

مقایسه‌ی اثر ضد تشنجی عصاره‌ آبی گیاه بادرنجبویه و فنوباریتال در

موش سفید آزمایشگاهی

دکتر محمد طاهر بروشکی* - دکتر فرهاد ملک** - دکتر ابوالقاسم بهارلو***

* استادیار گروه فارماکولوژی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی مشهد

** استادیار گروه داخلی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی سمنان

*** داروساز

مقدمه

نقاط مختلف جهان بر روی اثرات درمانی این گیاه، درمان اختلالات عصبی و رفتاری (۴ و ۱۰)، اثرات ضد میکروبی (۸)، اثر بر تیروئید (۳)، درمان الزایمر (۹)، درمان زخمهای گوارشی (۷) و اثر آرامبخشی (۵)، انجام گرفته است. حدود ۱٪ جمعیت جهان مبتلا به بیماریهای تشنجی اند که، پس از سکنه های مغزی، دومین علت شایع بیماریهای نورولوژیک را شامل می شوند. با درمان استاندارد حدود ۸۰٪ بیماران کنترل می شوند، ولی میلیونها نفر در سراسر جهان دچار صرع غیر قابل کنترل هستند (۶). قبل از کشف داروهای ضد تشنج، درمان بیماران صرعی شامل سوراخ کردن جمجمه (Trepining)، حجامت (Cupping)، و استفاده از داروهای گیاهی و حیوانی بوده است. در سال ۱۸۵۷ برای اولین بار Sir Charles Lockock برومور پتاسیم را در درمان صرع به کار برد و سپس در سال ۱۹۱۲ فنوباریتال، به عنوان اولین داروی رسمی، جهت درمان حملات تشنجی وارد بازار مصرف گردید (۶).

بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) گیاهی علفی، معطر، پایا، دارای ساقه‌ چهار گوش کم و بیش پوشیده از کرکهای غده ای یا ساده است. پرورش این گیاه از قدیم در بین ملل مختلف جهان به منظور درمان بیماریها معمول بوده است. پزشکان و دانشمندان قدیم از آن در آثار خود نام برده اند. بوعلی سینا آن را در ردیف داروهای مقوی قلب جای داده و برای آن اثر تقویت نیروی حیاتی بدن قائل بوده و گفته است که با مصرف آن بی حوصلگی و کج خلقی از بین می‌رود. دانشمندان دیگر مصرف آن را در رفع حالت مالیخولیایی، تپش قلب، ضعف حافظه، سردردهای عصبی و خستگی‌های روحی توصیه کرده اند (۱). علاوه بر این در طب قدیم نیز برای این گیاه خواص درمانی متعددی ذکر شده که عبارت‌اند از: نیرو دهنده و ضد تشنج، مقوی معده، باد شکن، رفع دل پیچه‌های ناشی از نفخ، فشار عصبی، اختلالات هضمی، سر دردهای یک طرفه، بی‌خوابی و غیره (۱). همچنین تحقیقات متعددی در

۳- گروه های مورد آزمایش. این گروه ها به ترتیب مقادیر ۳، ۶، ۹ و ۱۲ عصاره آبی بادرنجبویه و متعاقب آن پنتیلین تترازول دریافت کردند.

به همه گروه ها، ۴۵ دقیقه پس از تزریق اولیه، ابتدا پنتیلین تترازول (۸۰ mg/kg) داخل صفاقی تزریق شد، سپس زمان شروع تشنج (مرحله تونیک-کلونیک)، طول مدت تشنج و تعداد مرگ و میر ۲۴ ساعته ثبت گردید (۲).
روش بررسی تشنج: در این بررسی علائم تشنج حاصله به طرق زیر تقسیم بندی گردیدند (۹):

مرحله صفر (D0): هیچ تشنجی مشاهده نگردید ولی حالت لرزش بدن یا تکان در گوش یا صورت دیده شد.
مرحله یک (D1): انقباضات میوکلونیک، پرش (کنده شدن از زمین توسط چهار دست و پا)
مرحله دو (D2): کلونوس پای جلو، بدون از دست دادن حالت تعادل، گرفتگی عضله گردن
مرحله سه (D3): کلونیک شدید، باز دست دادن حالت تعادل
مرحله چهار (D4): تشنج تونیک-کلونیک همراه با کشیدگی شدید بدن.

آنالیز آماری: تمامی نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار بیان شده اند. برای مقایسه آنها از آنالیز واریانس یک طرفه و t تست استفاده به عمل آمد. مقادیر $P < 0.05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شده است.

نتایج

۱- زمان تشنج در گروه های مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: مقایسه زمان شروع تشنج ناشی از پنتیلین تترازول در حیوانات مورد آزمایش با مقادیر مختلف فنوباریتال و عصاره آبی گیاه بادرنجبویه

گروه	متوسط شروع زمان تشنج (دقیقه)	انحراف معیار
کنترل	۸/۱۲	۰/۰۷
۱۰ mg/kg فنوباریتال	۸/۵۶	۰/۱۴
۲۰ mg/kg فنوباریتال	۱۲/۱۶	۰/۱

به دلیل مزمن بودن بیماریهای تشنجی و مصرف دراز مدت داروهای ضد تشنج، و نیز عوارض فراوان این داروها، اخیرا استفاده از گیاهان دارویی جهت کنترل حملات تشنجی مورد توجه محققان و پژوهشگران قرار گرفته است. هدف این تحقیق بررسی اثر ضد تشنجی عصاره گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) در کنترل تشنجات ناشی از پنتیلین تترازول بر موش سفید آزمایشگاهی و مقایسه آن با فنوباریتال است.

مواد و روش ها

موش های سفید آزمایشگاهی به وزن ۲۵-۳۰ گرم و سن ۶-۴ هفته (حیوانخانه دانشکده پزشکی مشهد)، در شرایط استاندارد دما ($23 \pm 1^\circ C$)، نور (۱۲ ساعت تاریکی / روشنایی) نگهداری شدند و آب و غذا (شرکت جوانه خراسان) آزادانه در اختیارشان بود.

داروها: گیاه خشک شده بادرنجبویه (شرکت کندلوس چالوس)، آمپول فنوباریتال ۱۰۰ mg/ml، پنتیلین تترازول (شرکت سیگما) و نرمال سالین ۰/۹٪.

روش تهیه عصاره گیاه بادرنجبویه: برای تهیه عصاره، ۱۰ گرم پودر گیاه کامل را در یک ارلن ریخته و با اضافه کردن ۱۰۰ ml آب مقطر و مسدود نمودن دهانه آن با فویل آلومینیوم، به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار دادیم. سپس عصاره به دست آمده با پارچه ای تمیز صاف و در یخچال نگهداری، و در زمان آزمایش با غلظت مشخص استفاده شد.

گروه های آزمایشی: تمامی حیوانات به طور تصادفی و پس از تطابق با محیط، در گروه های مختلف (هر گروه ۲۰ موش) به شرح ذیل قرار گرفتند:

۱- گروه کنترل. این گروه ابتدا سرم فیزیولوژیک (۱۰ mg/kg) و بعد پنتیلین تترازول دریافت کرد.
۲- گروه های شاهد (۴ گروه). این گروه ها به ترتیب مقادیر ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ mg/kg فنوباریتال و بعد پنتیلین تترازول دریافت کردند.

۳- اثرات ضد تشنجی فنوباریتال نیز در جدول ۲ نشان داده شده است. تمامی مقادیر فنوباریتال، به جز مقدار ۱۰ mg/kg از نظر میزان مهار تشنجات با گروه کنترل اختلاف معنی داری داشتند ($p < 0/001$). تمام مقادیر فنوباریتال علاوه بر محافظت کامل حیوانات در برابر مرگ و میر، طول دوره تشنج را نیز در گروه های شاهد کاهش داده‌اند که اختلاف معنی داری با گروه کنترل نشان می‌دهد ($p < 0/01$) برای مقدار ۱۰ mg/kg و $p < 0/001$ برای سایر مقادیر).

۴- اثرات ضد تشنجی عصاره آبی گیاه بادرنجبویه نیز در جدول ۲ مشاهده می‌گردد. تمامی مقادیر عصاره از نظر درصد مهار تشنجات ($p < 0/005$) برای مقدار ۳ ml/kg و $p < 0/001$ برای سایر مقادیر، طول مدت تشنج ($p < 0/005$) برای مقدار ۶ ml/kg و $p < 0/001$ برای مقادیر ۹ و ۱۲ ml/kg و همچنین درصد مرگ و میر با گروه کنترل اختلاف معنی داری نشان دادند.

۰/۱۳	**۱۷/۱۵	۳۰ mg/kg فنوباریتال
۰/۲۲	***۲۰/۶۹	۱۰ mg/kg فنوباریتال
۰/۱۴	۱۰/۵۵	۳ ml/kg بادرنجبویه
۰/۱۳	۱۳/۷۳	۶ ml/kg بادرنجبویه
۰/۱۷	**۱۷/۶۳	۹ ml/kg بادرنجبویه
۰/۱۸	**۱۷/۵۲	۱۲ ml/kg بادرنجبویه

در مقایسه با گروه کنترل $P < 0/01$ و $P < 0/001$ ***

همان گونه که مشاهده می‌شود با عصاره آبی گیاه زمان شروع تشنج را از ۹ دقیقه (گروه کنترل) به حدود ۱۸ دقیقه رسیده، که از لحاظ آماری با مقادیر ۹ و ۱۲ ml/kg عصاره معنی دار است ($p < 0/01$). زمان شروع تشنج با مقادیر ۳۰ و ۴۰ mg/kg فنوباریتال حدود ۲۱-۱۸ دقیقه است.

۲- اثرات تشنج‌زایی پتیلین ترازول در گروه کنترل در جدول ۲ نشان داده شده است. در این گروه میزان مرگ و میر حدود ۴۵ درصد و میانگین طول دوره تونیک - کلونیک (D4) $0/43 \pm 14/8$ ثانیه است.

جدول ۲. اثرات ضد تشنجی فنوباریتال و بادرنجبویه

گروه	D ₀ دقیقه	D ₁ دقیقه	D ₂ دقیقه	D ₃ دقیقه	D ₄ دقیقه	تعداد مرحله D ₄	میانگین طول دوره تونیک کلونیک (ثانیه)	میانگین درصد مهار تشنج D ₄	درصد مرگ و میر
سرم فیزیولوژی ml/kg ۶	±۰/۸۶ ۰/۰۴	±۱/۲۴ ۰/۰۶	±۱/۵۴ ۰/۰۷	±۱/۷۹ ۰/۳۶	±۹/۰۸ ۰/۳۶	۶۱	۰/۳۴ ± ۱۴/۸	-	۴۵
فنوباریتال mg/kg ۱۰	±۰/۹ ۰/۰۴	±۱/۲۹ ۰/۰۶	±۱/۷ ۰/۰۶	±۱/۹۸ ۰/۰۶	±۹/۹۵ ۰/۴۶	۳۶	۰/۷۳ ± ۱۲/۳۱ **	۹/۵۴ ns	۰
فنوباریتال mg/kg ۲۰	±۱/۰۹ ۰/۰۷	±۱/۵ ۰/۰۷	±۲/۳ ۰/۰۶	±۲/۷۸ ۰/۰۸	±۱۳/۲ ۰/۴۸	۳۱	۰/۴۶ ± ۱۰/۵۲ ***	۴۷/۲۸ ***	۰
فنوباریتال mg/kg ۳۰	±۱/۵۴ ۰/۱۱	±۲/۱۲ ۰/۰۸	±۲/۹۶ ۰/۱	±۳/۱۹ ۰/۱	±۱۴/۱۵ ۰/۵۸	۲۷	۰/۳۳ ± ۸/۰۰ ***	۵۵/۷۸ ***	۰
فنوباریتال mg/kg ۴۰	±۲/۵ ۰/۱	±۴/۳۲ ۰/۰۲	±۵/۱ ۰/۱۵	±۵/۹۳ ۰/۱۲	±۲۲/۴۲ ۰/۵۸	۲۴	۰/۴۸ ± ۷/۰۸ ***	۱۴۶/۸۳ ***	۰

بقیه ی جدول ۲

گروه	D ₀ دقیقه	D ₁ دقیقه	D ₂ دقیقه	D ₃ دقیقه	D ₄ دقیقه	تعداد مرحله D ₄	میانگین طول دوره تونیک کلونیک (ثانیه)	میانگین درصد مهار تشنج D ₄	درصد مرگ و میر
بادرنجبویه ml/kg ۳	±۰/۹۲ ۰/۰۶	±۱/۱۸ ۰/۰۷	±۱/۴۶ ۰/۰۷	±۱/۹ ۰/۰۶	±۱۰/۵۵ ۰/۶۲	۵۹	۰/۴۳ ± ۱۴/۵۶ Ns	۱۶/۱۹ *	۴۰
بادرنجبویه ml/kg ۶	±۰/۹۵ ۰/۰۵	±۱/۳۳ ۰/۰۶	±۱/۷۳ ۰/۰۷	±۲/۰۷ ۰/۰۶	±۱۳/۷۳ ۰/۵۹	۵۵	۰/۳۶ ± ۱۳/۵۲ *	۵۱/۱۹ ***	۴۰
بادرنجبویه ml/kg ۹	±۰/۹۷ ۰/۰۵	±۱/۵۷ ۰/۰۶	±۲/۲۷ ۰/۰۷	±۲/۵۸ ۰/۰۶	±۱۷/۶۳ ۰/۵۹	۳۵	۰/۵ ± ۱۱/۵۴ ***	۹۳/۹۴ ***	۱۰

				۰/۷۴	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۱۱	۰/۰۹	ml/kg ^۹
۱۰	۹۴/۷۲ ***	۰/۴±۹/۴۸ ***	۳۳	±۱۷/۶۹ ۰/۸۵	±۲/۷۴ ۰/۰۵	±۲/۴۱ ۰/۰۸	±۲/۲ ۰/۰۶	±۱/۲۱ ۰/۰۶	بادرنجبویه ml/kg ^{۱۲}

در تمامی گروه ها، ۴۵ دقیقه بعد از تزریق اول (سرم فیزیولوژیک یا فنوباریتال یا بادرنبویه) پتیلین ترازول (۸۰ mg/kg) داخل صفاق تزریق گردید، سپس زمان شروع تشنج (مرحله تونیک-کلونیک)، طول مدت تشنج و تعداد مرگ و میر ۲۴ ساعته در مورد تمامی گروه ها ثبت گردید. (D0): تشنج مشاهده نشد؛ (D1): انقباضات میوکلونیک؛ (D2): کلونوس پای جلو؛ (D3): تشنجات کلونیک شدیدو (D4): تشنجات تونیک-کلونیک
*** p < ۰/۰۰۱ و ** p < ۰/۰۱, ns: no significant

بحث و نتیجه گیری

فنوباریتال را دارد، که بیانگر قدرت اثر کمتر این مقادیر از عصاره در مقایسه با مقادیر ۴۰ و ۳۰ mg/kg فنوباریتال است. در مورد طول مدت تشنج (تونیک - کلونیک)، عصاره گیاه این زمان را از ۴۳/۱۴±۸۰/۰ ثانیه (گروه کنترل) به ۴۰/۴۸±۹/۸ ثانیه کاهش داده است. این زمان در مورد مقادیر ۳۰ و ۲۰ mg/kg فنوباریتال به ترتیب ۳۳/۰±۸/۰ و ۴۶/۵۲±۱۰/۵ ثانیه است (جدول ۲) که بیانگر قابل مقایسه بودن اثرات این گیاه با فنوباریتال است.

عصاره گیاه در صد مرگ و میر، را از ۴۵٪ (گروه کنترل) به ۱۰٪ (با مقادیر ۱۲ و ۹ ml/kg عصاره) تقلیل داده است (جدول-۲). هیچ مورد مرگ با مقادیر مختلف فنوباریتال مشاهده نگردید. سرانجام اینکه عصاره گیاه تعداد تشنجات تونیک-کلونیک (مرحله D4) را از ۶۱ مورد (گروه کنترل) به ۳۳ مورد با مقدار ۱۲ ml/kg کاهش داده است. اگرچه در این بررسی درصد مرگ و میر گروه مورد آزمایش به وسیله عصاره از ۴۰ درصد (۳ ml/kg) به ۱۰ درصد (۱۲ ml/kg) کاهش یافت، ولی هیچگاه اثر محافظتی حداکثر مقادیر به کار برده شده گیاه در این آزمایش، حتاً با مقادیر کم فنوباریتال، برابر نبوده است. در این بررسی نشان داده شده که با افزایش مقدار عصاره از ۳ ml/kg به ۱۲ ml/kg، اثر محافظتی نیز بیشتر شده است. لذا این احتمال وجود دارد که با تجویز مقادیر زیادتر عصاره گیاه شاهد اثرات محافظتی بیشتری نیز باشیم، که قابل مقایسه با فنوباریتال باشد.

تحقیقات مشابه در فلسطین نشان داده که اثر مهار تشنجات مقدار ۶ ml/kg عصاره این گیاه با ۱۲ ml/kg عصاره در این

امروزه استفاده از عصاره های مختلف گیاهی دارای سابقه کاربرد دیرینه در طب سنتی مورد توجه قرار گرفته است. بادرنبویه یکی از همین گیاهان است که در طب سنتی به اثرهای ضد تشنجی آن اشاره شده ولی تاکنون مطالعه علمی جهت بررسی اثرهای گیاه مذکور به عمل نیامده است. هدف این تحقیق بررسی اثر ضد تشنجی عصاره آبی گیاه بادرنبویه در کنترل تشنجات تجربی ناشی از تزریق پتیلین ترازول در موش سفید آزمایشگاهی و مقایسه آن با فنوباریتال است.

در این مطالعه از بین روشهای مختلف القا کننده تشنج (الکتروشوک، شیمیایی و صوت)، روش شیمیایی، به دلیل قابل دسترس بودن و اینکه تغییرات رفتاری مشهودی ایجاد می کند، انتخاب گردید (۶). نتایج نشان داد که عصاره آبی گیاه بادرنبویه با مقادیر ۱۲ و ۹ ml/kg دارای اثربخشی خوبی بوده و موجب تاخیر در شروع تشنج و کاهش طول دوره تشنج و همچنین کاهش میزان مرگ و میر می شود که با مقدار ۳۰ mg/kg فنوباریتال قابل مقایسه است. عصاره گیاه توانسته است زمان شروع تشنج را از حدود ۹ دقیقه (گروه کنترل) به حدود ۱۸ دقیقه برساند که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری است (P < ۰/۰۱). زمان شروع تشنج با مقادیر ۴۰ و ۳۰ mg/kg فنوباریتال حدود ۲۱-۱۸ دقیقه است (جدول ۱). زمان شروع تشنج در گروه های مورد آزمایش (۱۲ و ۹ ml/kg عصاره بادرنبویه) و شاهد (۳۰ mg/kg فنوباریتال) برابر است، ولی از نظر تعداد حملات تشنجی تونیک - کلونیک در مرحله D4، مقدار ۱۲ ml/kg و ۹ و عصاره بادرنبویه اثر بخشی معادل ۲۰ و ۱۰

عصبی اثر خود را اعمال می کنند، لذا می توان مکانیسم اثر عصاره گیاه بادرنجبویه را به یک یا چند مورد از مکانیسمهای فوق نسبت داد. این ایده با نتایج حاصل از تحقیقات دیگران، مبنی بر این که تزریق داخل صفاقی عصاره آبی ۱۰٪ این گیاه مقدار گابای قشر مغز را افزایش می دهد، تقویت می شود (۲)، ولی این که کدام ماده موجود در عصاره این گیاه باعث چنین عملی می شود، ناشناخته بوده و به بررسی بیشتر نیاز دارد.

بررسی قابل مقایسه و برابر است، که بیانگر تاثیر شرایط اقلیمی (آب و هوا، ارتفاع و pH خاک) در میزان ماده موثره گیاه در مناطق مختلف است. مقدار ۶ ml/kg عصاره این گیاه در فلسطین حدود ۲۰ درصد مرگ نشان داده است (۲).

داروهای مهار کننده تشنج با مکانیسمهای متعددی، از قبیل افزایش آستانه تحریک نرونها، افزایش فعالیت گیرنده های گابا و تغییر انتقال یونی از غشاهای تحریک پذیر

منابع

Sims, and *Hypericum perforatum* L. In the Elevated Plus Maze Anxiety Test. *Pharmacopsychiatry* 2001; 34: 20-1.

6. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 8th ed. New york: McGraw-Hill, 2001.

7. Khayyal MT, el-Ghazaly MA, Kenawy SA, Seifel-Nasr M, Mahran LG, Kafafi YA, Okpanyi SN. Antiulcerogenic Effect of Some Gastrointestinally Acting Plant Extracts and Their Combination. *Arzneimittelforschung* 2001; 51: 545-53.

8. Larrondo JV, Agut M, Calvo-Torras MA. Antimicrobial Activity of Essences from Labiates. *Microbios* 1995; 82: 171-2.

9. Perry EK, Pickering AT, Wang WW, Houghton PJ, Perry S. Medicinal Plant and Alzheimer's Disease: from Ethnobotany to Phytotherapy. *J Pharm Pharmacol* 1999; 51: 527-34.

10. Soulimani R, Fleurentin J, Mortier F, Misslin R, Derrieu G, Pelt JM. Neurotropic Action of the Hydroalcoholic Extract of *Melissa Officinalis* in the Mouse. *Planta Med* 1991; 57: 105-9.

۱- زرگری، ع: گیاهان دارویی. تهران: دانشگاه تهران، ۱۳۶۹، صص: ۷۵-۷۱

2. Abdul-ghani AS, EI-Lati SG, Sacaun AI, Suleiman MS, Amin RM. Anticonvulsant Effects of Some Arab Medicinal Plants. *Int J Crud Drug Res* 1987; 25: 39-43.

3. Aufmkolk M, Kohrle J, Gumbinger H, Winterhoff H, Hesch RD. Antihormonal Effects of Plant Extracts: Iodothyronine Deiodinase of Rat Liver is Inhibited by Extracts and Secondary Metabolites of Plants. *Horm Metab Res* 1984; 16: 188-92.

4. Ballard CG, O'Brien JT, Reichert K, Perry EK. Aromatherapy as a Safe and Effective Treatment for the Management of Agitation in Severe Dementia: the Result of a Double-blind, Placebo-Controlled Trial with Melissa. *J Clin Psychiatry* 2002; 63: 553-8.

5. Coleta M, Campos MG, Cotrim MD, Proenca da Cunha A. Comparative Evaluation of *Melissa Officinalis* L, *Tilia europaea* L, *Passiflora Edulis*

A Comparative Study on the Anticonvulsive Effects of the