از چالش‌های پیش روی پزشکان و محققان بوده است. در سراسر جهان تحقیقات زیادی در این عرصه صورت گرفته و تا به امروز نیز ادامه دارد. امروزه در درمان صرع از ترکیباتی استفاده می‌کنند که دارای سه مکانیسم اثر زیر است: تقویت جریان‌های گاباژیک مهارتی، کاهش جریان‌های تحریکی معمولاً گلوتامات ارژیک و تعدیل جریان‌های یونی بخصوص یونهای سدیم، کلسیم و کلر. در برخی موارد، با عود بیماری، سمیت و آثار جانبی داروهای مصرفی افزایش یافته و بیمار نیز بایستی یک دوره درمانی طولانی مدت را طی کند (۹ و ۲۴).

سنبل الطیب یکی از گیاهان خانواده والریاناسه بوده و از ریشه و ریزوم خشک شده آن به عنوان داروی گیاهی از هزار سال پیش استفاده می‌کنند. سنبل الطیب بطور وسیع در کشورهای مختلف و ایران به علت داشتن اثرات تسکینی و خواب‌آوری برای درمان بی‌خوابی و اضطراب استفاده شده و نشان داده‌اند که این گیاه دارویی، اثر تضعیفی روی CNS دارد (۱۱ و ۲۳). از عصاره ریشه این گیاه به تنهایی یا همراه با داروهای گیاهی دیگر به عنوان داروی مضعف سیستم اعصاب مرکزی استفاده می‌کنند (۱۱ و ۱۷). عصاره سنبل الطیب حاوی اسیدهای آمینه آزاد همچون گابا آمینو بوتیریک اسید (GABA) و مواد دیگر مثل اسید والریک و ایزووالرات است (۶). تحقیقات متعدد در مورد اثرافزایی عصاره این گیاه همراه با داروهای دیگر برای درمان بیماریهای مختلف سیستم اعصاب مرکزی (CNS) انجام شده و بیشترین تداخل در ارتباط با نوروترانسمیترهایی همچون GABA بوده است (۶، ۱۱، ۱۸ و ۲۱). در قرن ۱۷ نیز ریشه گیاه سنبل الطیب در اروپا و سایر کشورها به خاطر داشتن اثرات تضعیفی روی CNS برای درمان صرع استفاده می‌شد. قبل از اینکه اثرات





نمودار ۲ - اثر مقادیر مختلف عصاره ریشه سنبل الطیب بر آستانه تشنجات کلونیک ناشی از PTZ در موش های سوری. هر نمودار به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  ارائه شده است.  $p < 0.01$  و  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه حامل است.



نمودار ۱ - اثر عصاره ریشه سنبل الطیب (۰/۲۵g/kg) بر آستانه تشنجات کلونیک ناشی از PTZ در موش سوری در زمانهای مختلف. هر نمودار به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  ارائه شده است.  $p < 0.01$  در مقایسه با گروه حامل است.

از زمان ۳۰ دقیقه استفاده گردید (نمودار ۱). دوزهای مختلف سنبل الطیب (g/kg) (۰/۲۵ و ۰/۵) بصورت وابسته به دوز، باعث افزایش آستانه تشنجات ناشی از PTZ شدند (نمودار ۲).

### بحث

در این مطالعه اثر عصاره ریشه سنبل الطیب بر آستانه تشنجات ناشی از PTZ بررسی شد. گیرنده GABA<sub>A</sub>، گیرنده ناقل عصبی مهاری برجسته در سیستم اعصاب مرکزی مهره داران است. هنگام فعال بودن این گیرنده، کانال کلراید گیرنده باز شده، منجر به جریان یون کلر و هایپرپلاریزاسیون عصبی می گردد (۱۵). این گیرنده دارای چندین جایگاه اتصال آلوستیک است که از طریق آن داروهای مختلف می تواند جریان یون کلراید ایجاد شده بوسیله GABA را تنظیم کنند. بنزودیازپین ها و باربیتورات ها به عنوان تقویت کننده های جریان یون کلراید ناشی از GABA شناخته شده اند (۱۲ و ۱۰). در مقابل داروهای نظیر پیکروتوکسین و چندین داروی دیگر به سرکوب کردن جریان کلراید واسطه گری شده بوسیله GABA معروف هستند. به خوبی مشخص شده است که PTZ با عمل روی جایگاه پیکروتوکسین کمپلکس گیرنده GABA عمل می کند (۱۵). این عامل وسیعاً برای ایجاد مدل های حیوانی تشنجات ناشی از مواد شیمیایی به کار برده می شود، که علت قابلیت زیاد تکرار پذیری این مدل و نیز فراهم کردن زمینه ای برای مقایسه ماهیت ضد تشنجی مواد شیمیایی مختلف تحت شرایط استاندارد از محاسن این ماده است (۱). در این مطالعه، سنبل الطیب آستانه تشنجات ناشی از PTZ را به صورت وابسته

جهت تعیین آستانه تشنجات، موش قبل از انجام آزمایش در داخل مقید کننده قرار داده شده و محلول (۵ PTZ mg/ml) بوسیله یک لوله پلی اتیلن که از یک سوبه سرنگ انسولین حاوی محلول PTZ و از سوی دیگر به سرسوزن شماره ۳۰ دندانپزشکی متصل بود، با سرعت ثابت ۰/۵ ml/min به داخل یکی از وریدهای کناری دم موش های خارج شده از داخل مقید کننده، انفوزیون شد. انفوزیون تازمان بروز تشنجات کلونیک اندام فوقانی و بدنال آن تشنجات کلونیک کامل بدن حیوان ادامه یافت. حداقل دوز PTZ (میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن موش) لازم جهت ایجاد تشنج کلونیک به عنوان شاخص آستانه تشنجات کلونیک در نظر گرفته شد (۱۳ و ۱۰). جهت تجزیه و تحلیل داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن تست های مقایسه چند گانه توکی استفاده گردید. مقدار  $p < 0/05$  برای تعیین سطح معنی دار بودن بین گروه ها در نظر گرفته شد.

### نتایج

آستانه تشنج بدست آمده در موش های سوری دریافت کننده نرمال سالیین به عنوان گروه کنترل، برابر با  $35/52 \pm 0/87$  میلی گرم بر کیلوگرم بدست آمد. بررسی اثر حلالها بر آستانه تشنجات نشان داد که نرمال سالیین اثر قابل توجهی بر آستانه تشنج ندارند. تزریق دوز (۰/۲۵ g/kg) از سنبل الطیب در زمانهای ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ دقیقه قبل از تزریق PTZ وریدی، نشان داد که حداکثر افزایش آستانه بعد از ۳۰ دقیقه از زمان تجویز سنبل الطیب حاصل می شود. از این رو در مراحل بعدی آزمایش



در این اثر ضد تشنجی بر عهده دارد. البته نقش ضد تشنجی این ماده و مکانیسم‌های دخیل در آن نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

### منابع

۱. ثمینی، م.، سفارودی، ح. و اله‌دینی، سعید. (۱۳۸۴) اثر لیندان بر آستانه تشنجات کلونیک ناشی از پنتیلن تترازول در موش‌های سوری. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال ۶۳ شماره ۷، صفحات ۵۳۶ - ۵۲۹.

2. Andreatini, R., Sartori, V.A., Seabra, M.L., Leite, J.R. (2002) Effect of valepotriates (valerian extract) in generalized anxiety disorder. *Phytother Res*, **16(7)**: 650-4.
3. Barnes, B. (2002) Herbal therapeutics insomnia. *The Pharmaceutical Journal*. **269**:219-220.
4. Cavadas, C., Araujo, I. (1995) In vitro study on the interaction of *Valeriana officinalis* extracts and their amino acids in GABAA receptor in rat brain. *Arzneimittelforschung*, **45(7)**:753-55.
5. Coulter, D.A. (2001) Epilepsy-associated plasticity in gamma-aminobutyric acid receptor expression, function, and inhibitory synaptic properties. *Int Rev Neurobiol*, **45**:237-252.
6. Eadie, M.J. (2004) Could valerian have been the first anticonvulsant. *Epilepsia*, **45(11)**:1338-43.
7. Engel, J.J. (2001) A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE task force on classification and Terminology. *Epilepsia*, **42**:796-803.
8. Faingold, C.L. (2004) Emergent properties of CNS neuronal networks as targets for pharmacology: application to anticonvulsant drug action. *Progress in Neurobiology*, **72**:55-85.
9. Gale, K. (1992) Role of GABA in the genesis of chemoconvulsant seizures. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **93(1)**:146-153.
10. Grainger Bisset, N. and Wichtl, M. (2001) Herbal drugs and phytopharmaceuticals, Medpharm Scientific Publishers Stuttgart. *CRC press*. p. 513-517.
11. Hadley, S., Petry, J.J. (2003) Valerian. *Complementary and Alternative Medicine*, **67(8)**: 1755-58.

به دوز افزایش داد. از آنجائیکه PTZ از طریق گیرنده GABAA عمل می‌کند افزایش وابسته به دوز آستانه تشنجات توسط سنبل الطیب ممکن است از طریق جایگاه یکسان و سیستم گابارژیک انجام گیرد. محققان دیگری با مطالعات بیوشیمیایی نشان دادند که عصاره ریشه سنبل الطیب حاوی اسیدهای آمینه آزاد همچون GABA است (۶) و همچنین باعث افزایش غلظت GABA در مغز می‌شود. به علت اینکه GABA یک نوروترنسمیتر مهمی در مغز است، باعث کاهش فعالیت سیستم اعصاب مرکزی می‌شود (۳). مطالعات دیگر نشان داده است که عصاره ریشه این گیاه اسید والریک دارد. والریک اسید مهارکننده آنزیم تجزیه کننده GABA است. علاوه بر این موضوع، عصاره آبی ریشه سنبل الطیب باعث مهار باز جذب (۱۴) و باعث افزایش ریلیز GABA در سیناپتوزوم‌های ایزوله شده کورتکس مغز موش صحرائی شده است (۴ و ۲۱). همچنین پیشنهادهای می‌کنند عصاره ریشه گیاه سنبل الطیب به جایگاه اتصال بنزودیازپین در گیرنده بنزودیازپین تمایل دارد (۳ و ۲۱). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که اثرات ضد تشنجی سنبل الطیب به طور همزمان با کاربرد عواملی که فعالیت GABA را تقویت می‌کنند، مثل دیازپام و بنزودیازپین‌های دیگر (۲۱)، بازبیتوراتها (۲۱ و ۱۷) افزایش می‌یابد. به عبارت دیگر نشان داده‌اند که پیش‌درمانی با سنبل الطیب می‌تواند اثر داروهای ضد تشنج دیگر را تسهیل کند (۶ و ۱۸). از این اثرات برای درمان بی‌خوابی، اضطراب و استرس، اختلالات خلق و خوی و تشنج استفاده کرده‌اند (۲۲ و ۲۰). در تحقیق دیگری نشان دادند که در عصاره ریشه سنبل الطیب، ایزووالات و جود دارد. این ماده از لحاظ ساختمانی مشابه اسید والپروئیک بوده که این دارو دارای فعالیت ضد تشنجی قوی در انسان و حیوانات آزمایشگاهی است (۱۶). مکانیسم اثر اسید والپروئیک از طریق مهار باز جذب یا جلوگیری از تجزیه شدن نوروترنسمیتر GABA است (۱۶ و ۶). پس این احتمال وجود دارد که سنبل الطیب با مکانیسم‌های مشابه فوق عمل کند و این اثر ضد تشنجی در این تحقیق به دور از انتظار نخواهد بود.

### نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، نتایج این مطالعه نشان داد که ریشه سنبل الطیب باعث افزایش آستانه تشنجات ناشی از PTZ می‌شود و احتمالاً سیستم ناقل عصبی مهارتی گابارژیک مهم‌ترین نقش را



12. Hervers, W., Luddens, H. (1998) The diversity of GABAA receptors: pharmacological and electrophysiological properties of GABAA channel subtypes. *Mol Neurobiol*, **18**:163-190.
13. Homayoun, H., Khavandgar, S., Dehpour, A.R. (2002) The role of 2-adrenoceptores in the modulatory effects of morphine on seizure susceptibility in mice. *Epilepsia*, **43**:797-804.
14. Houghton, P.J. (1999) The scientific basis for the reputed activity of valerian. *J Pharm Pharmacol*. **51(5)**: 505-12.
15. Hung, R.Q., Bell-Horner, C.L., Diabas, M.I., Covey, D.F., Drewe, J.A., Dillon, G.H. (2001) Pentylenerazole-induced inhibition of recombinant gamma-aminobutyric acid type A (GABAA) receptors: mechanism and site of action. *J Pharmacol Exp Ther*, **298**:986-995.
16. Isoherranen, N., Yagen, B., Bialer, M. (2003) New CNS-active drugs wick are second-generation valproic acid: can they lead to the development of amgic bullet. *Curr Opin Neurol*, **16**:203-11.
17. Kennedy, D.O., Little, W. (2006) Anxiolytic effects of a combination of *Melissa officinalis* and *Valeriana officinalis* during laboratory induced stress. *Phytother Res*, **20(2)**:96-102.
18. Krystal, A.D., Rossler, I. (2001) The use of valerian in neuropsychiaty. *CNS Specter*, **6(10)**:841-70.
19. Lott, R.S., Mcauley, J.W. Seizure disorders. In: Koda Kimble, M.A. and Young, L.Y. (2001) Applied therapeutics: clinical use of drugs, (7<sup>th</sup>ed.). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. p. 52-102.
20. Malva, J.O., Santos, S., Macedo, T. (2004) Neuroprotective properties of *Valeriana officinalis* extract. *Neurotox Res*, **6(2)**:131-40.
21. Ortiz, J.G., Nieves-Natal, J. and Chaves, P. (1999) Effects of *Valerian officinalis* extract on flunitrazepam binding, synaptosomal GABA uptake, and hippocampal GABA release. *J Pharm Pharmacol*, **51(5)**:505-12.
22. Poyares, D.R., Guilleminault, C. (2002) Can valerian improve the sleep of insomniacs after benzodiazepine withdrawal. *Prog Neuropsychopharmacol Biol*, **26(3)**: 539-45.
23. Rangohau, M.K. (2001) Valerian *Valeriana officinalis*. *Crop Food Research*, **34**.
24. Roger, J.P., Brain, S.M. Anticonvulsant drugs. In: Katzung, B.G. (2001) Basic and Clinical pharmacology, (8<sup>th</sup> ed.) USA, p. 320-348.

