Original Article

The effect of hydro-alchoholic exteract of (*Matricaria recutita* L.) on pentylenetetrazole-induced seizure and its relationship with nitric oxide in mice

Kazemi M[1], Ghavipanjeh Gh[1*], Shahaboddin ME[2], Banitaba-Bidgoli M[1]

1- Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
2- Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Disease, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received: 2018/05/31 | Accepted: 2018/07/15

Abstract:

Background: *Matricaria recutit* (MAT) has a series of flavonoid compounds with benzodiazepine-like properties. So, it may be effective in the treatment of epilepsy and seizures. This study aimed at examining the effect of intraperitoneal injection of the hydro-alcoholic extract of *Matricaria recutita* on seizures induced by pentylenetetrazole (PTZ) in mice.

Materials and Methods: In this study, 56 male mice (25-30 g) were divided into seven groups (n=8): 1-control (saline), 2-control (PTZ), 3-MAT (50mg/kg), 4-MAT (100 mg/kg), 5- MAT (200 mg/kg), 6- diazepam (1mg/kg) and 7- MAT (50 mg/kg)+diazepam (0.25 mg/kg). After 10 days of treatment in different groups, the PTZ-induced seizure threshold was assessed and nitric oxide (NOX) metabolites in the brain tissue were measured by the Greiss method.

Results: The chamomile hydro-alcoholic extract (200 mg/kg), and diazepam (1 mg/kg) significantly increased the seizure threshold ($P<0.001$). The chamomile hydro-alcoholic extract (50, and 100 mg/kg) did not show anticonvulsant activity. The concentrations of NOX in the diazepam (1 mg/kg), MAT 100 mg/kg, and MAT 200 mg/kg groups were significantly lower than those in the control (PTZ) group and co-administration of MAT (50 mg/kg) with diazepam (0.25) decreased the NOX concentration. The hydro-alcoholic extract of MAT (50 mg/kg) had no significant effect on the NOX concentration.

Conclusion: According to the results of this study, the chamomile hydro-alcoholic extract has an inhibitory effect on the PTZ-induced seizure and NOX in male mice.

Keyword: Epilepsy, Seizure, *Matricaria recutita* L., Nitric oxide, Mice

* **Corresponding Author.**
Email: Ghavipanjeh-gh@kaums.ac.ir
Tel: 0098 913 217 6920
Fax: 0098 315 554 0021

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2018; Vol. 22, No 4, Pages 346-354

Please cite this article as: KAzemi M, Ghavipanjeh Gh, Shahaboddin ME, Banitaba-Bidgoli M. The effect of hydro-alchoholic exteract of (*Matricaria recutita* L.) on pentylenetetrazole-induced seizure and its relationship with nitric oxide in mice. ***Feyz*** 2018; 22(4): 346-54.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-01-01]

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria recutita* L.) بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول و ارتباط آن با نیتریک اکساید در موش کوچک آزمایشگاهی

مریم کاظمی[۱]، غلامرضا قوی‌پنجه[۲*]، محمد اسماعیل شهاب الدین[۳]، سید مجتبی بنی‌طباء بیدگلی[۴]

خلاصه:

سابقه و هدف: بابونه (*Matricaria recutita* L.) دارای ترکیبات فلاونوئیدی با خواص شبه‌بنزودیازپینی است. لذا، ممکن است در درمان صرع و تشنج مؤثر باشد. در این مطالعه اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره هیدروالکلی بابونه بر تشنج القاء شده با پنتیلن تترازول (PTZ) در موش کوچک آزمایشگاهی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۵۶ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر با وزن ۳۰-۲۵ گرم استفاده که به ۷ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: ۱- کنترل (سالین)؛ ۲- کنترل منفی (PTZ)؛ ۳- عصاره بابونه ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم؛ ۴- عصاره بابونه ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم؛ ۵- عصاره بابونه ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم؛ ۶-دیازپام ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم؛ و ۷- عصاره بابونه (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)+دیازپام (۰/۲۵ میلی-گرم/کیلوگرم). پس از ۱۰ روز پیش‌درمان (تزریق درون‌صفاقی) در گروه‌های مختلف، آستانه تشنج القاء شده با تزریق وریدی PTZ ارزیابی شد و اندازه‌گیری متابولیت‌های نیتریک اکساید (NO_X) در بافت مغز با روش گریس انجام گرفت.

نتایج: عصاره هیدروالکلی بابونه (۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و دیازپام (۱ میلی‌گرم/کیلوگرم) به‌صورت معنی‌دار ($P<۰/۰۰۱$) آستانه تشنج را افزایش داده و دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بابونه خواص ضد تشنجی نشان ندادند. سطح NO_X در گروه دیازپام (۱ میلی‌گرم/کیلوگرم) و عصاره هیدروالکلی بابونه (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) در مقایسه با کنترل کاهش معنی‌داری داشته و همچنین در گروه ترکیبی بابونه (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)+دیازپام (۰/۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) غلظت NO_X کاهش داشت. عصاره هیدرو-الکلی بابونه (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) هیچ‌گونه اثر معنی‌داری بر غلظت NO_X نداشت.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی بابونه آلمانی اثر کاهشی بر تشنج ناشی از PTZ و غلظت NO_X دارد.

واژگان کلیدی: صرع، تشنج، بابونه آلمانی، نیتریک اکساید، موش کوچک آزمایشگاهی

دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۴، مهر و آبان ۹۷، صفحات ۳۵۴-۳۴۶

مقدمه

صرع دومین اختلال شایع بیماری‌های عصبی بعد از سکته‌های مغزی به‌شمار می‌آید. بر اساس مطالعات انجام شده، تخمین زده می‌شود که حدود ۶۵ میلیون نفر در جهان مبتلا به صرع باشند [۲،۱]. بیماری‌های صرعی در انسان ناشی از اختلالات عصبی-رفتاری پیچیده هستند که در اثر تحریک پذیری غیرطبیعی سلول‌های عصبی در مناطق مختلف مغز ایجاد می‌شوند [۳]. مکانیسم‌های متعددی سبب ایجاد تشنج در مغزهای طبیعی و صرعی می‌شود.

سه مکانیسم اصلی دخیل در ایجاد تشنج شامل کاهش مکانیسم-های مهاری مغز به‌ویژه کاهش مهار سیناپسی ناشی از گابا، افزایش تحریک سیناپسی به‌خصوص تحریک ناشی از N-methyl-D-aspartate (NMDA) و افزایش تخلیه‌های درون‌زای نورونی حاصل از افزایش جریان کلسیمی وابسته به ولتاژ می‌باشد. تظاهرات بالینی این اختلال بسته به میزان و چگونگی انتشار تشنج از فعالیت شدید تشنجی تا پدیده‌های تجربی که به آسانی قابل تشخیص نیستند، متفاوت است [۴]. مدارکی مبنی بر دخالت رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز تشنج موجود است. رادیکال‌های آزاد می‌توانند موجب تخریب غشاء و اختلال عملکرد نورون‌ها شوند. این فاکتورها از طریق افزایش سطح گلوتامات مغزی، فعال کردن گیرنده‌های NMDA و نیز تولید نیتریک اکساید (NO) روی حملات تشنجی تاثیر می‌گذارند [۵]. اگرچه نقش نیتریک اکساید در پاتوفیزیولوژی صرع نامشخص است، ولی مطالعات نشان می-دهند که نیتریک اکساید باعث از بین رفتن نورون‌ها شده، گلیاها را تکثیر می‌کند و می‌تواند در پاتوژنز صرع دخیل باشد [۵]. گزارش شده که ۴۰-۳۰ درصد بیماران مبتلا به صرع به روش‌های درمانی مقاوم بوده و یا به درمان پاسخ نمی‌دهند [۶]. علی‌رغم وجود تعداد

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[۲] استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[۳] استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[۴] مربی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**

کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

تلفن: ۰۹۱۳۲۱۷۶۹۲۰ **دورنویس:** ۰۳۱ ۵۵۵۴۰۰۲۱

پست الکترونیک: Ghavipanjeh-gh@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۱۰ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۷/۴/۲۴

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-01-01]

نسبتا زیاد داروهای ضد صرع که می‌توانند فعالیت تشنجی را تضعیف کنند، متاسفانه تاکنون دارویی که بتواند به‌دنبال صدمات CNS از ایجاد کانون تشنجی جلوگیری کند، شناخته نشده است. علاوه بر آن، مصرف داروهای شیمیایی ضد صرع با عوارض جانبی و در برخی موارد با مسمومیت دارویی همراه هستند، لذا توجه دوباره محققان به گیاهان دارویی با عارضه جانبی کمتر جهت کنترل حملات صرع معطوف شده است. برای مثال، می‌توان به گیاه بابونه اشاره کرد [۷]. تاکنون حدود ۱۳۰ گونه از بابونه شناسایی شده که در میان آنها بابونه آلمانی (*Matricaria recutita* L.) شناخته شده‌تر از بقیه است [۸]. گیاهان خانواده کاسنی (Astraceae) گیاهان علفی با برگ‌ها با شکل متنوع هستند که به‌ندرت به‌صورت درختچه می‌باشند. یکی از گونه‌های ارزشمند این خانواده بابونه آلمانی می‌باشد. از مهم‌ترین ترکیب-های این گیاه فلاونوئیدها، سزکویی‌ترپن‌های آلفا-بیزابول، کاما-زولن، فارنزن را می‌توان نام برد. گلچه‌های این گیاه حاوی لوتئولین، اپی‌ژنین و همچنین کوئرستین آزاد می‌باشد [۱۱-۹]. یافته‌های قبلی نشان داده‌اند که ترکیبات فنلی موجود در ساختار بابونه به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و از بین برنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و از تخریب کلاژن در برابر رادیکال‌های آنیون سوپراکسید حفاظت می‌نمایند [۱۲]. ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئیدها از طریق مهار سیستم سیتوکروم P450 باعث کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شوند [۱۳]. فلاونوئیدهای بابونه بر طیف وسیعی از آنزیم-های بدن پستانداران از جمله نیتریک اکسید سنتاز تاثیر می‌گذارند؛ این تاثیرات و توانایی‌های گسترده فلاونوئیدها باعث شده که آنها را تغییر دهنده‌های بیولوژیکی بنامند [۱۴]. از طرف دیگر رادیکال-های آزاد در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها از جمله صرع دخیل می-باشند و نقش نیتریک اکساید در تشنج همچنین در تشنج‌های القاء شده با پنتیلن تترازول دیده شده است [۱۵]. احتمال می‌رود عصاره بابونه به‌علت داشتن اپی‌ژنین با سیستم گابائرژیک اثرات ضد تشنجی داشته باشد [۱۶]. علی‌رغم چندین مطالعه محدود که روی اثر ضد تشنجی بابونه آلمانی انجام شده [۱۶]، تاکنون مطالعه‌ای درباره اثر ضد تشنجی بابونه و تداخل آن با سیستم نیتررژیک گزارش نشده است. باتوجه به مصرف طولانی مدت داروهای ضد تشنج و همچنین عوارض جانبی آنها این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه آلمانی بر تشنجات ناشی از پنتیلن تترازول در موش کوچک آزمایشگاهی طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی تعداد ۵۶ سر موش سوری نر نژاد NMRI (۳۰-۲۵ گرم) از مرکز تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تهیه شد. موش‌های سوری در حیوان‌خانه با درجه حرارت ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت ۵۵ درصد و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی در قفس‌های مجزا نگهداری شده و دسترسی آسان به غذای استاندارد و آب داشتند. پنتیلن تترازول (PTZ) از شرکت Sigma-Aldrich خریداری شده و به‌منظور القاء تشنج در نرمال سالین حل گردید. لازم به‌ذکر است که در این مطالعه تمام روش-های آزمایشگاهی زیر نظر کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان با کد IR.KAUMS.REC.1396.38 صورت گرفت. جهت انجام آزمایش حیوانات به طور تصادفی به ۷ گروه ۸ تایی [۱۷] تقسیم شده و پس از توزین و شماره‌گذاری به روش زیر تحت تجویز قرار گرفتند: ۱- گروه کنترل (استفاده از نرمال سالین به‌عنوان حلال عصاره و به‌مدت ۱۰روز متوالی)؛ ۲- گروه کنترل منفی که نرمال سالین به‌عنوان حلال عصاره ۴۵ دقیقه قبل از تزریق داخل وریدی PTZ دریافت کردند؛ ۳- گروه کنترل مثبت که حیوانات به‌مدت ۱۰ روز متوالی دیازپام با دوز ۱ میلی-گرم/کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی دریافت کرده و در روز آخر دیازپام ۴۵ دقیقه قبل از تست تشنج به‌حیوانات تزریق گردید. ۴، ۵ و ۶- گروه‌های تحت آزمایش که به‌ترتیب ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی-گرم/کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بابونه به مدت ۱۰ روز متوالی دریافت کرده و در روز آخر عصاره ۴۵ دقیقه قبل از تست تشنج به حیوانات تزریق گردید؛ و ۷- گروهی که دوز غیرموثر دیازپام (۰/۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) به‌همراه دوز غیرموثر عصاره (۵۰ میلی-گرم/کیلوگرم) را به‌صورت تزریق داخل صفاقی ۴۵ دقیقه قبل از تست تشنج دریافت کردند.

تهیه عصاره:

سرشاخه گل بابونه از نمونه هرباریومی موسسه جنگل‌ها و مراتع کشور با کد ۱۹۸۵۶ در فصل گل‌دهی از منطقه فندق‌لو استان اردبیل تهیه گردید. برای عصاره‌گیری بعد از آسیاب کردن گیاه خشک شده آن را در داخل ظروف مخصوص ریخته و در ۳۰۰ گرم/لیتر اتانول ۸۰ درصد به‌مدت ۴۸ ساعت نگه داشته شد. پس از فیلتر کردن، اتانول از محلول به‌وسیله دستگاه روتاری برداشته شد. برای تهیه دوزهای مورد نظر، عصاره به‌دست آمده در نرمال سالین حل گردید و سپس مورد استفاده قرار گرفت [۱۸].

ایجاد تشنج با انفوزیون پنتیلن تترازول:

ابتدا حیوانات طی ۱۰ روز متوالی تحت پیش‌درمان با تزریق داخل صفاقی داروها قرار گرفتند. سپس، در روز دهم

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-01-01]

داروی PTZ (۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) در نرمال سالین حل شده و با سرعت ثابت ۰/۵ میلی‌لیتر/دقیقه توسط پمپ تزریق به داخل یکی از وریدهای دمی حیوان تزریق شد. به‌منظور تعیین آستانه تشنج، حیوان بعد از توزین داخل مهار کننده قرار گرفت و داروی پنتیلن تترازول به وسیله یک لوله پلی‌اتیلن که از یک سو به سرنگ انسولین حاوی PTZ و از سوی دیگر به سوزن شماره ۳۰ دندانپزشکی متصل بود تزریق گردید. انفوزیون PTZ تا زمان بروز تشنج میوکلونیک ادامه یافت. حیوان در طول مدت تزریق تحت نظر بوده و زمان بین شروع تزریق تا شروع تشنج میوکلونیک بر حسب دقیقه ثبت شد. زمان ثبت شده برای هر مرحله با استفاده از فرمول زیر به دوز آستانه تشنج تبدیل شد [۱۹]:

$$\text{دوز آستانه تشنج}\left(\frac{mg}{kg}\right) = \frac{\text{زمان ثبت شده}\,(min) * \text{سرعت تزریق}\left(\frac{ml}{min}\right) * \text{غلظت دارو}\left(\frac{mg}{ml}\right)}{\text{وزن}\,(kg)}$$

سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی:

به‌منظور سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی، پس از ثبت مشاهدات رفتاری تمامی حیوانات در همه گروه‌ها با استفاده از اتر بیهوش شده و پس از قطع سر، مغز آنها به‌سرعت خارج شد. سپس، مغز حیوانات با بافر فسفات سالین (PBS) هموژنیزه شد. در مرحله بعد محلول هموژنیزه حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، محلول شفاف رویی جدا گردیده، بخش زیرین رسوب کرده را دور ریخته و محلول شفاف رویی برای سنجش استفاده گردید. سنجش پروتئین بافت مغزی با روش بردفورد و سنجش میزان نیتریک اکساید به روش گریس انجام شد.

سنجش میزان پروتئین بافت مغز:

جهت استاندارد سازی اندازه‌گیری غلظت NO سنجش پروتئین بافت مغزی با روش بردفورد انجام گرفت [۲۰] و در این مطالعه میزان نیتریک اکساید به ازای میلی‌گرم پروتئین موجود در بافت گزارش شد. در این روش جهت تهیه معرف بردفورد ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی‌بلو G-250 با ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد مخلوط می‌شود. برای این روش از آلبومین سرم گاوی جهت تهیه استانداردها استفاده گردید. حجم مناسبی از عصاره بافتی را به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده و ۳ میلی‌لیتر از محلول بردفورد به آن اضافه نموده و به‌مدت دقیقه ۱۰ انکوبه گردید. سپس، در طول موج ۵۹۵ نانومتر جذب قرائت شد. غلظت پروتئین با رسم استانداردهای مورد نظر به‌دست آمد.

اندازه‌گیری متابولیت‌های نیتریک اکساید در بافت مغز:

سنجش غلظت نیتریک اکساید بافت مغزی بر اساس واکنش گریس انجام شد [۲۱]. به‌علت اینکه سنجش مستقیم این فاکتور در نمونه‌های بیولوژیکی مشکل است، به همین علت مقدار نیتریت (NO_2^-) و نیترات (NO_3) به‌عنوان شاخصی برای تولید نیتریک اکساید مورد سنجش قرار می‌گیرد [۲۱]. محلول کاری گریس حاوی فسفریک اسید ۵ درصد حاوی NEDD (N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride) و سولفانیل آمید است. پروتئین‌های موجود در نمونه با اضافه کردن استونیتریل با نسبت ۲ (استونیتریل) به ۱ (پلاسما یا بافت هموژنه) و سانتریفوژ کردن در ۱۰۰۰۰ g به‌مدت ۵ دقیقه رسوب داده شدند. محلول پروتئین‌زدایی شده برای انجام آزمایش استفاده گردید.

روش‌های آماری:

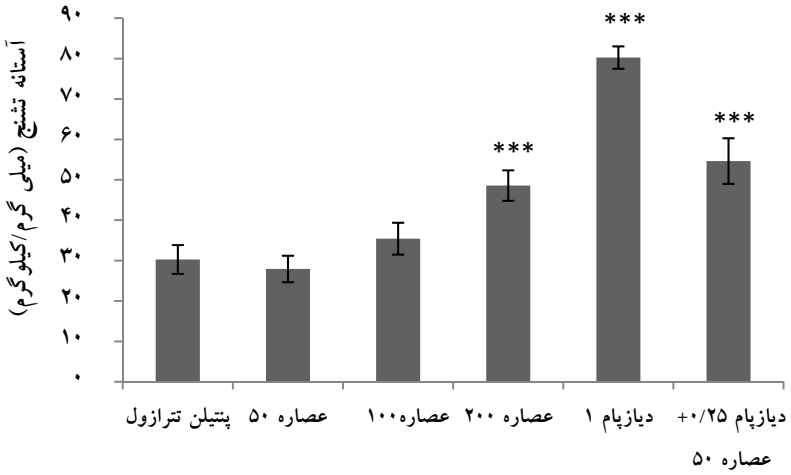
نتایج به‌دست آمده به کمک نرم‌افزار SPSS و انجام آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey مورد بررسی قرار گرفتند. سطح معنی‌داری بین گروه‌ها (P<۰/۰۵) درنظر گرفته شد. نتایج این مطالعه به‌صورت میانگین± خطای معیار در نمودارها نشان داده شده است.

نتایج

اثر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی بابونه آلمانی بر دوز آستانه تشنج:

آستانه تشنج در گروه دریافت‌کننده PTZ ۳۰/۲۸±۱/۳۴ میلی‌گرم/کیلوگرم و در گروه‌های بابونه (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) به‌ترتیب ۲۷/۹۳±۱/۳۵، ۳۲/۴۳±۱/۴۸ و ۴۸/۵۷±۱/۵۴ میلی‌گرم/کیلوگرم و در گروه دریافت کننده دیازپام ۸۲/۶۸±۰/۴۴ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌دست آمد. آستانه تشنج در گروه دریافت کننده ترکیب دوز غیرموثر دیازپام و دوز غیرموثر عصاره بابونه ۵۴/۶۴±۲/۲۸ میلی‌گرم/کیلوگرم مشاهده شد که نشان می‌دهد افزایش معنی‌داری در آستانه تشنج گروه دریافت کننده دوز غیرموثر عصاره بابونه و دوز غیرموثر دیازپام نسبت به گروه PTZ به‌وجود آمده است. نتایج این مطالعه نشان داد که آستانه تشنج در گروه‌های دریافت کننده بابونه با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و دیازپام ۱ میلی‌گرم/ کیلوگرم و همچنین گروه دریافت کننده دوز غیرموثر عصاره بابونه و دوز غیرموثر دیازپام نسبت به گروه PTZ افزایش معنی‌دار داشته است (P<۰/۰۰۱). آستانه تشنج در گروه بابونه با دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نسبت به گروه PTZ تغییر معنی‌داری نشان نداد (نمودار شماره ۱).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-01-01]



نمودار شماره ۱: اثر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی بابونه آلمانی و دیازپام بر دوز آستانه تشنج در مدل تزریق داخل وریدی پنتیلن تترازول (PTZ) (Mean± SEM, n=8).

*** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار گروه‌ها با $P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه PTZ می‌باشد.

اثر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی بابونه آلمانی بر میزان نیتریک اکساید بافت مغز:

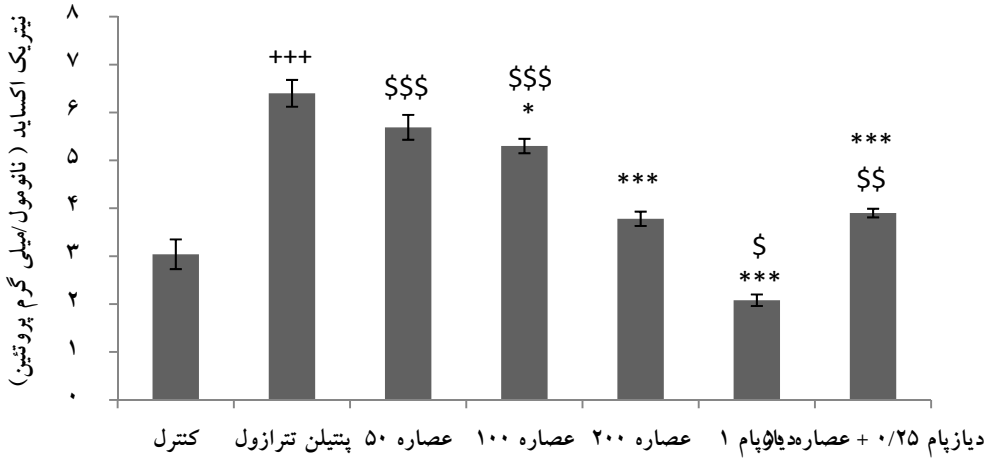
سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در گروه کنترل ۳/۰۴±۰/۳۱ نانومول/میلی‌گرم پروتئین بود و در گروه دریافت‌کننده پنتیلن تترازل به ۶/۴۰۹±۰/۲۸ نانومول/میلی‌گرم پروتئین افزایش یافت که در مقایسه با گروه کنترل این افزایش معنی‌دار بود ($P<۰/۰۰۱$). سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در نمونه‌های هموژنیزه بافت مغز در گروه‌های دریافت کننده عصاره بابونه با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌ترتیب ۳/۷۸±۰/۱۸ و ۵/۳۰±۰/۱۵ نانومول/میلی‌گرم پروتئین بود و نسبت به گروه دریافت کننده پنتیلن تترازل کاهش یافت که این کاهش در گروه بابونه با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم با $P<۰/۰۵$ و برای عصاره با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم با $P<۰/۰۰۱$ معنی‌دار بود. میزان متابولیت‌های NO در نمونه‌های هموژنیزه بافت مغز در گروه‌های دیازپام با دوزهای ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان و گروه دریافت کننده ترکیب دیازپام و بابونه به‌ترتیب ۴/۲۸±۰/۰۹ و ۲/۸±۰/۱۲ نانومول/میلی‌گرم پروتئین بود که در گروه‌های دریافت کننده دیازپام ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم و ترکیب دوز غیرموثر بابونه و دوز غیرموثر دیازپام در مقایسه با گروه دریافت کننده پنتیلن تترازل کاهش معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$). میزان متابولیت‌های NO در نمونه‌های هموژنیزه بافت مغز در گروه دیازپام با دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم با $P<۰/۰۰۱$ پایین‌تر از میزان متابولیت‌های NO در نمونه‌های هموژنیزه بافت مغز در گروه‌های دریافت کننده عصاره بابونه با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ و ترکیب دیازپام و بابونه بود (نمودار شماره ۲).

بحث

گیاهان دارویی به‌دلیل کاربرد درمانی آن‌ها از گذشته دور مورد توجه ویژه مردم بوده‌اند و اثرات درمانی آن‌ها طی سال-های متمادی به اثبات رسیده است [۲۲]. گزارشاتی مبنی بر اثرات ضد صرعی بابونه وجود دارد که هم‌راستا با مطالعه حاضر می-باشد. برای مثال، در مطالعه صوفی آبادی و همکاران اثر تزریق درون‌صفاقی دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بابونه بر تشنج در موش‌های صحرایی نر بررسی شده است. طبق نتایج این مطالعه تجویز درون‌صفاقی عصاره هیدرو-الکلی بابونه می‌تواند به‌طور مؤثری تشنج القاء شده با پنتیل - تترازول را کاهش دهد. همچنین، در مطالعه ارضی و همکاران تاثیر عصاره مذکور بر تشنجات ناشی از نیکوتین بررسی شده و نشان داده شده است که بابونه روی فاکتورهای شروع تشنج، دوام تشنج و شدت آن اثر مهاری داشته است [۲۳]. عصاره بابونه حاوی ۱۲۰ نوع ترکیب شیمیایی است که از جمله مهم‌ترین ترکیبات فعال موجود آن می‌توان به کامازولین، اپیژنین و بیسابولول اشاره نمود [۲۴]. در این مطالعه تأثیر پیش‌درمانی سه دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه در درمان تشنج ناشی از القاء تزریق PTZ بررسی شد. براساس نتایج به‌دست آمده دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستانه تشنج را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. از دیازپام به‌عنوان گروه کنترل مثبت استفاده شد که با دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم اثر قوی‌تری در مهار تشنج نسبت به عصاره داشت. دیازپام آگونیست گیرنده‌های بنزودیازپینی بوده و با اثر روی گیرنده‌های گابا و در نهایت ورود یون کلر به نورون‌ها اثر ضد تشنجی خود را اعمال می‌کند [۲۵]. دیازپام با افزایش

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-01-01]

عملکرد گابا آستانه تشنج را در گروه صرعی شده با PTZ افزایش داده و اثر ضد تشنجی دارد. PTZ کانال‌های کلسیمی و سدیمی را تحت تاثیر قرار داده و ذخایر یون‌های کلسیمی درون سلولی را آزاد کرده و همچنین PTZ جریان کلری القا شده با نوروترانسمیتر را کاهش می‌دهد [۲۷،۲۶].



نمودار شماره ۲- اثر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی بابونه آلمانی بر میزان نیتریک اکساید در بافت مغز
(Mean ±SEM, n=8)

$$$ نشان دهنده تفاوت معنی‌دار گروه‌ها با $P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

*** نشان دهنده تفاوت معنی‌دار گروه‌ها با $P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه PTZ می‌باشد.

+++ نشان دهنده تفاوت معنی‌دار گروه PTZ با $P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

$ نشان دهنده تفاوت معنی‌دار گروه‌ها با $P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار گروه‌ها با $P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه PTZ می‌باشد.

این احتمال وجود دارد که عصاره بابونه از طریق گیرنده‌های گابا موجب افزایش ورود کلر به درون نورون‌ها و هایپرپلاریزه شدن آن‌ها گردیده باشد که شاید مکانیسم احتمالی اثر ضد تشنجی بابونه برای مقابله با تشنجات ناشی از PTZ باشد. گیرنده $GABA_A$ گیرنده ناقل عصبی مهاری برجسته در سیستم اعصاب مرکزی مهره‌داران است. گیرنده‌های $GABA_A$ با کانال‌های کلری مرتبط هستند و در صورت فعال شدن این کانال‌ها، رسیدن پتانسیل غشاء به پتانسیل آستانه را که برای تولید پتانسیل عمل ضروری است مشکل می‌کنند [۲۸]. مهار گیرنده‌های گابا و یا تحریک کانال‌های سدیمی، کانال‌های کلسیمی و گیرنده گلوتامات در سیستم اعصاب مرکزی منجر به تحریک نورون‌ها و ایجاد تشنج می‌شود. داروهای ضد صرع سیستم‌های تحریکی مغز (کانال‌های سدیمی، کانال‌های کلسیمی و گیرنده گلوتامات) را مهار کرده و سیستم‌های مهاری (گیرنده گابا) را فعال می‌کنند [۴]. مطالعات نشان داده است که اپیژنین موجود در عصاره بابونه می‌تواند اثراتی مشابه گابا داشته و با باز کردن کانال‌های کلری و هایپرپلاریزه کردن نورون‌ها آستانه تشنج را افزایش دهد [۲۹]. بنابراین، ممکن است یکی از مکانیسم‌های اصلی درگیر در بروز اثر ضد تشنجی بابونه تحریک سیستم گابا و گیرنده‌های بنزودیازپینی باشد [۳۰]. نشان داده شده است که فلاونوییدهای موجود در بابونه لیگاندهایی برای گیرنده‌های گابا در سیستم اعصاب مرکزی هستند و علاوه بر این، آن‌ها به‌عنوان مولکول‌های شبه بنزودیازپینی عمل می‌کنند [۳۱،۳۲]. تحقیقات نشان داده است که اپیژنین به گیرنده‌های بنزودیازپینی متصل شده و احتمالا ورود کلر را از طریق کانال‌های کلری تسهیل کرده و باعث هیپرپلاریزاسیون سلول می‌شود [۱۴، ۱۵]. با این‌حال، در یکی از مطالعات بیان شده است که تمایل اپیژنین به گیرنده‌های بنزودیازپینی کم بوده و اثر آن به‌وسیله آنتاگونیست ویژه گیرنده بنزودیازپینی بلوکه نمی‌شود [۳۳]. بابونه کانال‌های پتاسیمی را فعال کرده و کانال‌های کلسیمی را غیر فعال می‌کند و ممکن است این امر موجب اثرات آرام‌بخشی، خواب‌آوری، ضد تشنجی و ضد اضطرابی این دارو باشد. ازآنجایی‌که PTZ باعث افزایش مقدار کلسیم داخل سلولی و کاهش ورود یون کلر به درون سلول می‌شود، می‌تواند باعث تشنج شود. این احتمال وجود دارد که عصاره بابونه با مهار کانال‌های کلسیمی و

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-01-01]

کاهش سطح آن در نورون‌ها موجب افزایش آستانه تشنج در گروه عصاره ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم شده باشد. این موضوع اساس مولکولی اثر تضعیفی این گیاه را روی فعالیت CNS توجیه می‌کند. این شواهد فرضیه مؤثر بودن گیاه بابونه را بر تشنج تقویت می‌کند. مطالعات نشان داده است که رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز صرع دخالت دارند و این فاکتورها از طریق افزایش سطح گلوتامات مغزی، فعال کردن گیرنده‌های NMDA و نیز تولید نیتریک اکساید روی حملات تشنجی تاثیر می‌گذارند [۵]. فلاونوئیدها آنتی‌اکسیدان‌های موثری در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد هستند و می‌توانند رادیکال‌های آزاد را پاک‌سازی کنند. ترکیبات فنلی می‌توانند یک اتم هیدروژن را از گروه OH آروماتیک به رادیکال آزاد داده و آن را خنثی کنند [۳۷]. بخشی از اثرات ضد تشنجی بابونه به عوامل فنلی موجود در آن نسبت داده می‌شود [۲۹]. NO در تنظیم متابولیسم پایه دوپامین-گلوتامات و گابا ایفای نقش می‌کند؛ پس NO می‌تواند نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی صرع و افسردگی داشته باشد [۳۴]. NO در شکل پذیری سیناپسی، تنظیم تحریک پذیری نورونی و فعالیت صرعی نقش دارد. نیتریک اکسید در نورون‌ها به‌وسیله آنزیم نیتریک اکساید سینتاز نورونی سنتز می‌شود. در سیستم‌های بیولوژیکی نیتریک اکسید به نیتریت و نیترات تجزیه می‌شود. در سیستم عصبی مرکزی مقادیر زیاد نیتریک اکساید تولید شده به‌وسیله نورون‌ها تشنجات لیمبیک ایجاد می‌کند [۵]. نقش و عملکرد نیتریک اکساید در ایجاد یا مهار تشنج به‌طور کامل روشن نشده است. در مطالعه حاضر تزریق PTZ سبب افزایش سطح متابولیت‌های NO در بافت مغز شد. گونه‌های واکنشی نیتروژن (RNS) به‌ویژه NO مازاد در چندین مدل حیوانی تشنجی نشان داده شده است. وجود نیتریک اکساید مازاد در مغز ممکن است سبب آسیب سلول‌های عصبی شود. مقادیر زیاد نیتریک اکساید به‌دنبال تحریک گیرنده NMDA در مغز تولید می‌شود [۳۵]. در مطالعه Han و همکاران دوزهای تکراری PTZ باعث افزایش مقادیر نیتریت‌های حاصل از NO در مقایسه با گروه‌های درمان شده با نیتروایندازول شد [۳۶]. بعضی مطالعات نشان می‌دهند که NO به‌عنوان ماده محرک نورون‌ها عمل می‌کند و بنابراین در ایجاد تشنج نقش مهمی دارد؛ درحالی‌که مطالعات دیگر NO را یک ماده ضد تشنج می‌دانند که در حفاظت مغز در برابر آسیب‌های تشنج ایفای نقش می‌کند [۳۷]. فلاونوئیدها از مواد مؤثره تشکیل‌دهنده گل‌های بابونه و از جمله مهم‌ترین ترکیب‌های دارویی هستند [۳۸]. ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئیدها از طریق مهار سیستم سیتوکروم P450 باعث کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شود. فلاونوئیدهای بابونه بر طیف وسیعی از آنزیم‌های بدن پستانداران از جمله نیتریک اکسید سنتاز تاثیر می‌گذارند و از طرفی رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها از جمله صرع دخیل می‌باشند. نقش نیتریک اکساید در تشنج‌های القاء شده با پنتیلن تترازول اثبات شده است. بر این اساس احتمال می‌رود که شاید بابونه با دخالت در مسیر سنتز یا عمل نیتریک اکساید موجب کاهش شدت تشنجات ناشی از PTZ شده است. باتوجه به استفاده از عصاره تام گیاه بابونه در این پژوهش و ترکیبات متفاوتی که در آن وجود دارد، تعیین دقیق این که کدام‌یک از ترکیبات موجود در عصاره مسئول اثر ضد تشنجی آن بوده ضرورت دارد. پیشینه مطالعاتی این گیاه نشان می‌دهد که کارهای تحقیقاتی چندانی روی آن صورت نگرفته است. بنابراین جهت روشن شدن بیشتر موضوع پیشنهاد می‌شود اثر عصاره گیاه بابونه به‌همراه آنتاگونیست گیرنده‌های گابائرژیک در موش‌های نر و ماده بررسی و مقایسه شود.

نتیجه‌گیری

مصرف عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه (۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، دیازپام ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم و ترکیب دوز غیرموثر بابونه و دوز غیرموثر دیازپام توانست سطح آستانه تشنج ناشی از تزریق حاد PTZ را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی به‌طور معنی‌داری افزایش دهد. همچنین، مصرف عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و دیازپام ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم و نیز ترکیب دوز غیرموثر بابونه و دوز غیرموثر دیازپام توانست میزان NO را در مغز موش‌های مبتلا به ضایعه تشنجی به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. این نتیجه مؤید اثرات ضد تشنجی مصرف این گیاه در طب سنّتی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی شماره ۹۶۳۸ مربوط به پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم مریم کاظمی می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی کاشان اجرا شده است. بدین‌وسیله، نویسندگان از کلیه کسانی که در گردآوری این پژوهش همکاری و مساعدت نمودند، کمال سپاسگزاری را دارند.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-01-01]

References:

[1] Sander JW. The epidemiology of epilepsy revisited. ***Curr Opin Neurol*** 2003; 16(2): 165-70.

[2] Thurman DJ, Beghi E, Begley CE, Berg AT, Buchhalter JR, Ding D, et al. Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy. ***Epilepsia*** 2011; 52 Suppl 7: 2-26.

[3] Salmani ME, Mirnajafizadeh J, Fathollahi Y. Offsetting of aberrations associated with seizure proneness in rat hippocampus area CA1 by theta pulse stimulation–induced activity pattern. ***Neuroscience*** 2007; 149(3): 518-26.

[4] Fauci EB, Isselbacher K, Wilson J, Martin J, Kasper D, Hauser S, Longo D. Harrison's Principles of Internal Medicine 14th ed. 1998.

[5] Reid CA, Jackson GD, Berkovic SF, Petrou S. New therapeutic opportunities in epilepsy: a genetic perspective. ***Pharmacol Ther*** 2010; 128(2): 274-80.

[6] Axel B, Gisela G, Mathias B. Anti epileptic drugs their effects on kindled siezure and kindling induced learning impairment. ***Pharm Biochem Behav*** 1995; 52(3): 453-9.

[7] Miraj S, Alesaeidi S. A systematic review study of therapeutic effects of Matricaria recuitta chamomile (chamomile). ***Electron Physician*** 2016; 8(9):-3024-31.

[8] Jahan M, Koocheki A. Effect of organic production of german chamomile (Maricaria chamomilla L.) on it's chemical composition. ***In Agronomy Horticulture*** 2004.

[9] Raskin I, Ribnicky DM, Komarnytsky S, Ilic N, Poulev A, Borisjuk N, et al. Plants and human health in the twenty-first century. ***Trends Biotechnol*** 2002; 20(12): 522-31.

[10] Ganzera M, Schneider P, Stuppner H. Inhibitory effects of the essential oil of chamomile (Matricaria recutita L.) and its major constituents on human cytochrome P450 enzymes. ***Life Sci*** 2006; 78(8): 856-61.

[11] Srivastava JK, Pandey M, Gupta S. Chamomile, a novel and selective COX-2 inhibitor with anti-inflammatory activity. ***Life Sci*** 2009; 85(19-20): 663-9.

[12] Kováčik J, Klejdus B, Bačkor M. Nitric oxide signals ROS scavenger-mediated enhancement of PAL activity in nitrogen-deficient Matricaria chamomilla roots: side effects of scavengers. ***Free Radical Biol Med*** 2009; 46(12): 1686-93.

[13] Cordova CAS, Siqueira IR, Netto CA, Yunes RA, Volpato AM, Filho VC, et al. Protective properties of butanolic extract of the Calendula officinalis L.(marigold) against lipid peroxidation of rat liver microsomes and action as free radical scavenger. ***Redox Report*** 2002; 7(2): 95-102.

[14] Agullo G, Gamet-Payrastre L, Fernandez Y, Anciaux N, Demigne C, Remesy C. Comparative effects of flavonoids on the growth, viability and metabolism of a colonic adenocarcinoma cell line (HT29 cells). ***Cancer Lett*** 1996; 105(1): 61-70.

[15] Osonoe K, Mori N, Suzuki K, Osonoe M. Antiepileptic effects of inhibitors of nitric oxide synthase examined in pentylenetetrazol-induced seizures in rats. ***Brain Res*** 1994; 663(2): 338-40.

[16] Heidari MR, Dadollahi Z, Mehrabani M, Mehrabi H, Pourzadeh-Hosseini M, Behravan E, et al. Study of Antiseizure Effects of Matricaria recutita Extract in Mice. ***An NY Acad Sci*** 2009; 1171(1): 300-4.

[17] Heydari A, Norouzzadeh A, Khoshbaten A, Asgari A, Ghasemi A, Najafi S, et al. Effects of short-term and subchronic lead poisoning on nitric oxide metabolites and vascular responsiveness in rat. ***Toxicol Lett*** 2006; 166(1): 88-94.

[18] Karbalay-Doust S, A Noorafshan, F Dehghani, MR Panjehshahin, A Monabati. Effects of Hydroalcoholic Extract of Matricaria chamomilla on Serum Testosterone and Estradiol Levels, Spermatozoon Quality, and Tail Length in Rat. ***Iran J Med Sci*** 2015; 35(2): 122-8.

[19] Chen HH, Chan MH. Developmental lead exposure diffrentially alters the susceptibility to chemocunvulsants in rat. ***Toxicology*** 2002; 173(3): 249-57.

[20] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. ***Anal Biochemistry*** 1976; 72(1): 248-54.

[21] Sun J, Zhang X, Broderick M, Fein H. Measurement of Nitric Oxide Production in Biological Systems by Using Griess Reaction Assay. ***Sensors*** 2003; 3(8): 276.

[22] Van Vuuren SF, Suliman S, Viljoen AM. The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. ***Lett Appl Microbiol*** 2009; 48(4): 440-6.

[23] 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*** 2004; 6(2): 12-7.

[24] Mosbofuaak MJ. Effect of organic production of german chamomile (Maricaria chamomilla L.) on it's chemical composition. ***Pajouhesh Sazandegi*** 2004(61): 87-95.

[25] Shih JJ, Ochoa JG. A systematic review of Antiepileptice drugs initiation and withdrawal. ***Neurologist*** 2009; 15(3): 122-31.

[26] Chen L, Chan YS, Yung WH. GABA-B receptor activation in the rat globus pallidus potently suppresses pentylenetetrazol-induced tonic seizures. ***J Biomed Sci*** 2004; 11(4): 457-64.

[27] Erdogan F, Golgeli A, Arman F, Ersoy AO. The effects of pentylenetetrazole-induced status epilepticus on behavior, emotional memory, and learning in rats. ***Epilepsy Behav*** 2004; 5(3): 388-93.

[28] Stafstrom CE. Epilepsy: A Review of Selected Clinical Syndromes and Advances in Basic Science.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-01-01]

J Cerebral Blood Flow Metabol 2006; 26(8): 983-1004.
[29] Tsang SY, Xue H. Development of Effective Therapeutics Targeting the GABAA Receptor: Naturally Occurring Alternatives. ***Curr Pharm Des*** 2004; 10(9): 1035-44.
[30] Lepley DM, Li B, Birt DF, Pelling JC. The chemopreventive flavonoid apigenin induces G2/M arrest in keratinocytes. ***Carcinogenesis*** 1996; 17(11): 2367-75.
[31] Fernández SP, Wasowski C, Loscalzo LM, Granger RE, Johnston GAR, Paladini AC, et al. Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides. ***Eur J Pharmacol*** 2006; 539(3): 168-76.
[32] Medina JH, Viola H, Wolfman C, Marder M, Wasowski C, Calvo D, et al. Overview--flavonoids: a new family of benzodiazepine receptor ligands. ***Neurochem Res*** 1997; 22(4): 419-25.
[33] Avallone R, Zanoli P, Puia G, Kleinschnitz M, Schreier P, Baraldi M. Pharmacological profile of apigenine, a flavonoid isolated from matricaria chamomilla. ***Biochem Pharmacol*** 2000; 59(11): 1387-94.
[34] Dhir A, Kulkarni SK. Nitric oxide and major depression. ***Nitric Oxide*** 2011; 24(3): 125-31.
[35] Garthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. ***Trends Neurosci*** 1991; 14(2): 60-7.
[36] Han D, Yamada K, Senzaki K, Xiong H, Nawa H, Nabeshima T. Involvement of nitric oxide in pentylenetetrazole-induced kindling in rats. ***J Neurochem*** 2000; 74(2): 792-8.
[37] Zandieh A, Maleki F, Hajimirzabeigi A, Zandieh B, Khalilzadeh O, Dehpour AR. Anticonvulsant effect of celecoxib on pentylenetetrazole-induced convulsion: Modulation by NO pathway. ***Act Neurobiol Exp*** 2010; 70(4): 390-7.
[38] Švehlíková V, Bennett RN, Mellon FA, Needs PW, Piacente S, Kroon PA, et al. Isolation, identification and stability of acylated derivatives of apigenin 7-O-glucoside from chamomile (Chamomilla recutita [L.] Rauschert). ***Phytochemistry*** 2004; 65(16): 2323-32.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-01-01]