

# بررسی اثر ضد تشنجی عصاره متانولی گل گاو زبان ایرانی بر تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری

دکتر ابوالفضل حسینی<sup>۱</sup> - دکتر نبی شریعتی فر<sup>۲</sup>

## چکیده

**زمینه و هدف:** سالهای زیادی است که در طب سنتی ایران از گیاه گل گاو زبان ایرانی با نام *Echium Amoenum* Fisch & Mey به عنوان آرام‌بخش و تقویت‌کننده استفاده می‌شود. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضد تشنجی عصاره متانولی این گیاه در موش سوری انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، برای انجام تحقیق از موش سوری سفید نر با وزن ۲۵-۳۰ گرم به عنوان نمونه تحقیق و از پیکروتوکسین به عنوان ماده تشنج‌زا استفاده شد. ابتدا حیوانات از طریق تزریق داخل صفاقی دوزهای مختلف از عصاره این گیاه پیش‌درمانی شدند و بعد از ۲۰ دقیقه به آنها پیکروتوکسین تزریق شد؛ سپس میزان تأثیر عصاره در تغییر زمان شروع حملات تشنجی، دوام تشنجات و زمان مرگ ناشی از پیکروتوکسین در گروه‌های مورد و شاهد اندازه‌گیری و مقایسه شد. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری  $t$  و Chi-Square مورد تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** میانگین زمان شروع تشنج در گروه مورد که با دوزهای ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ mg/kg از عصاره گیاهی پیش‌درمانی شده و سپس دوز ۱۰ mg/kg پیکروتوکسین دریافت کرده بودند، نسبت به گروه شاهد افزایش داشت. مؤثرترین دوز در این مرحله ۶/۲۵ mg/kg بود که در مقایسه با گروه شاهد از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ )؛ همچنین این دوز مدت زمان دوام تشنج و زمان مرگ را نیز به طرز چشمگیری افزایش داد و درصد مرگ و میر در این گروه کاهش بارزی داشت.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد عصاره گیاه *Echium Amoenum* بر روی تشنج ناشی از پیکروتوکسین اثربخش است و این گیاه انتخاب مناسبی برای ادامه تحقیقات برای خواص ضد تشنج می‌باشد.

**کلید واژه‌ها:** گل گاو زبان؛ تشنج؛ پیکروتوکسین؛ موش سوری

افق دانش؛ مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی گناباد (دوره ۱۰؛ شماره ۲؛ سال ۱۳۸۳)

<sup>۱</sup> نویسنده مسؤول؛ دکتر داروساز؛ دانشکده علوم پزشکی گناباد

آدرس: گناباد- بجستان- خیابان امام- داروخانه دکتر حسینی    تلفن: ۰۵۳۵-۶۲۲۴۴۵۵    پست الکترونیکی: ara\_hos2000@yahoo.com

<sup>۲</sup> دکتر داروساز؛ دانشکده علوم پزشکی گناباد

## مقدمه

صرع یکی از عمومی‌ترین مشکلات نورولوژیکی جهان در تمام اعصار بوده است. در یونان باستان بیماری وحشتناکی به شمار می‌آمده که آن را ناشی از غلبه خدایان بر فرد می‌دانستند. در انجیل نیز به درمان صرع با خارج کردن ارواح خبیثه از تن اشاره شده است. بقراط حکیم صرع را این گونه تعریف می‌کند: «صرع عبارت است از اختلال عمل مغز» (۱).

نام صرع به وضعیتی اشاره دارد که نوعی ناتوانی و وابستگی را برای فرد به دنبال دارد و توانایی‌ها و عملکرد وی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. آمار نشان می‌دهد که ۱/۵-۱٪ از جمعیت جهان به این بیماری مبتلا هستند (۲،۳).

علل حملات صرعی متعدد است و بیماریهای گوناگون عصبی، عفونت، تومور، ضربه مغزی، بیماریهای مادرزادی، تب، عوامل سمی و عوامل متابولیک را در بر می‌گیرد (۲،۴).

قبل از کشف داروهای ضد صرع، از طریق اعمالی مثل سوراخ کردن جمجمه، حجامت و نیز به کار بردن گیاهان اقدام به درمان صرع می‌کردند (۱) تا آن که مانند سایر بیماریها بالاخره با استفاده از دارو به درمان این بیماری پرداخته شد؛ به عنوان مثال در سال ۱۹۱۲ برای اولین بار از داروی فنوباریتال به عنوان یک داروی ضد تشنج جدید و مفید استفاده شد و پس از آن فنی توئین و داروهای دیگر وارد عرصه دارویی شدند (۱).

نکته اصلی در درمان صرع، لزوم درمان طولانی مدت، مداوم و توأم با داروها است که زمینه بروز عوارض جانبی متعدد داروها را بیشتر فراهم می‌کند. اینجاست که توجه دوباره به طب سنتی و داروهای گیاهی با هدف دستیابی به داروهای کم‌خطر و با حداقل عوارض جانبی آشکارتر می‌شود.

گیاه *Echium Amoenum* یا گل گاوزبان ایرانی از دیرباز در طب سنتی ایران به عنوان آرامبخش، مدر، مرهم بافتهای مخاطی، نرم‌کننده، خلط‌آور، کاهش‌دهنده تپش قلب و تقویت‌کننده مورد استفاده قرار گرفته است (۵). در مطالعات قبلی ثابت شده که این گیاه حاوی مقادیری فلاونوئید است که با اتصال به گیرنده‌های بنزودیازپینی می‌تواند اثرات مشابه آنها ایجاد کند (۵). با توجه به خواص ذکر شده به نظر می‌رسد که این گیاه دارای

اثرات ضد تشنجی باشد. در بررسی منابع کتاب‌شناختی و بانک‌های اطلاعاتی مدرک معتبری در مورد بررسی اثر ضد تشنجی این گیاه یافت نشد؛ به همین دلیل در این تحقیق با استفاده از پیکروتوکسین که ماده‌ای تشنج‌زا است و برای ایجاد تشنج تجربی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷۶) اثرات ضد تشنجی این گیاه مورد تحقیق قرار گرفت.

## روش بررسی

در این تحقیق تجربی، گیاه گاوزبان ایرانی با نام علمی *Echium Amoenum Fisch & Mey* از خانواده *Boraginaceae* مورد بررسی قرار گرفت. این گیاه بومی ایران است و جنس و گونه آن به تأیید بخش فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان رسیده است.

برای انجام تحقیق از موش سوری سفید از جنس نر با وزن ۲۵-۳۰ گرم که از مرکز تحقیقات علوم و اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه شده بود، استفاده شد.

برای استخراج عصاره گیاه، از روش پرکولاسیون استفاده شد؛ بدین ترتیب که ابتدا گلبرگهای گیاه خرد (وزن پودر = ۵۰ گرم) و وارد پرکولاتور شد؛ روی گیاه خردشده، یک کاغذ صافی گذاشته شد و حلال به آهستگی به آن اضافه گردید تا یکنواختی به هم نخورد. باید توجه داشت که حلال بایستی همواره روی گیاه را بپوشاند.

میزان تخلیه عصاره از پرکولاتور ۵ میلی‌لیتر در دقیقه در نظر گرفته شد (۸). در این تحقیق مدت‌زمان عصاره‌گیری ۷۲ ساعت بود؛ سپس عصاره توسط روتاری اوپریتور (*Rotary Evaporator*) به روش تقطیر در خلأ در حرارت ۴۰ درجه سانتیگراد تغلیظ شد و در نهایت به مدت ۴۸ ساعت در آن ۳۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا خشک گردد. وزن عصاره خشک ۱۰/۱ گرم بود.

عصاره تهیه‌شده بخوبی در نرمال سالین حل شد. برای تهیه غلظت‌های مختلف آن از نرمال سالین استفاده شد؛ همچنین به عنوان حلال فنوباریتال و حامل در گروه شاهد منفی از نرمال سالین استفاده گردید.

در هر سری از آزمایشها اثر دوزهای مختلف عصاره گیاه و فنوباریتال بر زمان شروع تشنج، دوام تشنج و زمان مرگ ناشی از پیکروتوکسین به صورت میانگین و انحراف معیار ۱۰ عدد موش سوری ثبت شد.

اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری t و Chi-Square مورد تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

- تشنج ناشی از تزریق ۱۰ ml/kg پیکروتوکسین در

#### موش سوری

تشنج ابتدا با انقباضات خفیف و پرش عضلات، خوابیدن گوش‌ها، پرش گوش‌ها، افزایش ضربان قلب، انقباض دم، جمع کردن دست‌ها و ... آغاز شد؛ سپس پاهای حیوان از هم باز و قدرت حرکت آن محدود شد؛ حیوان به صورت کشیده روی زمین قرار گرفت. ممکن است کمر حیوان به حالت کمانی قرار گیرد که در این حالت انقباضاتی در ناحیه گردن به صورت تیک قابل مشاهده خواهد بود. در مواردی که این مرحله که چند دقیقه طول می‌کشد، مشاهده شد، به عنوان تشنج تونیک در نظر گرفته شد. بعد موش یک‌باره دچار لرزشهای پی در پی و غیر ارادی با فرکانس بالا شد. در این مرحله حیوان به شدت دچار حرکات تشنجی و بی‌قراری گردید که اغلب تمام قسمتهای بدن درگیر بود. گاهی شدت حملات به حدی بود که موش به سمت بالا پرتاب می‌شد. گاهی حیوان حالت کلاف به خود می‌گرفت و گاهی با دم در حالت انقباض شدید حرکات شلاقی انجام می‌داد؛ همچنین گاهی دوییدن وحشیانه مشاهده شد.

- اثر دوزهای مختلف عصاره متانولی گیاه

Echium Amoenum بر زمان شروع تشنج ناشی از

#### پیکروتوکسین در موش سوری

پیکروتوکسین با دوز ۱۰ mg/kg به تنهایی در موش سوری باعث شروع حملات تشنجی در مدت زمان ۷۰ ثانیه شد. پیش‌درمانی با دوزهای مختلف عصاره باعث تأخیر در شروع حملات تشنجی گردید. مؤثرترین دوز عصاره در این مرحله

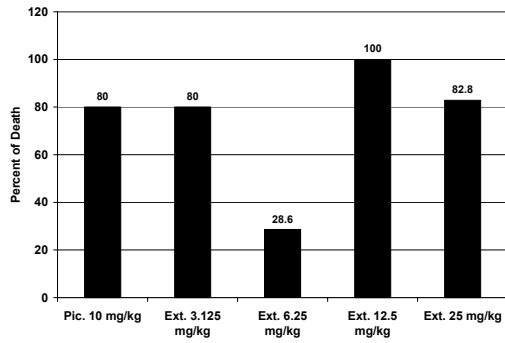
در این تحقیق حمله تونیک (Tonic) به حالتی اطلاق شد که اندامها در یک وضعیت کشیده و سخت قرار می‌گیرند (Extension Rigidity) و معمولاً کمتر از ۱-۲ دقیقه در آن حالت باقی می‌مانند (۹،۷). حمله کلونیک (Clonic) نیز به حالتی اطلاق گردید یکی یا همه اندامها دچار حرکات لرزشی پی در پی و غیر ارادی منظم می‌شود و بیمار به طور مرتب دست و پا می‌زند. در موش این حمله می‌تواند همراه با حالتی مرسوم به «دوییدن وحشیانه» باشد (۱۰).

مدتی که از زمان تزریق پیکروتوکسین تا مرگ ناشی از تشنج ثبت شد، به عنوان مدت زنده‌ماندن (Survival) در نظر گرفته شد (۱۱).

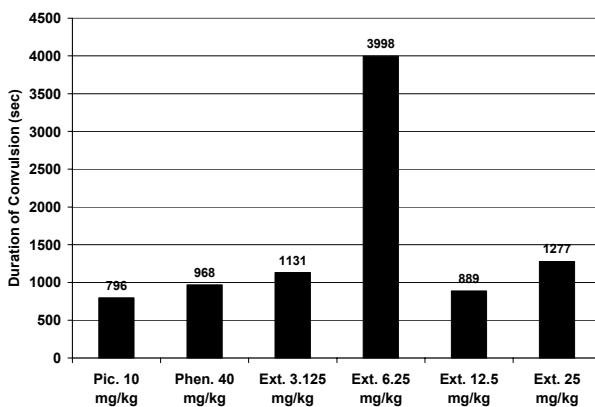
موش‌هایی که قبل از پیکروتوکسین، حامل به میزان ml/kg ۱۰ دریافت کردند، به عنوان گروه شاهد منفی و موش‌هایی که قبل از پیکروتوکسین، فنوباریتال با دوز ۴۰ mg/kg دریافت کردند، به عنوان گروه شاهد مثبت در نظر گرفته شدند.

برای انجام آزمایش، دوزهای مختلف عصاره یعنی ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ و یا فنوباریتال با دوز ۴۰ mg/kg و یا حامل به میزان ml/kg ۰/۱ از محلولها یا غلظتهای متفاوت تهیه شد و به موش‌ها تزریق گردید و بعد از ۲۰ دقیقه پیکروتوکسین به مقدار ۱۰ mg/kg تزریق شد تا ضمن بررسی اثر ضد تشنجی دوزهای تجربی فوق مؤثرترین آنها تعیین شود.

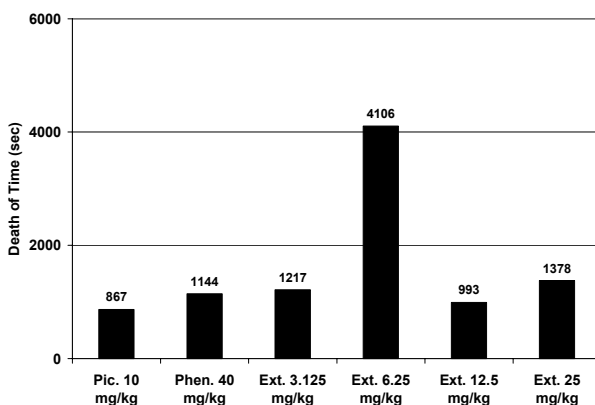
بدین منظور حیوانات ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش به محل نگهداری حیوانات منتقل شدند و از آنها به صورت دسته‌جمعی در قفسهای مخصوص نگهداری شد. ۳ در این مدت دوره ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی برقرار بود و حیوانات به آب تصفیه شده شهری و غذای آماده دسترسی داشتند. یک ساعت قبل از انجام آزمایش موشها به قفسهای مجزا منتقل شدند. میزان حجم محلول تزریقی برای هر موش ۱۰ ml/kg بود و همه تزریقها به صورت داخل صفاقی انجام شد. زمان شروع تشنج، دوام تشنج و زمان مرگ ناشی از آن در طی مدت یک ساعت ثبت شد و موشها از نظر مرگ و یا عدم مرگ در طی مدت یک روز تحت نظر بودند.



نمودار ۲- اثر عصاره متانولی گیاه *Echium Amoenum* بر زمان مرگ ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری



نمودار ۳- اثر عصاره متانولی گیاه *Echium Amoenum* بر دوام تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری



نمودار ۴- درصد مرگ و میر در گروههای مختلف دریافت کننده پیکروتوکسین و عصاره

۶/۲۵ mg/kg بود که باعث تأخیر در شروع حملات تشنجی تا حد ۱۰۸ ثانیه شد ( $P < 0.05$ ) (نمودار ۱).

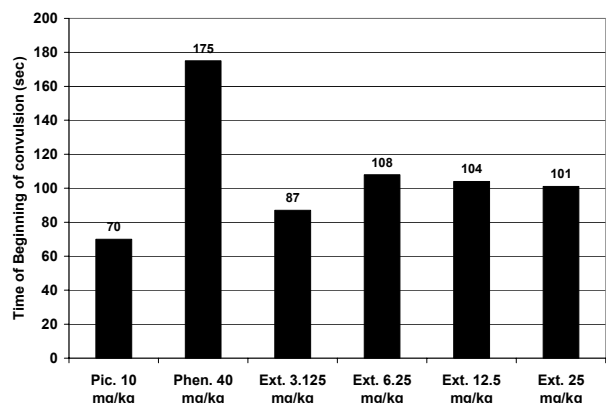
اثر دوزهای مختلف عصاره متانولی گیاه *Echium Amoenum* بر زمان مرگ ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری

زمان مرگ ناشی از پیکروتوکسین با دوز ۱۰ mg/kg به تنهایی در موش سوری ۸۶۷ ثانیه بود. در حیواناتی که با دوزهای مختلف عصاره پیش‌درمانی شده بودند، این زمان به تأخیر افتاد که در این بین مؤثرترین دوز ۶/۲۵ mg/kg بود که باعث تأخیر در زمان مرگ تا حد ۴۱۰۶ ثانیه شد ( $P < 0.01$ ) (نمودار ۲).

اثر دوزهای مختلف عصاره متانولی گیاه *Echium Amoenum* بر دوام تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری

دوام تشنج ناشی از پیکروتوکسین با دوز ۱۰ mg/kg به تنهایی در موش سوری ۷۹۶/۶۷ ثانیه بود. در این مرحله مؤثرترین دوز ۶/۲۵ mg/kg بود ( $P < 0.01$ ) که دوام تشنجات در این گروه تفاوت چشمگیری با مدت زمان دوام تشنج در گروه شاهد داشت و شدت تشنج نیز خیلی ضعیف‌تر بود (نمودار ۳).

میزان مرگ و میر در گروه شاهد ۸۰٪ و مؤثرترین دوز ۶/۲۵ mg/kg بود که مرگ و میر را تا ۲۸/۶٪ کاهش داد ( $P < 0.01$ ) (نمودار ۴).



نمودار ۱- اثر عصاره متانولی گیاه *Echium Amoenum* بر زمان شروع تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سوری

## بحث و نتیجه گیری

در مطالعات قبلی اثرات ضد دردی پیکروتوکسین در دوزهای ۲-۳ ml/kg و ایجاد تشنج در دوزهای بالاتر در موش سوری گزارش شده است (۱۲).

از چند گونه گیاهان خانواده Boraginaceae، بخصوص گاو زبان (*Borgo Officinalis*) و گونه ایرانی آن (*Echium Amoenum*) از زمانهای دور در طب سنتی ایران به عنوان آرامبخش استفاده می شده است (۱۳).

مطالعات فیتو شیمیایی وجود فلاونوئیدها را در این گیاه نشان داده و ثابت شده است که می توانند با اتصال به گیرنده های بنزودیازپینی اثرات مشابه بنزودیازپین ها را از خود بر جای گذارند (۵). نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی پرکوله گیاه *Echium Amoenum* دارای اثرات ضد تشنجی در موش سوری می باشد. دوز ۶/۲۵mg/kg از عصاره این گیاه دارای بیشترین اثر ضد تشنجی بود و زمان شروع تشنج را نسبت به گروه شاهد که تنها پیکروتوکسین دریافت کردند، به میزان قابل توجهی به تأخیر انداخت. دوزهای کمتر از ۶/۲۵mg/ml اثرات کمتری از خود نشان دادند. به نظر می رسد که دوزهای کمتر قادر به ایجاد غلظت خونی کافی برای ایجاد حداکثر اثر نیستند. از طرفی افزایش دوز نیز باعث کاهش اثرات عصاره شد و این احتمال را تقویت می کند که دوزهای بالاتر از ۶/۲۵mg/kg غلظت خونی بالاتر از حد درمانی ایجاد می کنند و آثار مشاهده شده ناشی از اثرات غیر فارماکولوژیک و شاید سمی عصاره باشد. مشاهدات عینی هنگام انجام آزمایشها در گروههای دریافت کننده دوزهای بالاتر نیز حاکی از این امر بود؛ به طوری که رفتارهای کاملاً متفاوت و چند گانه ای که ناشی از نوعی تحریک و بی قراری (احتمالاً ناشی از درد یا تأثیرات سمی بر روی سیستم عصبی) در حیوانات می باشد، به چشم می خورد.

با محاسبه درصد مرگ و میر نیز نتایج جالبی بخصوص در دوز ۶/۲۵ mg/kg حاصل گردید؛ این دوز درصد محافظت از مرگ ناشی از پیکروتوکسین را در موش سوری تا حد ۷۱/۴٪ افزایش داد (درصد مرگ و میر = ۲۸/۶٪). درصد مرگ و میر در گروه شاهد که تنها پیکروتوکسین با دوز ۱۰mg/kg دریافت

کردند، ۸۰٪ بود. در گروههای دریافت کننده دوزهای بالاتر (۱۲/۵mg/kg و ۲۵) میزان مرگ و میر افزایش داشت که احتمالاً تحت تأثیر عوارض سمی و کشنده عصاره می باشد. عصاره گیاه باعث طولانی تر شدن دوام تشنج شد و به نظر می رسد دوزهای مختلف عصاره به دلیل به تأخیر انداختن زمان مرگ باعث بقای بیشتر حیوان می شود که مدت زمان بیشتری در مرحله تشنج به سر برده است ولی شدت حملات در گروههایی که دوزهای مختلف عصاره، بخصوص دوز ۶/۲۵mg/kg دریافت کرده بودند، بسیار خفیف تر از گروههای شاهد بود.

در این مطالعه از فنوباریتال که یک داروی مؤثر ضد تشنج است، به عنوان شاهد مثبت استفاده شد و مشخص گردید که مکانیسم ضد تشنجی آن مربوط به گیرنده های GABAA می باشد. همانطور که می دانیم سه نوع گیرنده GABA در مغز وجود دارد: GABAA، GABAB و GABAC. گیرنده نوع B وابسته به پروتئین G می باشد؛ در حالی که گیرنده های نوع A و C کانال های لیگاندی یون کلر هستند که پلاریزاسیون غشای نورون را افزایش می دهند و مستقیماً عمل می نمایند. پیکروتوکسین و پیکوکولین آنتاگونیست های گیرنده GABAA هستند که هر دو می توانند شدیداً باعث تشنج شوند (۶)؛ با این حال مشخص نیست که آیا ماده مؤثر موجود در عصاره گیاه *Echium Amonenum* از طریق گیرنده های GABA عمل می کند یا خیر. مواد مؤثر اصلی در این گیاه پیرولیزیدین آلکالوئیدها (ماننداک میسین)، فلاونوئیدها، اسید رزمارینیک، آنتوسیانین ها، ساپونین ها، ترپنوئیدهای اشباع نشده و استرول ها هستند (۵، ۱۳).

احتمالاً اثرات ضد تشنجی این گیاه توسط فلاونوئیدها (۱۲)، اسید رزمارینیک و برخی از مواد فوق اعمال می شود. البته اثبات این امر نیازمند جدا نمودن این ترکیبات از گیاه و تحقیق اختصاصی بر روی این مواد می باشد.

از آنجا که این گیاه به عنوان یکی از گیاهان مرسوم و مؤثر و مورد قبول در طب سنتی ایران، به عنوان آرامبخش و تقویت کننده به شمار می رود، همچنین یکی از گیاهان بومی ایران است، می توان به طور گسترده تری در مورد آن مطالعات دقیق و پیگیر انجام داد. اهمیت دنبال کردن این مطالعه در زمینه آنالیزهای

فیتوشیمیایی و مطالعات دقیق تر و گسترده تر فارماکولوژیک آشکارتر می شود.

### منابع:

- ۱- ارضی ا، گله دار ف. بررسی دیدگاههای تازه در دارو درمانی اپی لپسی. چاپ اول. اهواز: انتشارات معاونت پژوهشی وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی ۱۳۷۸: ۳۱-۳۸.
- 2- Hopkins A, Shorvon S, Cascino G. Epilepsy, Chaman & Hall. London: Blackwell; 1995: 38-42, 82.
- 3- Purves D. Neuroscience, Sunderland, Massachusetts. Sinaure, CP. P1997: 110-12, 137-38.
- ۴- کاتزونگ ب. فاماکولوژی پایه و بالینی. ترجمه مذهبی م، نیایش م، مدرس موسوی ف. تهران: ارجمند؛ ۱۳۷۷.
- 5- Shafaghi B, Naderi N, Tahmasb L. Kamalinejad M. Anxiolytic effect of echium amoenum L.in mice. Iran J Pharmaceutical Res 2002; 1:37-41.
- 6- Carvey PM. Drug Action in the Central Nervous System. New York: Oxford University Press; 1998: 201.
- 7- Fauci AS. Harrison's Principles of Internal Medicine. 14<sup>th</sup> ed. Vol.2. New York: McGraw Hill; 1998.
- ۸- فلوک ه. گیاهان دارویی. چاپ پنجم. تهران: روزبهان: ۱۳۷۹: ۵۴.
- ۹- سلطانزاده ا. بیماریهای مغز و اعصاب و عضلات. چاپ دوم. تهران: جعفری؛ ۱۳۸۰: ۲۳۵-۲۶۸.
- 10- Gower AJ, Noyer MV, Gobert J, Walfert E. VcbLo 59, a novel anti-convulsant drug: pharmacological profile in animals. Eur J Pharmacol 1995; 222(2-3 ): 109- 203.
- 11- Yamaguchi S, Rogawski MA. Effects of anticonvulsant drugs on 4-amino pyridine induced seizures in mice. Epilepsy Res1992; 11(1 ): 9-16.
- 12- Zarrindast MR, Heidari MR, Khalili F, Ghazi-Khansari M. Effects of picrotoxin on antinocieption in the formalin test. Pharmacol Toxicol 1996; 78(5): 313-16.
- 13- Keshavarzi F, Azadbakht M, Amirghofran Z: Echium amoenum stimulate of lymphocyte proliferation and inhibit of humoral antibody synthesis. Irn J Med Sci 2000, 24 (3 &4): 119-24.