

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه *Salvia Sahendica* بر روی تشنج

ناشی از پنتیلن تترازول در موش سوری

حسن اژدری زرمهری^۱ (Ph.D)، فیروزه نادری^۲ (M.Sc)، الهه ارمی^۳ (M.Sc)، محمد محمدزاده^۴ (Ph.D)

۱- دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

۲- دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

۳- دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، دانشکده پرستاری و مامایی

۴- دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، گروه فیزیولوژی و فترماکولوژی

چکیده

سابقه و هدف: صرع یکی از رایج ترین اختلالات عصبی در انسان می باشد که به صورت تشنجات ناگهانی، زودگذر، تکرارشونده و غیر قابل پیش بینی ظاهر می شود. حدود نیم تا یک درصد از جمعیت جهان به بیماری صرع مبتلا هستند. از دیرباز، برای درمان صرع از گیاهان دارویی استفاده شده است. در این مطالعه اثر ضد تشنجی عصاره *Salvia Sahendica* در موش سوری نر بررسی گردید.

مواد و روش ها: ۶۰ موش به طور تصادفی به شش گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. یک گروه (کنترل) دریافت کننده نرمال سالین و ۵ گروه دیگر دریافت کننده عصاره (با دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰، ۹۰۰، ۱۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بودند. ۳۰ دقیقه بعد از تجویز داخل صفاقی دوزهای مختلف عصاره یا نرمال سالین، پنتیلن تترازول با دوز ۸۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به موش ها تزریق و بلافاصله به قفس مخصوص منتقل شدند و در طی ۳۰ دقیقه بعد پارامترهای تشنجی ارزیابی شد.

یافته ها: تزریق عصاره این گیاه به صورت وابسته به دوز باعث تاخیر زمان شروع تشنج کلونیک و تونیک-کلونیک شد. دوز ۶۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم بیش ترین اثر را بر کمیت تشنجی مذکور داشت. تجویز عصاره هم چنین باعث کاهش زمان تشنج تونیک کلونیک در حیوانات می شود هم چنین میزان مرگ و میر و تعداد پرش های ناگهانی حیوانات را هنگام تشنج به طور معنی داری کاهش داد.

نتیجه گیری: مطالعه ما نشان داد که عصاره *Salvia Sahendica* دارای اثر ضد تشنجی مناسبی بوده و به نظر می رسد مطالعات آینده برای جداسازی و تعیین مواد موثر و شناخت مکانیسم اثر آن ضروری باشد.

واژه های کلیدی: حمله های تشنجی، پنتیلن تترازول، موش ها

مقدمه

تشنج (Seizure) به تغییرگذرای رفتاری به دلیل تخلیه ریتمیک و همزمان جمعی از نورون های سیستم اعصاب مرکزی گفته می شود. حدود ۱ درصد از جمعیت جهان مبتلا به

صرع یک اختلال نورولوژیکی و شایع می باشد که مشخصه آن تشنج های غیر قابل پیش بینی و دوره ای است.

است. این گیاه سرشار از مواد آنتی‌اکسیدان در ترکیبات خود می‌باشد و همچنین در طی تحقیقات انجام شده بر روی این گیاه موادی مانند فلاونوئیدها، پلی‌فنل‌ها و روغن‌های چرب ضروری به مقدار فراوان در ترکیبات آن به اثبات رسیده است [۸]. اثرات آنتی‌اکسیدانی و تضعیف‌کنندگی فلاونوئیدها بر روی سیستم اعصاب مرکزی به اثبات رسیده است [۹،۳]. در رابطه با اثرات آنتی‌اکسیدانها بر تشنج، گزارشات نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل ملاتونین، ویتامین E و C اثر ضد تشنجی در مدل پیلوکارپین دارند [۱۰].

در بررسی‌های اخیر تاثیر احتمالی فلاونوئیدها بر روی سیستم اعصاب مرکزی مشاهده شده است. فلاونوئیدها از طریق اتصال به گیرنده‌های بنزودیازپینی که می‌تواند اثرات مشابه بنزودیازپین‌ها را از خود بر جای گذارد مطرح شده است و این ادعا با شواهدی از تاثیر فلاونوئیدها در ایجاد خواب‌آلودگی و رفع اضطراب و کنترل تشنج مطرح شده است [۱۱،۱۲]. فعال شدن گیرنده‌های بنزودیازپینی از طریق تقویت سیستم گابائرتریک مغز می‌تواند حملات صرعی را متوقف سازند [۴]. پلی‌فنل‌ها نیز تاثیر مثبتی در درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند انواع سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی و عروقی و بیماری‌های دست‌گاه عصبی دارند [۱۳]. آنالیز HPLC این گیاه نشان می‌دهد که ترکیب اصلی این عصاره اسید روزمارینیک می‌باشد که ترکیب فنلی طبیعی گونه‌های مریم‌گلی بوده و فعالیت‌های بیولوژیکی زیادی مانند مهار HIV-1، آنتی‌تومور، آنتی‌هیپاتیت و حفاظت کبدی، آنتی‌کوآگولانت و ضد التهاب و تشنج را داراست [۸،۹].

با توجه به وجود گزارش متعدد اثرات خواب‌آور، ضد اضطراب، ضد درد و ضد تشنج گونه‌های مختلف این گیاه، بنظر می‌رسد که گونه *Salvia Sahendica* نیز دارای اثرات ضد تشنجی مناسبی باشد [۱۴]. در همین راستا اثرات ضد تشنجی گونه‌هایی از این گیاه مانند: *S. S. persica*، *guaranitica*، *S. haematodes*، *S. nemorsa*، *S. sclarea* و *S. transsylvanica* گزارش شده است [۱۳]. با توجه به

بیماری‌های تشنجی بوده که پس از سکنه‌های مغزی دومین علت شایع بیماری‌های نورولوژیک را شامل می‌شود [۱]. قبل از کشف داروهای ضد صرع، این بیماری را از طریق اعمالی مثل سوراخ کردن جمجمه، حجامت و نیز با استفاده از گیاهان درمان می‌کردند تا این‌که که در سال ۱۹۱۲ برای اولین بار از داروها برای درمان تشنج استفاده شد و پس از آن فنوباریتال، فنی‌توئین و داروهای دیگر وارد عرصه دارویی شدند [۲]. امروزه با وجود پیشرفت‌های زیاد در درمان بیماری‌های تشنجی، میلیون‌ها نفر در سراسر جهان هنوز دچار صرع غیر قابل کنترل می‌باشند که در برابر داروهای ضد تشنج رایج مقاوم هستند به طوری که از هر ۳ بیمار ۱ نفر به این داروها پاسخ مناسبی نمی‌دهد. نکته اصلی در درمان صرع، لزوم درمان طولانی‌مدت، مداوم و توأم چند دارو با هم است که زمینه بروز عوارض جانبی متعدد داروها را بیش‌تر فراهم می‌کند [۳]. از این رو توجه به طب سنتی و داروهای گیاهی با هدف دستیابی به داروهای کم‌خطر و با حداقل عوارض جانبی آشکارتر می‌شود.

برای درمان تشنج نیز از گیاهان بسیار زیادی از گذشته دور تا کنون در ایران و سایر کشورها استفاده شده است که برای نمونه می‌توان به گل‌گاوزبان، سنبل‌الطیب، شوید، تناسیوم و چای سبز اشاره نمود [۴-۶]. گیاهان دارویی در کنترل و درمان بیماری‌ها از قرن‌ها پیش مورد استفاده پزشکی بوده‌اند و اثرات درمانی مناسب هم‌راه با عوارض جانبی کم‌تر آن‌ها در طول سال‌های متمادی به اثبات رسیده است [۳]. یکی از این گیاهان ارزشمند *Salvia Sahendica* گیاهی از جنس *Salvia* و از خانواده *Labiatae* می‌باشد. جنس *Salvia* که در ایران به نام مریم‌گلی شناخته شده است، دارای ۹۰۰ گونه گیاه علفی چند ساله است. گونه‌های این جنس در کل دنیا گسترش داشته و در ۳ ناحیه مشخص رویش دارند: مرکز و شمال قاره آمریکا (۵۰۰ گونه)، مرکز آسیا و مدیترانه (۲۵۰ گونه)، و آسیای شرقی (۹۰ گونه) [۷]. پنجاه و هشت گونه از این جنس در ایران شناخته شده است. تا کنون تحقیقات زیادی بر روی اثرات گونه *Salvia Sahendica* انجام شده

گروه‌های آزمایشی: برای ارزیابی اثر ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی گیاه، ۶۰ موش به طور تصادفی به شش گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. ۳۰ دقیقه پس از تزریق داخل صفاقی نرمال سالین (گروه کنترل) و عصاره با دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰، ۹۰۰، ۱۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم (۵ گروه تحت درمان) پنتیلن‌تترازول با دوز ۸۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به موش‌ها (به صورت داخل صفاقی) تزریق شد. انتخاب دوز بر اساس مطالعات قبلی بود [۱۶]. بلافاصله بعد از تزریق پنتیلن‌تترازول موش‌ها به یک قفس جداگانه منتقل شدند و در طی ۳۰ دقیقه مشاهده، زمان شروع تشنج کلونیک، زمان شروع تشنج تونیک، زمان تشنج‌های تونیک‌کلونیک، زمان کل تشنج، افتادن (از دست دادن تعادل)، پرش و مرگ و میر موش‌ها در هر گروه تا ۲۴ ساعت بعد ارزیابی شد [۱۷].

کمیت‌های تشنجی مذکور بر اساس تعاریفی که در زیر آمده است تعیین گردید [۱۸]:

تشنج کلونیک: یک دوره کوتاه‌مدت از تشنج با حرکات بیچشی سر و گردن، حرکات دست‌ها و پرش‌های شدید و دور زدن

تشنج تونیک: سفتی شدید عضلات و کشیده شدن دست‌ها و پاها به طرفین

تشنج تونیک‌کلونیک: انقباض‌های ناگهانی کل بدن هم‌راه با پرش‌های بسیار کوتاه‌مدت

مدت زمان کل تشنج (Seizure duration): مدت زمان تشنج از ابتدای شروع تا اتمام تشنج پس از تزریق PTZ

افتادن: از دست دادن تعادل موش‌ها در اثر تشنج و قرار گرفتن در یک طرف بدن

پرش: پرش‌های ناگهانی بالاتر از ۲۰ سانتی‌متر از سطح زمین.

مرگ و میر: این کمیت تشنجی از نوع گسسته می‌باشد و پس از مشاهده ثبت می‌شود. در صورتی که تشنج بیش از حد باشد برخی موش‌ها از بین می‌روند.

آنالیز آماری: برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS16 استفاده شد و به منظور بررسی اختلاف آماری

ترکیبات موجود در این گیاه، توزیع گسترده و استفاده سنتی و درمانی از آن و از آن‌جایی که تاکنون به‌طور علمی اثر تشنجی این گونه مطالعه و بررسی نشده است، در این تحقیق اثر ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی گیاه *Salvia Sahendica* با استفاده از مدل شیمیایی رایج تزریق پنتیلن‌تترازول در موش سوری نر مورد بررسی قرار گرفت.

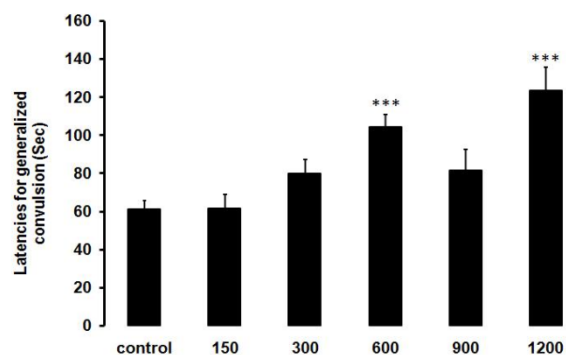
مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه و روش تهیه عصاره. اندام هوایی گیاه در زمان گل‌دهی از رویش‌گاه طبیعی آن در کوه سهند جمع‌آوری و پس از شناسایی علمی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سایه خشک شد و تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری شد. برای عصاره‌گیری قسمت‌های خشک شده گیاه توسط دست‌گاه خردکننده پودر شد. برای تهیه عصاره آبی ۲ برابر وزن قسمت‌های خشک شده گیاه آب مقطر اضافه شد. پس از سه روز که عمل خیساندن صورت گرفت، عصاره حاصله توسط پارچه و پنبه و سپس توسط قیف بوختر صاف گردید. بعد از آن عصاره صاف شده به پلیت منتقل و در داخل بن‌ماری در دمای ۴۰ درجه جهت خشکاندن عصاره و تهیه ماده خشک به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد [۱۵]. تمامی مراحل عصاره‌گیری توسط ظروف استریل انجام و در پایان عصاره‌گیری محلول اتوکلاو شد. در ضمن پس از مرحله خشک کردن عصاره برای تهیه غلظت مشخص از سالین استریل استفاده شد.

حیوانات آزمایشگاهی. در این مطالعه از موش‌های سوری نر با وزن تقریبی ۳۰-۲۵ گرم استفاده گردید که از موسسه رازی خریداری شدند. حیوانات مورد آزمایش در اتاقی با دمای درجه ۲۲ و در دوره ۱۲ ساعته تاریکی - روشنایی نگهداری و در مدت نگهداری به طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند.

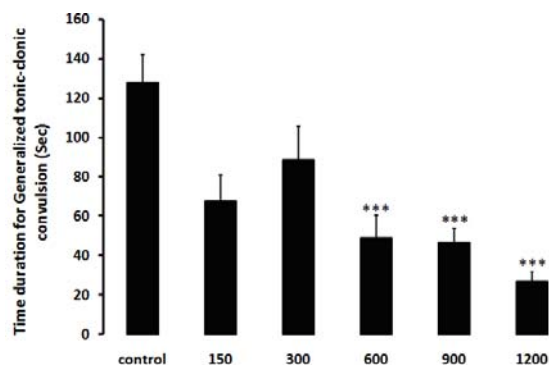
داروها. از پنتیلن‌تترازول (سیگما) با دوز ۸۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (که این مقدار دوز بر اساس مطالعات قبلی به دست آمد)، برای القاء تشنج استفاده شد.

گروه‌هایی که دوز ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره را دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل (هر دو گروه $P < 0.001$) نشان داد (شکل ۲).



شکل ۲- بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی *Salvia Sahendica* بر زمان زمان تأخیری تا شروع تشنج تونیک ناشی از پنتیلین ترازول درموش سوری. دوزهای ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زمان تأخیری تا شروع تشنج تونیک را به طور معنی‌دار افزایش داد. *** نشان دهنده $P < 0.001$ نسبت به گروه کنترل است (در تمامی گروه‌ها $n=10$).

در بررسی میانگین مدت زمان تشنج‌های تونیک-کلونیک، آزمون ANOVA مشخص شد که این کمیت تشنجی وابسته به دوز است [F(5,54)=8/83, P=0/000] پس آزمون Tukey نشان داد که میانگین مدت زمان تشنج‌های تونیک-کلونیک در دوزهای ۶۰۰ mg/kg ($P < 0.001$)، ۹۰۰ mg/kg ($P < 0.001$)، و دوز ۱۲۰۰ mg/kg ($P < 0.001$) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری دارند (شکل ۳).

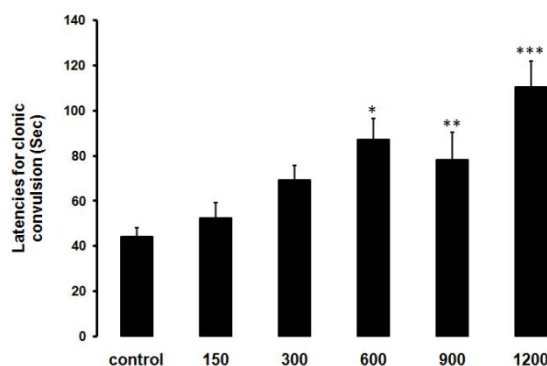


شکل ۳- بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی *Salvia Sahendica* بر مدت زمان تشنج تونیک کلونیک ناشی از پنتیلین ترازول درموش سوری. دوزهای ۱۵۰، ۶۰۰، ۹۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مدت زمان تشنج تونیک کلونیک را به طور معنی‌دار کاهش داد. *** نشان دهنده $P < 0.001$ نسبت به گروه کنترل است (در تمامی گروه‌ها $n=10$).

میانگین‌ها از آزمون ANOVA و سپس از آزمون‌های تکمیلی Tukey و LSD استفاده گردید. $P < 0.05$ به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

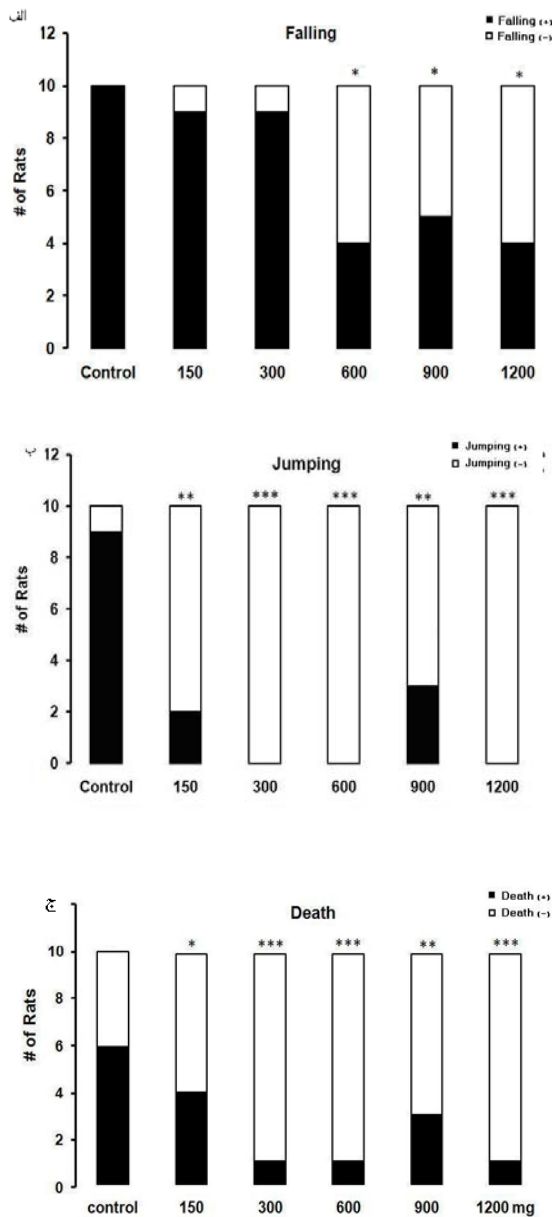
تشنج‌های کلونیک در همه حیوانات گروه کنترل مشاهده گردید. کمیت مذکور در ۹۰ درصد حیواناتی که عصاره با دوز ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرده بودند، و در ۸۰ درصد حیواناتی که عصاره به مقدار ۱۲۰۰ mg/kg دریافت کرده بودند؛ مشاهده نشد. تجزیه و تحلیل آماری (ANOVA) نشان داد که اثر عصاره بر مدت زمان تأخیری تا شروع تشنج‌های کلونیک وابسته به دوز است [F(5,54)=7/24, P=0/000]. پس آزمون Tukey نشان داد این کمیت در گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۶۰۰، ۹۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره؛ نسبت به گروه کنترل به ترتیب با $P < 0.01$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$ معنی‌دار است (شکل ۱).



شکل ۱- بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی *Salvia Sahendica* بر زمان تأخیری تا شروع تشنج کلونیک ناشی از پنتیلین ترازول درموش سوری. دوزهای ۶۰۰، ۹۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زمان تأخیری تا شروع تشنج کلونیک را به طور معنی‌دار افزایش داد. * نشان دهنده $P < 0.05$ ، ** نشان دهنده $P < 0.01$ و *** نشان دهنده $P < 0.001$ نسبت به گروه کنترل است (در تمامی گروه‌ها $n=10$).

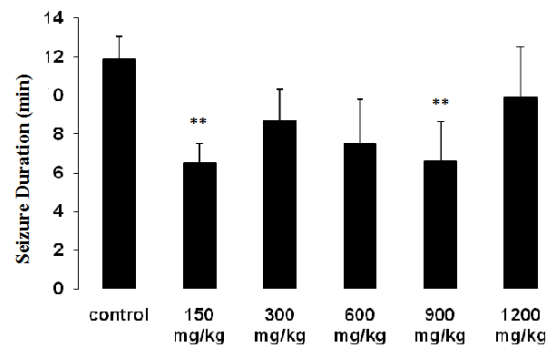
هم‌چنین تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد که مدت زمان تأخیری تا شروع تشنج تونیک در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره وابسته به دوز است [F(5,54)=8/29, P=0/000]. پس آزمون Tukey کاهش معنی‌دار را در کمیت مذکور در

دوزهای ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰، ۹۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به ترتیب $P < 0.01$ ، $P < 0.000$ ، $P < 0.000$ ، $P < 0.000$ و $P < 0.000$ نشان داد (شکل ۵-ب).



شکل ۵- بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی *Salvia Sahendica* بر میزان عدم تعادل بصورت افتادن (الف)، پرش (ب) و مرگ (ج) ناشی از پنتیلین تترازول درموش سوری. دوزهای ۶۰۰، ۹۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان عدم تعادل و تمامی دوزهای تزریقی میزان پرش و مرگ را نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار داد. * نشان دهنده $P < 0.05$ ، *** نشان دهنده $P < 0.001$ و **** نشان دهنده $P < 0.0001$ نسبت به گروه کنترل است. (در تمامی گروه‌ها $n=10$)

کمیت تشنجی دیگر که مورد ارزیابی قرار گرفت؛ مدت زمان کل تشنج بود. آزمون ANOVA در مورد میانگین مدت زمان کل تشنج (از زمان تزریق پنتیلین تترازول تا زمان قطع تشنج یا مرگ)، نشان داد که اثر عصاره بر این کمیت وابسته به دوز نیست. اما پس‌آزمون LSD نشان داد که مدت زمان کل تشنج بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده عصاره با دوز ۱۵۰ mg/kg ($P < 0.01$) و دوز ۹۰۰ mg/kg ($P < 0.01$) اختلاف معنی‌داری وجود دارد (شکل ۴).



شکل ۴- اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی گیاه *Salvia Sahendica* (دوزهای ۱۵۰ تا ۱۲۰۰) بر مدت زمان کل تشنج (Seizure duration) ناشی از تزریق پنتیلین تترازول. میانگین Seizure duration در همه‌ی گروه‌های درمانی از نظر آماری نسبت به گروه کنترل معنی‌داری نبود ($P < 0.12$). ** نشان دهنده $P < 0.01$ نسبت به گروه کنترل است (برای همه‌ی گروه‌ها $n=10$ می‌باشد).

پس از تزریق عصاره *Salvia Sahendica* میانگین تعداد موش‌هایی که در اثر تشنج دچار از دست دادن تعادل (افتادن) شدند، به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. بدین معنی که کمیت از دست دادن تعادل به صورت وابسته به دوز تحت تأثیر عصاره می‌باشد [$F_{(5,54)}=4/6$ ، $P=0.001$]. آزمون تکمیلی Tukey نشان داد که دوزهای ۶۰۰، ۹۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل دچار افتادن کم‌تری شدند ($P < 0.05$) (شکل ۵-الف). آزمون ANOVA نشان داد که میانگین تعداد موش‌هایی که در اثر تشنج دچار پرش ناگهانی شدند به صورت وابسته به دوز با تزریق دوزهای مختلف عصاره کاهش معنی‌داری پیدا کرد [$P=0.000$]. پس‌آزمون Tukey کاهش معنی‌دار هر یک از

هم‌اکنون از عصاره *Salvia Officinalis* به صورت سنتی برای درمان صرع که مکانیسم ایجاد اثر آن از طریق مهار گلوتامات ذکر شده است استفاده می‌شود [۲۰]. گونه‌های زیادی از گیاه *Salvia* در بعضی از کشورها مانند چین برای درمان بیماری‌های مغزی مانند اختلالات روانی، افسردگی، صرع، هیپوکسی مغزی و آمیزیا استفاده می‌شود [۱۷]. البته ذکر این مطلب نیز ضروری است که مصرف برخی از گونه‌های مریم‌گلی به صورت استنشاقی یا خوراکی باعث تحریک تشنج‌های با منشا CNS می‌شود که این اتفاق با مصرف دوزهای بالا رخ می‌دهد [۲۱، ۲۲].

مکانیسم عمل عصاره *Salvia Sahendica* هنوز ناشناخته است و تحقیقات زیادی را در این رابطه می‌طلبد. طبق تحقیقات به عمل آمده *Salvia Sahendica* حاوی درصد بالایی از ترکیبات فنولیک و فلاونوئید بوده که به عنوان ترکیبات ضد التهاب، ضد تشنج، آنتی‌اکسیدان شناخته شده‌اند [۲۳]. فلاونوئیدها در بسیاری از غذاها و گیاهان دارویی یافت می‌شوند. مشخص شده است که برخی از فلاونوئیدها با محل اتصال بنزودیازپین‌ها روی گیرنده‌های $GABA_A$ در سیستم عصبی مرکزی متصل می‌شوند و در نتیجه از این طریق اثرات ضد اضطرابی، ضد تشنجی و خواب‌آوری ایجاد می‌کنند ولی فاقد خاصیت آرام‌بخشی هستند [۲۴-۲۶]. چندین گروه از متخصصین وجود لیگاند‌های گیرنده بنزودیازپینی را در عصاره گونه‌های دیگر مریم‌گلی که در طب سنتی به عنوان ضد تشنج و ضد درد استفاده می‌شوند نشان داده‌اند [۲۳].

در مطالعه شیرزاده و هم‌کاران اثرات محافظت‌کننده عصبی *Salvia Sahendica* (Neuroprotective) در برابر H_2O_2 ایجاد شده توسط استرس اکسیداتیو اثبات گردید که این عمل از طریق مهار مسیرهای آپتوز سلولی مانند آزاد شدن سیتوکروم c آزاد شده از میتوکندری و نشست کلسیم از رتیکولوم آندوپلاسمیک انجام می‌گیرد [۸]. در مطالعه‌ای دیگر توسط اسماعیلی و هم‌کاران نشان داده شد که *Salvia Sahendica* با حذف رادیکال‌های 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl در سلول‌های صدمه‌دیده کبد و کلیه متعاقب

هم‌چنین آزمون ANOVA نشان داد که اثر عصاره بر میانگین تعداد مرگ و میر حیوانات وابسته به دوز است [F(5,54)=9/20, P=0/000]. در هر کدام از دوزهای ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تنها یک مورد مرگ و میر مشاهده شد. این تعداد مرگ کم از نظر آماری نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری داشت (P<0/001). در دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۳ مورد (P<0/05) و در دوز ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ۲ مورد از حیوانات مرگ مشاهده شد (P<0/01) (شکل ۵-ج).

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر شواهدی را فراهم آورد که نشان داد عصاره *Salvia Sahendica* دارای اثرات ضد تشنجی می‌باشد. به طوری که تزریق عصاره این گیاه باعث افزایش زمان تأخیری تا شروع تشنج کلونیک و افزایش زمان تأخیری تا شروع تشنج تونیک گردید. هم‌چنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز عصاره باعث کاهش طول مدت تشنج تونیک کلونیک در حیوانات می‌شود. هم‌چنین مرگ و میر و تعداد پرش‌های ناگهانی حیوانات در هنگام تشنج تحت تأثیر عصاره *Salvia Sahendica* کاهش معنی‌دار داشت. شواهد علمی مطالعه کنونی نشان داد که عصاره *Salvia Sahendica* دارای اثر ضد تشنجی مناسبی بوده و به نظر می‌رسد مطالعات آینده برای جداسازی و تعیین مواد موثر آن ضروری باشد.

در میان گیاهان دارویی گونه‌های مختلف جنس *Salvia*، از گیاهان مطرح و شاخص هستند. عصاره برخی از گونه‌های آن در کشورهای دیگر به عنوان یک داروی ضد تشنج مورد استفاده قرار گرفته است [۱۴].

برگ گیاه مریم‌گلی از مقدار ارزش‌مندی اسانس برخوردار است. بر اساس مطالعات مرفولوژیکی مربوط به چهار نوع متفاوت غده ویژه تری‌کوزومی موجود بر سطح برگ‌های آن ترکیبات فلاون‌ها، فنولیک‌اسید، گلیکوزیدهای فنیل پروپانویید، تری‌ترپنوییدها و دی‌ترین‌ها (شامل فنولیک، کوئینوئیدال) در برگ این گیاه وجود دارد [۱۹، ۲۰].

بتواند بر علیه صرع عمومی در انسان نیز موثر باشد که البته نیاز به مطالعات کلینیکی دارد. بدون شک مطالعات آینده به منظور جداسازی ماده موثر عصاره *Salvia Sahendica* مشخص خواهد نمود که کدام یک از ترکیبات موجود در عصاره، مسؤول اثر ضد تشنجی آن بوده و مکانیسم دقیق اثر ضد تشنجی آن کدام مورد پیشنهاد شده می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار و دانشگاه علوم پزشکی قزوین به انجام رسید.

منابع

- [1] Carvey PM. Drugs action in the central nervous system. Oxford Univ Press 1998; p: 201.
- [2] Arzi A, Goalhdar F. New perspectives in the drug treatment of epilepsy. J Med Res 1998; p: 38. (Persian).
- [3] Leung AY, Foster S. Encyclopedia of common natural ingredients. New York, Wiley Interscience Publication 1996, pp: 145-147, 368-71, 382-383.
- [4] Duke JA. Handbook of medical herbs. CRC Press. 2 rd, UK. 2000; p: 503-504.
- [5] Mohammadzadeh M, Pejghan A, Mirnajafizadeh J, Rakhshani MH. Effects of the aqueous and alcoholic extracts of anethum graveolens L (dill) on pentylenetetrazol-induced seizures in male mice. J Med Plants 2012; 11: 45-54. (Persian).
- [6] Naderi F, Sofiabadi M, Erami E, Sonboli A, Azhdari Zarmehri H, Mohammad-Zadeh M. The effect of Tanacetum Sonbolii hydroalcoholic extract on PTZ-induced seizures in male mice. J Med Plants 2012. (Persian).
- [7] Pavela R. Insecticidal activity of certain medicinal plants. Fitoterapia 2004; 75: 745-749.
- [8] Shaerzadeh F, Alamdary SZ, Esmaili MA, Sarvestani NN, Khodaghali F. Neuroprotective effect of salvia sahendica is mediated by restoration of mitochondrial function and inhibition of endoplasmic reticulum stress. Neurochem Res 2011; 36: 2216-2226.
- [9] Esmaili MA, Sonboli A, Kanani MR. Salvia sahendica prevents tissue damages induced by alcohol in oxidative stress conditions: Effect on liver and kidney oxidative parameters. J Med Plants 2009; 34: 276-283. (Persian).
- [10] Xu K, Stringer JL. Antioxidants and free radical scavengers do not consistently delay seizure onset in animal models of acute seizures. Epilepsy Behav 2008; 13: 77-82.
- [11] Jesberger JA, Richardson JS. Oxygen free radicals and brain dysfunction. Int J Neurosci 1991; 57: 1-17.
- [12] Kunz WS. The role of mitochondria in epileptogenesis. Curr Opin Neurol 2002; 15: 179-184.
- [13] Lucindo J, Quintans Júnior, and et al. Plants with anticonvulsant properties. Brazil J Pharmacogn 2008; 18: 798-819.
- [14] Kintzios SE. SAGE the genus salvia. Published by license under the Harwood Academic Publishers imprint, part of the Gordon and Breach Publishing Group 2000.
- [15] Hosseinzadeh H, Karimi G, Ameri M. Effects of Anethum graveolens L. seed extracts on experimental gastric irritation models in mice. BMC pharmacol 2002; 2: 21. (Persian).
- [16] Maklad YA, Aboutabl EA, el-Sherei MM, Meselhy KM. Bioactivity studies of Salvia transsylvanica (Schur ex Griseb) grown in egypt. Phytother Res 1999; 13: 147-150.
- [17] Gonzalez-Trujano ME, Carrera D, Ventura-Martinez R, Cedillo-Prutgal E, Navarrete A. Neuropharmacological profile of

مصرف الکل، نقش پیش‌گیری‌کننده و درمانی در برابر استرس اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله الکل در این بافت‌ها را دارد [۹]. استرس‌های اکسیداتیو و اختلال عمل‌کرد میتوکندری می‌تواند مغز را مستعد ایجاد حملات صرعی کند. از طرف دیگر تحقیقات نشان می‌دهند که حملات تشنجی منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها و چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک در سلول‌ها می‌شوند. بنابراین استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد در حال حاضر هم به عنوان علت و هم محصول و نتیجه حملات تشنجی شناخته می‌شود [۱۱،۱۲].

یکی از شایع‌ترین علل صرع و تشنج در انسان و حیوانات، تقویت سیستم گلوتامینرژیک و یا تضعیف سیستم گاباارژیک است. پنتیلن‌تترازول نیز که یک داروی تشنج‌زاست از طریق مهار گیرنده‌های $GABA_A$ که در غشای نورون‌های سیستم عصبی مرکزی وجود دارند؛ عمل می‌کند. بنابراین داروهایی که عمل سیستم $GABA_A$ را از طریق رسپتور $GABA_A$ تقویت کنند می‌توانند در جلوگیری از صرع القاء‌شده توسط پنتیلن‌تترازول موثر باشند. البته بیان شده است داروهایی که جریان یون کلسیم را از طریق کانال‌های کلسیم نوع T مهار می‌کنند نیز می‌توانند در جلوگیری از صرع پنتیلن‌تترازول موثر باشند [۲۷-۲۹].

البته شایان ذکر است که این گیاه دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بسیار زیادی بوده و شاید یکی از اثرات ضد تشنجی آن به دلیل داشتن این ترکیبات باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش رادیکال‌های آزاد در سلول‌های مغزی می‌شوند [۱۱،۱۲].

لذا به نظر می‌رسد *Salvia Sahendica* احتمالاً با تضعیف سیستم گلوتامینرژیک، تقویت سیستم گاباارژیک و یا کاهش استرس اکسیداتیو اثر ضد تشنجی خود را اعمال می‌کند که برای شناخت دقیق آن نیاز به انجام مطالعات تکمیلی است. در مجموع، مطالعه کنونی نشان داد که عصاره *Salvia Sahendica* دارای اثر ضد تشنجی مناسبی در موش‌ها می‌باشد. بنابراین شاید بتوان پیشنهاد نمود که عصاره این گیاه

- benzodiazepine receptors in vitro. *Biochem Pharmacol* 1988; 37: 3285-3287.
- [24] D'Amelio FS. *Botanicals: A phytocosmetic desk reference*. USA, CRC Press 1999; pp: 77,154-156, 168-169.
- [25] Ernst E, Pittler MH. The efficacy and safety of feverfew *Tanacetum parthenium* L. *Public Health Nutr* 2000; 3: 509-514.
- [26] Jager AK, Gauguin B, Adersen A, Gudiksen L. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat epilepsy and convulsions. *J Ethnopharmacol* 2006; 105: 294-300.
- [27] Grando SA, Kist DA, Qi M, Dahl MV. Human keratinocytes synthesize, secrete and degrade acetylcholine. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 32-36.
- [28] Levey AI. Immunological localization of M1-M5 Muscarinic acetylcholine receptors in peripheral tissues and brain. *Life Sci* 1993; 52: 441-448.
- [29] Coulter DA, Hugerand JR, Prince DA. Characterization of the ethosuximide reduction in low-threshold calcium current in thalamic neurons. *Ann Neurol* 1989; 25: 582-593.
- [30] Hosseini M, Ghasemzadeh Rabbardar M, Sadeghnia HR, Rakhshandeh H. Effects of different extracts of *Rosa damascena* on pentylenetetrazol-induced seizures in mice. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao* 2011; 9: 1118-1124.
- an ethanol extract of *Ruta chalepensis* L. in mice. *J Ethnopharmacol* 2006; 106: 129-135.
- [18] de Almeida ER, Rafael KR, Couto GB, Ishigami AB. Anxiolytic and anticonvulsant effects on mice of flavonoids, linalool, and alpha-tocopherol presents in the extract of leaves of *Cissus sicyoides* L. *J Biomed Biotechnol* 2009; 2009: 274740.
- [19] Sayyah M, Valizadeh J, Kamalinejad M. Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole – and maximal electroshock – induced seizures. *Phytomedicine* 2002; 9: 212-216.
- [20] Hohmann J, Redei D, Mathe I, Blunden G. Phenylpropanoid glycosides and diterpenoids from *Salvia officinalis*. *Biochem Syst Ecol* 2003; 31: 427-429.
- [21] Millet Y, Jouglard J, Steinmetz MD, Tognetti P, Joanny P, Arditti J. Toxicity of some essential plant oils. clinical and experimental study. *Clin Toxicol* 1981; 18: 1485-1498.
- [22] Girouda C, Felber M. *Salvia divinorum*: an hallucinogenic mint which might become a new recreational drug in Switzerland. *Forensic Science International*, 14rd, Switzerland 2000; P: 143-150.
- [23] Nielsen M, Frokjaer S, Braestrup C. High affinity of naturally occurring biflavonoid, amentoflavone to brain

Effects of *Salvia Sahendica* hydroalcoholic extract on PTZ-induced seizure in male mice

Hassan Azhdari-Zarmehri (Ph.D)¹, Firozeh Naderi (M.Sc)², Elaheh Erami (M.Sc)^{2,3}, Mohammad Mohammad-Zadeh (Ph.D)^{*4}

1 – Physiology & Cellular and Molecular Research Center, School of Medical Sciences, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

2 - Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

3 - Torbat-e Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat-e Heydariyeh, Iran

4 – Physiology & Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences. Sabzevar, Iran

(Received: 10 Jul 2012; Accepted: 8 Mar 2013)

Introduction: Epilepsy is one of most prevalent disorders of central nervous system that causes sudden convulsions, transient, repetitive and unpredictable seizures. It affects about half to one percent of the world population. Historically, herbs have been used to treat epilepsy. In this study, anti-convulsant effect of *Salvia Sahendica* extract was investigated in mice.

Materials and Methods: Sixty mice were randomly divided into six groups (n=10 in each group). Group one (control group) was received normal saline and another 5 groups were received 150, 300, 600, 900, 1200 mg/kg of the extract. Thirty minute after peritoneal injection of different doses of extract or saline, PTZ (85 mg/kg) were injected and they were immediately transferred to a special cage, and the seizure parameters were evaluated for 30 minutes.

Results: The injection of the extract had a dose-dependent effect on prolongation of latency to the onset of clonic and tonic-clonic seizures. The greatest effect was observed at the dose of 600 mg/kg. Tonic-clonic seizures time in the treated animals was also reduced. Additionally, it decreased the rate of mortality and the number of suddenly seizures jumping significantly.

Conclusion: The obtained result showed that the extract of *Salvia Sahendica* has anticonvulsant effects. However, more studies are required to understand its action mechanism and to identify the active components.

Keywords: Mice, Pentylentetrazole, Seizures, *Salvia sahendica*

* Corresponding author: Fax: +98 571 4445648; Tel: +98 9126048374
mohamad1353@gmail.com