

بررسی اثرات ضد تشنجی داروی پاسی پی (*Pasipay*) (تهیه شده از عصاره گل ساعتی) به روش پنتیلن تترازول در موش

شوان شریعتی‌راد^۱، مرجان نصیری اصل^{۲*}، فرزانه زمان سلطانی^۳

۱- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۲- استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

۳- استادیار، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

*آدرس مکاتبه: قزوین، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

صندوق پستی: ۳۴۱۱۹۷-۵۹۸۱، تلفن: ۶-۳۳۳۶۰۰۱ (۰۲۸۱)، نمابر: ۳۳۲۴۹۴۰ (۰۲۸۱)

پست الکترونیک: marjannassiriaslm@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۴/۱۱/۱۹

تاریخ تصویب: ۸۵/۱۱/۲۵

چکیده

مقدمه: تاکنون اثرات ضد اضطرابی و آرام بخشی گیاه گل ساعتی بر روی انسان مشخص شده است.

هدف: در این تحقیق اثرات ضد تشنجی عصاره هیدروالکلی گیاه *Passiflora* بررسی شد که تحت عنوان تجاری داروی *Pasipay* در بازار موجود است.

روش بررسی: در این بررسی از آزمون تشنجی پنتیلن تترازول استفاده شد. پاسی پی، دیازپام و نرمال سالین به صورت داخل صفاقی و به ترتیب با دوزهای (۰/۴ - ۰/۰۵) mg/kg و (۱ - ۰/۵) mg/kg و (۱۰ ml/kg) به موش‌ها تزریق شد و پس از ۳۰ دقیقه، پنتیلن تترازول (۹۰ mg/kg) به داخل صفاق تزریق گشت. در بررسی مکانیسم اثر این دارو نیز از فلومازنیل (۲ mg/kg) و نالوکسون (۵ mg/kg) استفاده شد.

نتایج: در این آزمون ED_{50} پاسی پی (۰/۴۰۸، ۰/۱۱۹ CL: ۹۵ درصد) به دست آمد. پاسی پی در دوز ۰/۴ mg/kg به صورت معنی‌داری موجب تاخیر در زمان شروع تشنج و مدت زمان تشنج کلونیک در مقایسه با کنترل شد ($p < ۰/۰۰۱$). درصد محافظت از مرگ و میر و محافظت از تشنج در این دوز ۱۰۰ درصد به دست آمد. تجویز فلومازنیل و نالوکسون قبل از پاسی پی توانست اثرات این دارو را از نظر زمان شروع تشنج و مدت زمان تشنج کلونیک را خنثی نماید. نتیجه‌گیری: در رابطه با اثرات ضد تشنجی پاسی پی این احتمال وجود دارد که این دارو بتواند در درمان صرع کوچک سودمند باشد و احتمالاً بخشی از اثرات آن به تاثیر بر سیستم گابا آرژیک و اپیویدی می‌باشد.

گل واژگان: گل ساعتی، پاسی پی، اثرات ضد تشنجی، پنتیلن تترازول



مقدمه

خانواده Passiflora شامل ۵۰۰ گونه است که غالباً در مناطق گرم و حاره‌ای یافت می‌شوند. نام *Passiflora* بر گرفته از کلمه لاتین "Passio" است که نخستین بار توسط کاشفان اسپانیایی در سال ۱۵۲۹ به عنوان نمادی از «مصائب مسیح» توصیف گردید [۱، ۲]. این گیاه به طور گسترده‌ای در طب سنتی هند شرقی، مکزیک، هلند، آمریکای جنوبی، ایتالیا و آرژانتین برای مداوای برونشیت، آسم، سیاه سرفه، پنومونی و بیخوابی مصرف داشته و همچنین دارای خواص ضد اضطرابی، آرام‌بخشی، ضد اسپاسمی و اثرات ضد میکروبی است که تاکنون شناخته شده‌اند [۲].

گونه‌ای از گل ساعتی^۱ بیش از همه در اروپا محبوب بوده و در طب هومیوپاتی در درمان بیخوابی و اضطراب کاربرد دارد. اروپایی‌ها از اثرات بی‌حس‌کنندگی، آرام‌بخشی، ضد اسپاسمی، ضد آسمی و ضد انگلی آن آگاه بوده و از آن در درمان صرع، سایکوز، نورالژی، دیسمنوره، اسهال، سوختگی و هموروید استفاده می‌کردند [۲]. این گیاه حاوی موادی چون آلکالوئیدها، فنول‌ها، گلیکوزیل فلاونوئیدها و ترکیبات سیانوزنیک است [۲]. در پژوهش‌های متفاوتی که بر روی حیوانات آزمایشگاهی و کارآزمایی‌های بالینی صورت گرفته، در درمان اضطراب [۳، ۴]، بیخوابی [۵]، ADHD [۶]، بیماری فشار خون [۷]، سرطان [۸] و افزایش میل جنسی [۹، ۱] کاربرد داشته است. با توجه به اثرات گیاه گل ساعتی بر روی سیستم عصبی، در این تحقیق اثرات ضد تشنجی آن را در موش بررسی کردیم.

مواد و روش‌ها

حیوان

در این بررسی از موش نر BALB/c که از انستیتو رازی تهیه شده بود استفاده کردیم. این حیوانات در سیکل روشنایی / تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت در دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد با

^۱ *Passiflora incarnata*

دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری گردیدند.

مواد

در این بررسی از پودر پنتیلین تترازول (Sigma)، قطره پاسی پی (ایران داروک)، آمپول دیازپام (۲ mg/۱۰ ml) (شیمی دارو)، آمپول نالوکسون (۰/۴ mg/۱ ml) (تولید دارو) و آمپول فلومازنیل (۰/۵ mg/۵ ml) (Roche) استفاده گردید و پودرها در محلول نرمال سالین حل شد و کلیه تزریقات نیز به روش داخل صفاقی انجام شد.

روش کار

آزمون تشنجی پنتیلین تترازول

برای این منظور ۱۱ گروه ۱۰ تایی حیوان انتخاب شد. چهار گروه پاسی پی با دوزهای مختلف را دریافت کردند، به گونه‌ای که دوزهای ۰/۴ mg/kg، ۰/۲، ۰/۱، ۰/۰۵ به صورت داخل صفاقی نیم ساعت قبل از تجویز پنتیلین تترازول (۹۰ mg/kg) به موش‌ها تزریق شد. به دو گروه از حیوانات به عنوان کنترل مثبت، دیازپام با دوزهای ۱ mg/kg، ۰/۵ تزریق شد. به یک گروه نیز به عنوان کنترل منفی، نرمال سالین تزریق گردید. یک گروه جهت تزریق پاسی پی و فلومازنیل انتخاب شد و ۵ دقیقه قبل از تجویز پاسی پی، فلومازنیل با دوز ۲ mg/kg تزریق شد. یک گروه جهت تزریق دیازپام و فلومازنیل انتخاب شد و ۵ دقیقه قبل از تجویز دیازپام به آن‌ها فلومازنیل با دوز ۲ mg/kg تزریق شد. یک گروه جهت تزریق نالوکسون و پاسی پی انتخاب شد و ۵ دقیقه قبل از تجویز پاسی پی، به آن‌ها نالوکسون با دوز ۵ mg/kg تزریق گشت. پس از تزریق پنتیلین تترازول به صورت داخل صفاقی، زمان شروع تشنج تونیک - کلونیک، مدت زمان تشنج، درصد محافظت از تشنج و درصد محافظت از مرگ و میر گزارش شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای انجام آزمون‌های آماری از برنامه کامپیوتری Instat و برای تعیین ED₅₀ (دوزی از دارو که در ۵۰ درصد از حیوانات



اثر ضد تشنجی داشته باشد) از برنامه آماری Litchfield-Wilcoxon با نرم افزار Pharmacologic Calculation System (PCS) استفاده شد.

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد از میانگین برای هر گروه آزمایشی گزارش شد. سپس به منظور بررسی وجود و یا عدم وجود اختلاف بین میانگین بیش از دو گروه، از آزمون آنالیز واریانس ANOVA و به دنبال آن، آزمون Tukey-Kramer استفاده شد. نتایجی که $p < 0/05$ بود، به عنوان نتایج معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در آزمون پنتیلین ترازول ED_{50} پاسی پی (۰/۴۰۸، ۰/۱۱۹ CL: ۹۵ درصد) $0/2 \text{ mg/kg}$ به دست آمد. پاسی پی در دوز $0/4 \text{ mg/kg}$ به صورت معنی‌داری موجب تاخیر در زمان شروع تشنج در مقایسه با کنترل شد ($p < 0/001$). مدت زمان تشنج کلونیک کاهش یافت که مشابه دیازپام با دوز $0/5 \text{ mg/kg}$ بود. درصد محافظت در برابر تشنج و محافظت در برابر مرگ و میر، با افزایش دوز، افزایش یافتند (جدول شماره ۱). پاسی پی در دوز $0/2 \text{ mg/kg}$ به صورت معنی‌داری تنها موجب تاخیر در زمان شروع تشنج در مقایسه با کنترل شد ($p < 0/001$) (جدول شماره ۱). در آزمون پنتیلین ترازول، تزریق فلومازنیل 2 mg/kg به صورت داخل صفاقی پنج دقیقه پیش از تزریق پاسی پی $0/4 \text{ mg/kg}$ توانست اثر پاسی پی را در تاخیر در زمان شروع تشنج آنتاگونیست کند، به گونه‌ای که هیچ اختلاف معنی‌داری میان گروه کنترل و گروه پاسی پی به همراه فلومازنیل وجود نداشت.

هم‌چنین فلومازنیل توانست اثر پاسی پی را در کاهش مدت زمان تشنج کلونیک، مهار کند. به گونه‌ای که بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده پاسی پی به همراه فلومازنیل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و هم‌چنین در حضور فلومازنیل محافظت در برابر مرگ و میر تا ۸۰ درصد کاهش یافت (جدول شماره ۲). در این آزمون دیازپام توانست زمان شروع تشنج را طولانی کرده و مدت زمان تشنج را کوتاه کند (جدول شماره ۱) و تزریق فلومازنیل 2 mg/kg پنج دقیقه قبل

از تزریق دیازپام به خوبی توانست اثرات آن را آنتاگونیست کند. (جدول شماره ۲). در آزمون پنتیلین ترازول، پاسی پی با دوز $0/4 \text{ mg/kg}$ توانست ۱۰۰ درصد محافظت در برابر مرگ و میر ایجاد کند (جدول شماره ۱).

در این بررسی، تزریق نالوکسون 5 mg/kg به صورت داخل صفاقی پنج دقیقه پیش از تزریق پاسی پی $0/4 \text{ mg/kg}$ توانست اثر پاسی پی را در تاخیر در زمان شروع تشنج آنتاگونیست کند، به گونه‌ای که هیچ اختلاف معنی‌داری میان گروه کنترل و گروه پاسی پی به همراه نالوکسون وجود نداشت. هم‌چنین نالوکسون توانست اثر پاسی پی را در کاهش مدت زمان تشنج کلونیک مهار کند. به گونه‌ای که بین گروه دریافت‌کننده کنترل و گروه پاسی پی به همراه نالوکسون اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و هم‌چنین در حضور نالوکسون محافظت در برابر مرگ و میر به ۲۰ درصد کاهش یافت (جدول شماره ۳).

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده از این بررسی، تزریق داخل صفاقی پاسی پی در مدل تشنجی پنتیلین ترازول، اثر ضد تشنجی دارد. این اثرات ضد تشنجی پس از تجویز آنتاگونیست‌های گیرنده‌های بنزودیازپینی و اوپیویدی مهار می‌شود که بر این اساس به نظر می‌رسد که اثرات ضد تشنجی پاسی پی از طریق گیرنده‌های اوپیویدی و یا بنزودیازپینی اعمال می‌شود. در تحقیقاتی که پیشتر انجام گرفته، خواص ضد اضطرابی پاسی پی به اثبات رسیده بود [۹، ۱۰] که این اثرات با تجویز فلومازنیل نیز مهار شده بود [۱۳]. در بررسی اخیر هم مطابق جدول شماره ۲ مهار اثرات ضد تشنجی پاسی پی در حضور فلومازنیل، بیانگر این مسأله است که بخشی از اثرات ضد تشنجی پاسی پی با تأثیر بر سیستم گابا آرژیک و گیرنده‌های بنزودیازپینی در سیستم اعصاب مرکزی میسر می‌شود. از سوی دیگر اثرات نالوکسون به عنوان یک آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیویدی در مهار اثرات ضد تشنجی پاسی پی، نشان‌دهنده این مطلب است که بخش دیگری از اثرات ضد تشنجی پاسی پی



جدول شماره ۱- اثرات پاسی پی بر زمان شروع تشنج، مدت زمان تشنج، محافظت در برابر مرگ و میر و محافظت در برابر تشنج ناشی از پنتیلین تترازول در موش

درمان دوز (mg/kg)	زمان شروع تشنج (ثانیه)	مدت زمان تشنج (ثانیه)	درصد محافظت در برابر تشنج	درصد محافظت در برابر مرگ و میر
کنترل (۱۰ ml/kg)	۵۱/۸۳ ± ۱/۶۴	۱۲ ± ۱/۸۰	۰	۰
دiazepam (۰/۵ mg/kg)	۴۸۵/۵ ± ۷۴/۹۷ ***	۳/۵ ± ۲/۲۱ *	۸۰	۹۰
دiazepam (۱ mg/kg)	۶۰۰ ± ۰ ***	۰ ± ۰ ***	۱۰۰	۱۰۰
پاسی پی (۰/۰۵ mg/kg)	۵۶ ± ۴/۵۱	۱۵/۳ ± ۴/۴۸	۰	۰
پاسی پی (۰/۱ mg/kg)	۱۱۲/۶۶ ± ۱۶/۲	۷/۱ ± ۲/۵	۱۰	۵۰
پاسی پی (۰/۲ mg/kg)	۱۳۷/۶ ± ۱۷/۸ ***	۷ ± ۱/۱	۲۰	۸۰
پاسی پی (۰/۴ mg/kg)	۶۰۰ ± ۰ ***	۰ ± ۰ ***	۱۰۰	۱۰۰

پاسی پی، ديازپام و کنترل به صورت تزریق داخل صفاقی، ۳۰ دقیقه قبل از پنتیلین تترازول (۹۰ mg/kg) تجویز شدند. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین برای ۱۰ موش گزارش شده‌اند. $p < ۰/۰۵$ ، $p < ۰/۰۰۱$ ، ***p < ۰/۰۰۱، آزمون Tukey-Kramer

جدول شماره ۲- اثر فلومازنیل بر فعالیت ضد تشنجی ناشی از پاسی پی و ديازپام در مدل پنتیلین تترازول در موش

درمان دوز (mg/kg)	زمان شروع تشنج (ثانیه)	مدت زمان تشنج (ثانیه)	درصد محافظت در برابر مرگ و میر
کنترل (۱۰ ml/kg)	۵۱/۸۳ ± ۱/۶۴	۱۲ ± ۱/۸۰	۰
فلومازنیل (۰/۴ mg/kg)	۴۴/۷۱ ± ۱/۴۴	۸/۲۵	۸۵
دiazepam (۰/۵ mg/kg)	۴۸۵/۵ ± ۷۴/۹۷ ***	۳/۵ ± ۲/۲۱ *	۹۰
دiazepam (۰/۵ mg/kg) + فلومازنیل	۱۵۲/۵ ± ۲۸/۹	۱۲/۲۵ ± ۳/۴۲	۷۰
پاسی پی (۰/۴ mg/kg)	۶۰۰ ± ۰ ***	۰ ± ۰ ***	۱۰۰
پاسی پی (۰/۴ mg/kg) + فلومازنیل	۱۸۴/۳۳ ± ۲۹/۱	۱۱ ± ۱/۵۲	۵۰

پاسی پی، ديازپام و کنترل به صورت تزریق داخل صفاقی، ۳۰ دقیقه قبل از پنتیلین تترازول (۹۰ mg/kg) تجویز گردید. فلومازنیل (۲ mg/kg) به صورت داخل صفاقی، ۵ دقیقه قبل از پاسی پی، ديازپام و کنترل، تزریق شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین برای ۱۰ موش گزارش شده‌اند. $p < ۰/۰۵$ ، $p < ۰/۰۰۱$ ، ***p < ۰/۰۰۱، آزمون Tukey-Kramer

آن بر فعالیت سیستم اعصاب مرکزی که به دنبال تزریق داخل صفاقی روتین گزارش شده است [۱۳]، به نظر می‌رسد که احتمالاً اثرات ضد تشنجی به دست آمده با روتین مرتبط باشد. از سوی دیگر در بررسی‌های اخیر تاثیر احتمالی فلاونوئیدها بر سیستم عصبی مرکزی، از طریق تاثیر بر سیستم گابا آرژیک مطرح

مربوط به تاثیر آن بر سیستم اویپوئیدی در سیستم اعصاب مرکزی است. یکی از بیشترین فلاونوئیدهای موجود در عصاره گل ساعتی، با توجه به برگه آنالیز ارائه شده از عصاره گیاه توسط کارخانه ایران داروک، روتین^۱ است. با توجه به اثرات آنتی اکسیدانی گزارش شده از روتین [۱۱، ۱۲] و اثرات تضعیفی

^۱ Rutin



جدول شماره ۳- اثر نالوکسون بر فعالیت ضد تشنجی ناشی از پاسی پی در مدل پنتیلن ترازول در موش

درمان	زمان شروع تشنج	مدت زمان تشنج	درصد محافظت در برابر مرگ و میر
کنترل (۱۰ ml/kg)	۵۱/۸۳±۱/۶۴ (ثانیه)	۱۲±۱/۸۰ (ثانیه)	۰
نالوکسون (۵mg/kg)	۴۹/۶±۴/۳۴	۱۰/۶۶±۰/۶۶	۰
پاسی پی (۰/۴mg/kg)	۶۰۰±۰ ***	۰±۰ ***	۱۰۰
پاسی پی (۰/۴mg/kg) + نالوکسون	۱۲۵/۴±۲/۸۷ ***	۸/۸۱±۲/۶۴	۴۰

پاسی پی و کنترل به صورت تزریق داخل صفاقی، ۳۰ دقیقه قبل از پنتیلن ترازول (۹۰ mg/kg) تجویز شدند. نالوکسون (۵mg/kg) ۵ دقیقه از قبل پاسی پی و کنترل، به صورت داخل صفاقی تزریق شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین برای ۱۰ موش گزارش شده‌اند. $p < 0.001$ ، ***، آزمون Tukey-Kramer

منظور روشن شدن مکانیسم اثر این دارو و تعیین دقیق نوع فلاونوئید موثر از این گیاه بر این نوع تشنج ضرورت دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین جهت تامین اعتبار این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود. هم‌چنین از همکاری‌های شرکت دارویی ایران داروک در انجام این طرح تحقیقاتی صمیمانه تشکر می‌گردد.

شده است و این ادعا با شواهدی از تاثیر فلاونوئیدها در ایجاد خواب آلودگی و رفع اضطراب و کنترل تشنج مطرح شده است [۱۴، ۱۵]. البته فلاونوئید دیگر موجود در گل‌ساعتی ویتکسین^۱ است که اثرات متضادی از این ماده بر سیستم عصبی گزارش شده است [۱۶].

از نتایج به دست آمده درخصوص اثرات ضد تشنجی پاسی پی این احتمال وجود دارد که این دارو بتواند در درمان صرع کوچک سودمند باشد و احتمالاً بخشی از اثرات آن به تاثیر بر سیستم گابارژتیک و اپیوئیدی بر می‌گردد. بررسی‌های بیشتر به

^۱ Vitexin

منابع

1. Kinghorn GR. Passion, stigma, and STI. *Sex Transm Inf.* 2001; 77:370-375.
2. Kamaldeep D, Sanju D, Sharma A. *Passiflora*: a review update. *J Ethnopharmacol.* 2004; 94: 1-23.
3. Vazirian M, Khazaeli A, Naghavi HR, Akhondzadeh S. Passionflower in the treatment of generalized anxiety disorder: a double-blind and

randomized trial with oxazepam. *J. Med. Plant* 2002; 1: 29-38.

4. Reginatto FH, De-Paris F, Perty RD, Quevedo J, Ortega GG, Gosmann G, Schenkel EP. Evaluation of anxiolytic activity of spray dried powders of two South Brazilian *Passiflora* species. *Phytother. Res.* 2006; 20: 348-351.



5. Wheatley D. Medicinal plants for insomnia: a review of their pharmacology, efficacy and tolerability. *J. Psychopharmacol.* 2005; 19: 414-421.
6. Akhundzadeh S, Mohammadi MR, Momeni F. *Passiflora incarnate* in treatment of attention-deficit hyperactivity disorder in children and adolescents. *Therapy* 2005; 2: 609-614.
7. Ichimura T, Ymanaka A, Ichiba T, Toyokawa T, Kamada Y, Tamamura T, Maruyama S. Antihypertensive effect of an extract of *Passiflora edulis* rind in spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotechnol. Biochem.* 2006; 70: 718-721.
8. Rowe CA, Nantz MP, Deniera C, Green K, Talcott ST, Percival SS. Inhibition of neoplastic transformation of benzo [alpha] pyrene-treated BALB/c 3T3 murine cells by a phytochemical extract of passion fruit juice. *J. Med. Food* 2004; 7: 402-407.
9. Kamaldeep D. Attenuation of benzodiazepine dependence in mice by a tri-substituted benzoflavone moiety of *Passiflora incarnata* Linneaus: a non-habit forming anxiolytic. *J. Pharm Pharmaceut Sci.* 2003; 6: 215 - 222.
10. Zanoliu P, Avallone R, Baraldi M. Behavioral characterization of the flavonoids apigenin and chrysin. *Fitoterapia* 2000; 71: S117- S123.
11. Katsube T, Imawaka N, Kawano Y, Yamazaki Y, Shiwaku K, Yamane Y. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. *Food Chem.* 2006; 97: 25-31.
12. Feres CA, Madalosso RC, Rocha OA, Leite JP, Guimaraes TM, Toledo VP, Tagliati CA. Acute and chronic toxicological studies of *Dimorphandra mollis* in experimental animals. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 108: 450-456.
13. Fernandez SP, Wasowski C, Loscalzo LM, Granger RE, Johnston GA, Paladini AC, Marder M. Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides. *Eur. J. Pharmacol.* 2006; 539: 168-176.
14. Marder M, Paladini AC. GABAA-receptor ligands of flavonoid structure. *Curr. Top. Med. Chem.* 2002; 2: 853-867.
15. Johnston GA. GABAA receptor channel pharmacology. *Curr. Pharm. Des.* 2005; 11: 1867-1885.
16. Speroni E, Minghetti A. Neuropharmacological activity of extracts from *Passiflora incarnata*. *Planta Med.* 1988; 54: 488 - 491.

