بررسی اثر عصاره الکلی درمنه کوهی بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول در موش‌های سوری نر

معصومه کشاورزیان[1*]، غلامحسن واعظی[2]، نسرین حیدریه[1]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، گروه زیست‌شناسی، قم، ایران
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی، دامغان، ایران
مسئول مکاتبات:m_keshavarzian2010@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۲۵

چکیده

گونه‌های مختلف جنس درمنه به عنوان دارو در درمان برخی از بیماری‌ها در بررسی‌های فیزیولوژیک و فارماکولوژیک به کار می‌رود. با توجه به این‌که گونه درمنه کوهی دارای مقادیر زیادی اسانس از گروه ترپنوئید خصوصاً لاکتون‌های سزکویی‌ترپن و کتون‌های مونوترپن با طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیک می‌باشد، می‌تواند برخی از عملکردهای فیزیولوژیک بدن را تحت اثرقراردهد. در این تحقیق اثر عصاره الکلی درمنه کوهی بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول (PTZ) مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه از موش‌های سوری نر نژاد NMRI با وزن ۲۸-۲۲ گرم استفاده شد. حیوانات به سه گروه کنترل (دریافت‌کننده سالین)، شم (دریافت‌کننده سالین و کمک حلال توین۲۰ یک درصد) و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی شامل سه زیرگروه بود که موش‌ها دوزهای ۵، ۶/۲۵ و ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه را به همراه کمک حلال توین ۲۰ (۱ درصد) و سالین دریافت کردند. روش القاء صرع به این ترتیب بود که ۲۰ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی مقادیر فوق، کلیه گروه‌ها به میزان ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنتیلن تترازول نیز به همین روش دریافت کردند. نشانه‌های تشنجی طی مدت ۲۰ دقیقه مورد ارزیابی قرارگرفتند. داده‌ها توسط ANOVA یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرارگرفتند. مقایسه آماری نشان داد که عصاره درمنه کوهی در دوز ۷/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بطور معنی‌داری زمان لازم برای شروع مرحله ۲ و ۵ را با ($P <$ ۰/۰۵) تسریع کرد و در همین دوز امتیاز تشنجی را بطور معنی‌داری در مقایسه با گروه شم ($P <$ ۰/۰۱) و گروه دریافت‌کننده عصاره با دوز۵ میلی‌گرم ($P <$ ۰/۰۵) افزایش داد. همچنین دوزهای ۶/۲۵ ($P <$ ۰/۰۵) و ۷/۵ ($P <$ ۰/۰۱) بطور معنی‌داری ورود به مرحله ۵ را افزایش دادند. از طرفی میزان مرگ و میر بطور وابسته به دوز افزایش پیدا کرد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره الکلی درمنه کوهی در فصل رویشی گیاه تشنج ناشی از پنتیلن تترازول را بطور وابسته به دوزوزمان افزایش می‌دهد. به نظر می‌رسد وجود برخی مواد مثل سانتونین که جزو لاکتون‌های سزکویی‌ترپن می‌باشد و یا وجود برخی مونوترپن‌های کتونی مثل کامفور و سینئول با کاهش آزادی کاتکولامین‌ها از طریق مهار غیررقابتی گیرنده‌های استیل کولینی موجب این امر می‌شوند.

کلمات کلیدی: تشنج ، پنتیلن تترازول، درمنه کوهی ، گیرنده استیل کولین، سینئول، سانتونین، کامفور، *Artemisia ucheri*

مقدمه

تشنج یک رویداد نهایی اختلال عملکرد مغزی است و زمانی رخ می‌دهد که یک عدم تعادل ناگهانی بین ورودی-های تحریکی و مهاری به یک شبکه از نورون‌ها ایجاد می‌شود، صورت می‌گیرد که منجر به تحریک‌پذیری بالا و تخلیه غیرطبیعی نورون‌های مغزی می‌شود و اغلب در یک منطقه شروع می‌شود و به سایر نقاط گسترش می‌یابد [۶، ۴۵]. تشنج یکی از نشانه‌های بیماری صرع است ولی نخستین حمله نمی‌تواند بیانگر بیماری صرع باشد، بلکه این

بیماری به وسیله حملات متناوب، ناگهانی، زودگذر و عودکننده همراه است که معمولاً سطح هوشیاری را نیز دچار اختلال می‌کند. با توجه به مطالعات اپیدمیولوژیک بیش از ۵۰-۶۰ میلیون نفر در جهان دچار صرع هستند [۱، ۵، ۱۱، ۳۲، ۴۳]. علل زیادی برای بیماری‌های صرعی وجود دارد که با توجه به گوناگونی انواع آن، ممکن است مکانیسم ایجاد کننده هر کدام متفاوت باشد. نوروترانسمیترهای مختلف بویژه GABA و گلوتامات نقش کلیدی در پاتولوژی صرع دارند [۲۸]. علیرغم تحقیقات گسترده در زمینه داروهای ضدتشنج جدید هنوز بیماری صرع بطور کامل درمان نشده است [۳۲]. علاوه براین بیش از ۵۰ درصد از بیماران مبتلا به صرع عوارض جانبی نامطلوبی درحین درمان با داروهای ضدصرع از خود نشان می دهندکه زندگی آنها را تهدید می‌کند [۳۲]. به همین جهت هنوز تحقیقات برای دسترسی به داروهای ضد صرع موثرتر و با عوارض جانبی کمترادامه دارد. طب سنتی و گیاهان دارویی به عنوان منبع مناسبی جهت دستیابی به داروهای بهتر مورد توجه می‌باشند [۴، ۱۹، ۴۰]. البته باید دقت داشت که گیاهان دارویی این پتانسیل را دارند که تولید داروهای مضر کنند. استفاده از گیاهان دارویی به دلیل انتشار وسیعی که دارند و به‌راحتی در دسترس می‌باشند پتانسیل عوارض جانبی را در جمعیت افراد مبتلا به صرع افزایش می‌دهد. پس گیاهان آرام‌بخش ممکن است که پتانسیل داروهای ضد تشنج را داشته باشند و موجب افزایش اثرات تسکین دهندگی و روانی شوند ولی آن‌ها نباید به جای داروهای ضد تشنج استفاده شود چون اثربخشی و سودمندی آن‌ها ثابت نشده است [۴۲].

درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) از خانواده‌ی *Asterase* بوده و یکی از مهمترین گیاهان بوته‌ای مراتع استپ و نیمه استپ ایران محسوب می‌شود [۲، ۳، ۱۷] گیاهی علفی، چندساله، به ارتفاع ۲۵ تا ۶۵ سانتی‌متر، اغلب بدون کرک، به رنگ زرد کاهی تا قهوه‌ای روشن، دارای خواص قابض، ضدعفونی‌کننده و دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیک از جمله سیتوتوکسیک، آنتی-هپاتوتوکسیک، ضدمیکروب، ضدباکتری، ضدانگل، ضدمالاریا، ضدقارچ، ضدمسمومیت و فعالیت آنتی اکسیدانی [۷، ۸، ۱۰، ۱۴، ۲۹، ۳۷، ۴۶] می‌باشد. ترکیبات آن به عنوان مواد مقوی، اشتها آور، محرک، ضد عفونی کننده، بازکننده مجاری و عروق و در تسکین دردهای روماتیسمی به کار می روند [۳۳]. طبق تحقیقات قبلی و مطالعات فیتوشیمیایی به روش GC/MS، GC، HD-SME ترکیبات زیادی در گیاه درمنه کوهی شناسایی شده است که اطلاعات ضد و نقیضی را به ما در مورد ترکیبات گیاه می‌دهد. ولی از آن جایی که طبق برخی از منابع ترکیبات گیاه در مناطق مختلف متفاوت است ترکیبات اصلی اسانس درمنه کوهی (از گیاهان جمع آوری شده در استان سمنان) به ترتیب ذیل می باشد: Verbenone(۲۱/۵ درصد)، camphor (۲۱ درصد)، cineol-۸ و ۱ (۸/۳ درصد)، trans-verbenol (۸/۱ درصد) [۲۷]. کامفور جزو کتون‌های مونوترپنوئید می باشد که بسیار فرار است و به آسانی جذب پوست می شود و جهت مصارف دارویی و صنعتی کاربرد دارد. کامفور به عنوان یک داروی بیحس کننده موضعی، ضد عفونی‌کننده، ضد درد (خصوصاً دردهای عضلانی، تنفسی) کاربرد دارد. این ترکیب در مقادیر بالا سمی ولی مصرف غلظت های پایین آن خلط آور و برای سیستم تنفسی مناسب می‌باشد [۹، ۲۶، ۳۰، ۳۱]. ۱ و ۸ سینئول یا سینئول (Eucalyptol) یک مایع بی‌رنگ و جزو کتون‌های مونوترپن با واکنش-پذیری بالا می‌باشد و بعد از آلفاپینن فراوانترین جزء ترکیبی در اسانس‌هاست و به‌طورگسترده جهت مصارف دارویی و صنعتی کاربرد دارد و یک داروی بیحس کننده موضعی و ضدعفونی‌کننده است. در شرایط آزمایشگاهی سینئول می-

تواند در دو التهاب را کاهش داده و رشد باکتری‌ها را مهار کند [۲۶].

مواد و روش کار

گیاه: گیاه درمنه (*Artemisia aucheri*) از ارتفاعات اطراف دامغان (استان سمنان) جمع‌آوری گردید (شکل ۱) و به کمک بخش گیاه شناسی دانشگاه تهران شناسایی شد (کد نمونه: ۱۲۴، دکتر مظفریان). گیاه جمع‌آوری شده در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در سایه خشک شد. بخش هوایی گیاه توسط اسیاب مکانیکی پودر شده و برای عصاره‌گیری آماده گردید.

حیوانات: در این مطالعه از موش‌های سوری نرنژاد NMRI با وزن۲۲–۲۸ گرم استفاده شد. حیوانات در دمای۲۲–۱۸ درجه نگهداری شده و دسترسی آزادانه به آب و غذای مخصوص (پلیت) داشتند. نور بطور اتوماتیک در دوره‌های ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم شده بود.

داروها: پنتیلن‌تترازول (PTZ) از شرکت Sigma-Aldrich خریداری شد. این دارو در نرمال سالین ۰/۹٪ حل و به صورت درون صفاقی تزریق گردید.

عصاره گیری (تهیه عصاره اتانلی گیاه): بخش‌های پودر شده گیاه (حدود ۱۵۰ گرم)، برای عصاره‌گیری با ۱۵۰۰ میلی لیتر اتانول (۹۶ درصد) به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدکه بعضی اوقات هم زده می‌شد، محلول حاصله توسط قیف بوخنرو کاغذ صافی صاف شده سپس با استفاده از دستگاه روتاری با چرخش ۹۰ دور تحت شرایط فشار کاهشی و دمای ۴۰ درجه سانتیگراد عصاره تغلیظ گردید. در نهایت پس از تعیین درصد رطوبت عصاره با ۶۴٪ رطوبت (وزن خشک ۴۶ درصد) برای کلیه مراحل آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

چگونگی تهیه محلول تزریقی از عصاره گیاه: عصاره تهیه شده حلالیت خوبی در نرمال سالین نشان نداد. بنابراین برای تهیه غلظت‌های مختلف عصاره از Tween 20 (۱درصد) به عنوان کمک حلال و از سالین برای رساندن به حجم مورد نظر (۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) استفاده شد.

روش‌ها: حیوانات به سه گروه هشت‌تایی تقسیم شدند: ۱) گروه کنترل که مورد تزریق داخل صفاقی سالین قرار گرفتند. ۲) به گروه شم، سالین و کمک حلال Tween20 (۱٪) تزریق گردید. ۳) گروه آزمایش که شامل سه زیرگروه بود. در این زیر گروه‌ها تزریق داخل صفاقی عصاره گیاه با غلظت‌های ۵، ۶/۲۵ و ۷/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه کمک حلال Tween20 (۱٪) و سالین انجام شد. (کلیه تزریق‌های فوق در حجم ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن صورت می‌گرفت). و پس از ۲۰ دقیقه به کلیه گروه‌ها به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مقدار۸۰ میلی‌گرم پنتیلن تترازول به منظور القاء تشنج به روش درون صفاقی تزریق گردید. مقدار تزریق و فاصله زمانی بین تزریق اول و دوم در تمام گروه‌ها یکسان بود. تمام حیواناتی که مورد دو مرحله تزریق فوق قرار گرفتند از نظر بروز نشانه‌های تشنجی طی مدت ۲۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفتند. مراحل مختلف تشنج و مشخصات رفتاری موش‌ها بصورت زیر مورد بررسی قرارگرفت:

صفر: بدون پاسخ (رفتارهای معمول حیوان)

یک: انقباض عضلات صورت و گوش‌ها و writhing یاکشیدن بدن و اندام‌های جلویی (تشنجات منفرد میوکلونیک سر)

دو: تکان‌های انقباضی شوک گونه عضلانی بدون پرش (تشنجات مکرر سر همراه با تکان‌های ناگهانی اندام قدامی)

سه: تکان‌های انقباضی شوک گونه عضلانی همراه با پرش (تشنج کل بدن و اندام حرکتی قدامی در این حالت معمولاً پاها از هم باز شده و دم راست می شود)

چهار : افتادن به پهلو با تشنج‌های کلونیک ـ تونیک عمومی شده (گاهی اوقات روی دو تاپا می‌ایستد)

پنج: افتادن به پشت به همراه تشنج‌های کلونیک ـ تونیک عمومی شده

شش: مرگ

مرحله یک بیانگر کمترین و مرحله شش معرف بیشترین عمق تشنج بود. و میانگین بالاترین مرحله تشنج درهرگروه به عنوان امتیاز تشنجی (seizure score) محسوب گردید.

شاخص‌های مورد سنجش: در این پژوهش امتیاز تشنجی (seizure score)، زمان بروز هر یک از مراحل تشنج، تعداد ورود به مرحله عمیق تشنج (مرحله ۵)، و میزان مرگ و میر پس از تزریق PTZ در مدت ۲۰ دقیقه مورد ارزیابی و ثبت قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج بدست آمده در این تحقیق با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (Anova) و آزمون مقایسه میانگین‌ها (Tukey) آنالیز گردید ($p < ۰/۰۵$).

شکل ۱- گیاه درمنه کوهی در فصل رویشی (انبان کوه خرداد ۱۳۹۰)

نتایج

پیش درمانی حیوانات با دوزهای ۵، ۶/۲۵، ۷/۵ میلی‌گرم از عصاره اتانولی گیاه درمنه کوهی، اختلاف معنی‌داری را در میانگین زمان لازم برای شروع مرحله اول تشنج ناشی از PTZ در مقایسه با گروه شم نشان نداد. لازم به ذکر است که در گروه‌های فوق میانگین زمان لازم برای شروع این مرحله در مقایسه با گروه شم کاهش داشته ولی چنین کاهشی از نظر آماری معنی‌دار نبوده است (نمودار ۱).

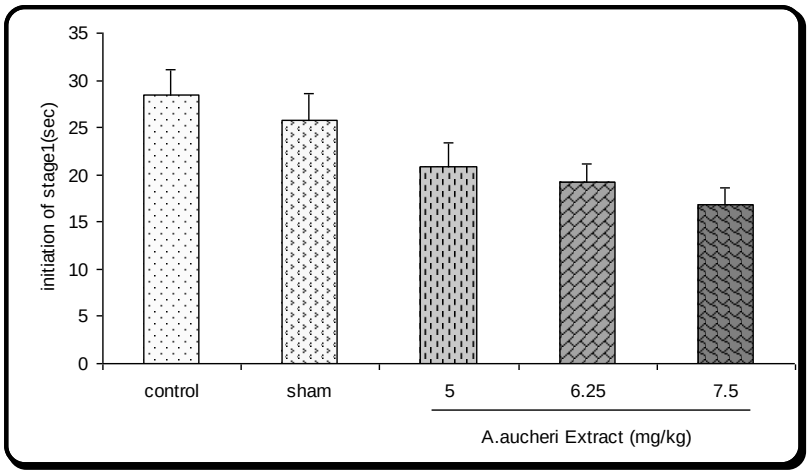
تزریق درون صفاقی ۷/۵ میلی‌گرم از عصاره اتانولی گیاه درمنه کوهی زمان لازم برای شروع مرحله دوم تشنج را در مقایسه با گروه شم بطور معنی‌داری کاهش داد (نمودار۲).

تزریق درون صفاقی ۷/۵ میلی‌گرم از عصاره اتانولی گیاه درمنه کوهی زمان لازم برای شروع مرحله پنجم تشنج را در مقایسه با گروه شم بطور معنی‌داری کاهش داد (نمودار۳).

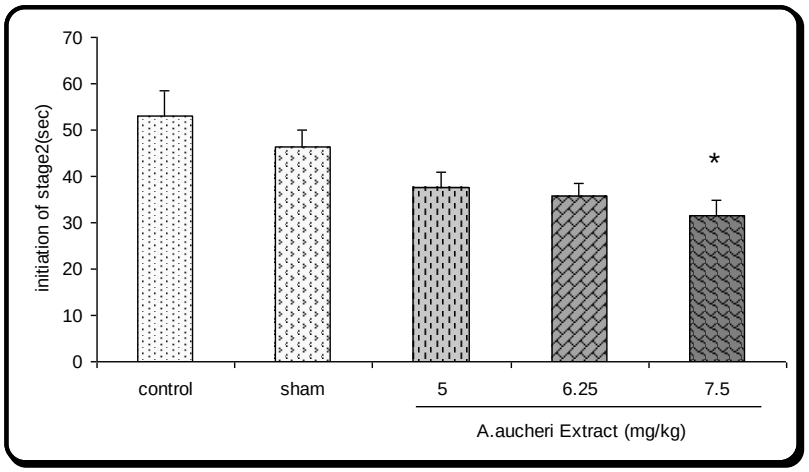
تزریق درون صفاقی ۶/۲۵ و ۷/۵ میلی‌گرم از عصاره اتانولی گیاه درمنه کوهی تعداد ورود به مرحله ۵ تشنج را در مقایسه با گروه شم بطور معنی داری افزایش دادند (نمودار ۴).

تزریق درون صفاقی ۷/۵ میلی‌گرم از عصاره اتانولی گیاه درمنه کوهی، اختلاف معنی‌داری را در میانگین امتیاز تشنجی ناشی از PTZ در مقایسه با گروه شم و گروه دریافت‌کننده عصاره با دوز ۵ میلی‌گرم برکیلوگرم نشان داد (نمودار۵).

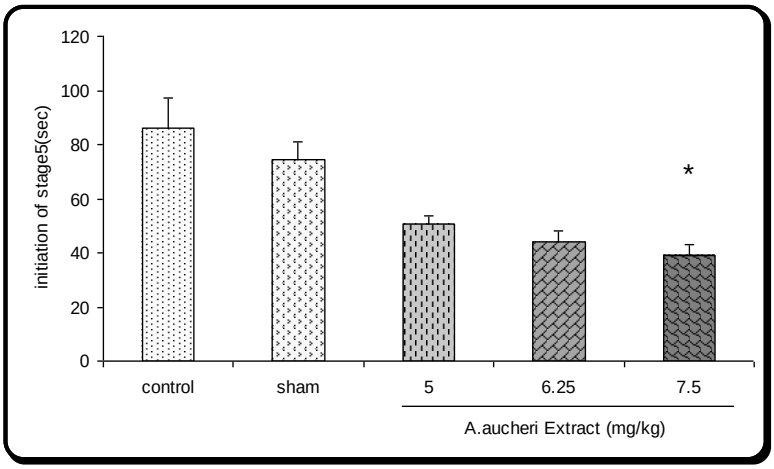
تزریق داخل صفاقی ۵، ۶/۲۵ و ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره اتانولی گیاه درمنه کوهی، میزان مرگ و میر رادر مقایسه با گروه شم بطور وابسته به دوز افزایش داد به خصوص در دوز ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرگ و میر به میزان چشمگیری افزایش پیدا کرد (جدول۱).



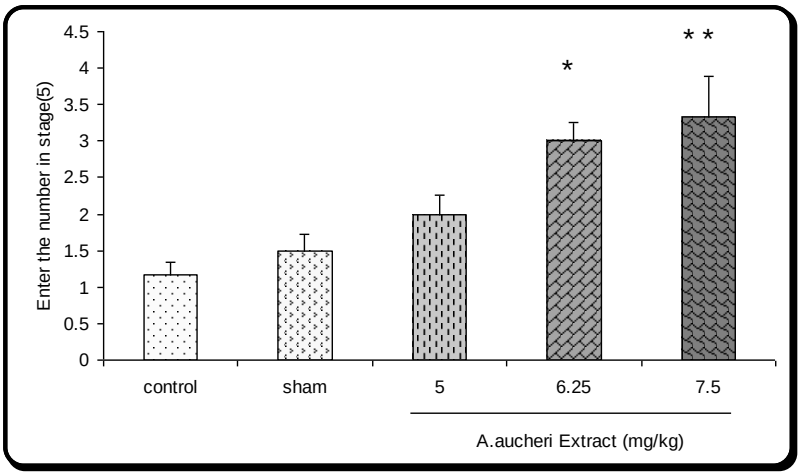
نمودار ۱ـ مقایسه‌ی میانگین و انحراف معیار زمان لازم برای شروع مرحله اول تشنج در گروه‌های مورد تزریق مقادیر مختلف عصاره الکلی درمنه کوهی در مقایسه با گروه کنترل و شم (n=8)



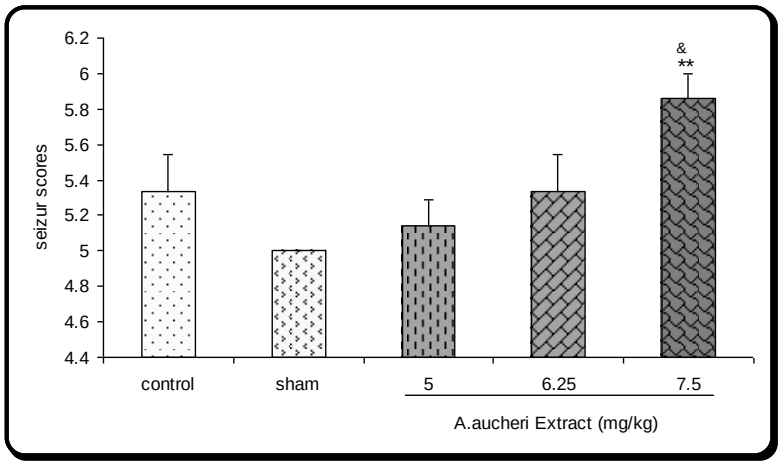
نمودار ۲ـ مقایسه‌ی میانگین و انحراف معیار لازم برای شروع مرحله دوم تشنج در گروه‌های مورد تزریق با مقادیر مختلف عصاره الکلی درمنه کوهی درمقایسه با گروه شم(علامت ستاره بیانگراختلاف معنی دار با گروه کنترل و شم است و* نمایانگر $p<0.05$ می‌باشد) (n=8)



نمودار۳ـ مقایسه میانگین و انحراف معیار زمان لازم برای شروع مرحله پنجم تشنج در گروه‌های مورد تزریق با مقادیر مختلف عصاره الکلی درمنه کوهی در مقایسه با گروه کنترل و شم (علامت ستاره بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه شم است و* نمایانگر $p<0.05$ می باشد) (n=8)



نمودار ۴ـ مقایسه میانگین و انحراف معیار تعدادورود به مرحله۵ تشنج در گروه‌های مورد تزریق با مقادیر مختلف عصاره الکلی درمنه کوهی درمقایسه با گروه شم (علامت ستاره بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه شم است که * نمایانگر $p<0.05$ و** $p<0.01$ می باشد) (n=8)



نمودار ۵ـ نمودار میانگین و انحراف معیار امتیاز تشنجی در گروه‌های مورد تزریق با مقادیر مختلف عصاره در مقایسه با گروه شم (علامت ستاره بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه شم است و** نمایانگر ۰/۰۱ > p می باشد و علامت & بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه دریافت کننده دوز ۵ است و & نمایانگر ۰/۰۵ > p است) (n=8)

جدول ۱ـ درصد مرگ و میر در بین گروه‌ها

	گروه کنترل	گروه شم	گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۵ mg/kg	گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۶/۲۵ mg/kg	گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۷/۵. mg/kg
درصد مرگ و میر	٪۳۳/۳	٪۱۶/۶	٪۱۶/۶	٪۳۳/۳	٪۸۳/۳

بحث

با وجود پیشرفت در زمینه کشف داروهای ضدتشنج جدید هنوزهم بیماری صرع بطور کامل درمان نشده است بنابراین ادامه تحقیق برای یافتن داروهای ضدصرع جدید که در رقابت با داروهای شیمیایی مطمئن‌تر و موثرتر باشد ضروری به نظر می‌رسد [۳۲، ۴۵]. اخیراً منابع طبیعی و گیاهان دارویی با افزایش اثربخشی و حداقل اثرات جانبی مورد توجه قرار گرفته است [۳۲، ۴۵]. ولی متاسفانه استفاده بی-رویه از اسانس‌ها و سایر گیاهان دارویی که بطور گسترده‌ای در طب سنتی و همچنین لوازم آرایشی جایگزین و مورد استفاده قرار می‌گیرد ممکن است منجر به اثرات نوروتوکسی جدی گردد [۲۳]. به نظر می‌رسد گونه‌های مختلف جنس درمنه به علت داشتن ترکیبات مختلف فعال، پتانسیل زیادی دارند تا در جهت تحقیقات گسترده بیولوژیکی به‌ویژه اثر بر سیستم عصبی مرکزی مورد استفاده قرارگیرند [۱۷].

در این پژوهش عصاره الکلی گیاه درمنه کوهی با دوزهای ۵، ۶/۲۵ و ۷/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در درمان تشنجات صرعی ناشی از PTZ مورد بررسی قرار گرفت.نتایج بدست آمده نشان داد که عصاره الکلی گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) در موش سوری بطور وابسته به دوز دارای اثرات تشنج زایی می باشد و مشخص شد که دوز ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای اثرات تشنج‌زایی بیشتری نسبت به گروه شاهد بوده و زمان شروع تشنج را کاهش داد اگرچه از نظر آماری معنی‌دار نشد ولی شروع مرحله ۲ و ۵ تشنج را بطور معنی‌داری تسریع کرد و

امتیاز تشنجی (seizure score) را در مقایسه با گروه شم و گروه دریافت کننده عصاره با دوز۵ میلی‌گرم بطور معنی-داری افزایش داد. عصاره الکلی گیاه تعداد ورود به مرحله ۵ تشنج را که مرحله عمیق تشنج است، بطور وابسته به دوز افزایش داد بطوری که دوزهای ۶/۲۵و ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثر معنی‌داری بر آن داشتند همچنین میزان مرگ و میر نیز وابسته به دوز افزایش پیدا کرد.

طبق مطالعات فیتوشیمیایی مختلفی که قبلاً از این گیاه صورت گرفته مشخص شده است که ترکیبات اصلی گیاه درمنه کوهی در مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت می‌باشد. اگر چه کلیه آنالیزها، وجود منوترپن‌ها و سزکویی‌ترپن‌ها را در گیاه نشان می‌دهد. تحقیقات قبلی مشخص کرده که سانتونین، کامفور، ۱و۸ سینئول ترکیبات اصلی این گیاه در استان سمنان می‌باشند [۳، ۱۵، ۲۱، ۲۲، ۲۷، ۳۸] و از طرفی این ترکیبات جزو اسانس‌ها محسوب می‌شوند و مشخص شده که اسانس‌های کوچک دارای خاصیت چربی‌دوست می‌باشند و نیز می‌توانند از سد خونی- مغزی عبور کرده و وارد سیستم عصبی مرکزی شوند و عملکرد آنرا تحت اثر قرار دهند. باتوجه به بررسی‌های انجام شده سانتونین یکی از ترکیبات اصلی گیاه درمنه‌کوهی می‌باشد و جزو لاکتون-های سزکویی‌ترپن می‌باشد. این ترکیب مهم دارویی از قدیم‌الایام به عنوان یک داروی کرم‌کش و ضدانگل استفاده شده و دارای خاصیت ضدمیکروبی و ضدتوموری است البته استفاده از دوزهای بالای آن می‌تواند منجر به ایجاد اثرات سمی شده و باعث عدم تکلم (aphasia) لرزش عضلات، تشنجات مشابه صرع، اختلال بینایی و یا حتی کوری شود و استفاده از آن در دوزهای نادرست می‌تواند منجر به مرگ گردد. از دیگر اثرات سمی می توان به درد معده، رنگ پریدگی، لرزش، سرگیجه، عرق فراوان، وجود خون در ادرار، حرکات تشنجی و تشنجات کزازی اشاره کرد [۱۶، ۲۰].

استفاده از دوزهای پایین آن نیز خطراتی را ایجاد می‌کند که خیلی کم‌اهمیت‌تر هستند مثل اثر بر حواس پنج‌گانه خصوصاً حس بینایی از قبیل زردبینی یا xanthopsia که معمولاً نادیده گرفته می‌شود [۱۶، ۲۰].

مشخص شده که سانتونین خاصیت ضد انگلی خود را از طریق اثر بر حرکت کرم‌ها (motility) اعمال می‌کند. به این ترتیب که در غلظت‌های پایین سبب فلج کرم‌ها و در غلظت‌های بالا اثر تحریکی ناچیزی بر حرکت کرم‌ها دارد. معین شده است که سانتونین عمل تحریکی یا مهاری خود را از طریق مکانیسم تحریک گابرژیک و کولینرژیک در سیستم عصبی کرم‌ها ایجاد می‌کند [۳۴]. بنابراین به نظر می-رسد که احتمالاً غلظت‌های بالای سانتونین درپستانداران نیز از طریق مکانیسم فوق عمل کرده و باعث ایجاد تشنج گردد. در برخی منابع اشاره شده است که مونوترپن‌های کامفور و سینئول از اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس درمنه کوهی می‌باشند این ترکیبات جزو کتون‌ها محسوب می‌گردند [۲۷، ۳۸] و معین شده است که اغلب ترکیب‌های کتونی در غلظت‌های بالا، سمی و خطرناک بوده و پتانسیل ایجاد تشنج را در فرد مصرف کننده دارند [۹، ۲۳]. طبق برخی مقالات ثابت شده است اسانس‌هایی که دارای مقادیر زیادی از مونوترپن‌ها شبیه کامفور و سینئول هستند می توانند سبب فعالیت صرع‌زایی در حیوانات و انسان شوند [۲۳، ۱۸]. موارد متعددی از سمیت کامفور شامل مسمومیت، مشکلات، روده‌ای و پوستی و تشنجات القاء شده توسط آن و حتی مرگ خصوصاً در کودکانی که در معرض استنشاق کامفور قرار گرفته‌اند یا از مقدار بسیار کمی از محصولات حاوی کامفور استفاده کرده‌اند گزارش شده است [۲۵، ۳۱، ۳۵، ۳۶، ۴۱]. بررسی ترکیبات اسانس ۱۱ گیاه تشنج‌زای قوی نشان دهد که این ترکیبات از نوع کتون‌های مونوترپن با واکنش پذیری بالا مثل کامفور، سینئول، پینوکامفون، توجون و غیره می‌باشند که خاصیت صرع‌زایی این مشتقات گیاهی برای

بیش از یک قرن شناخته شده است [۱۸، ۲۳] کامفور به عنوان یک کتون مهارکننده غیررقابتی قوی گیرنده‌های استیل کولین نیکوتینی است و در جایگاه دیگری غیر از جایگاه استیل کولین می‌نشیند و ترشح کاتیکولامین را مهار می‌کند [۲۳، ۲۴، ۳۹]. همچنین گزارش شده که کامفور از طریق گیرنده‌های استیل کولین نیکوتینی عمل کرده و باعث مهار ترشح نوراپی نفرین می‌گردد. بنابراین می‌توان گفت که کامفور با مهار آزادی نوروترانسیمترهایی مثل نوراپی‌نفرین که اثر مهاری روی صرع دارد باعث می‌گردد که صرع در حیوانات افزایش پیدا کند. مشخص شده است که کامفور اثر خود را در کاهش آزادسازی نوروترانسیمترهایی مثل نوراپی نفرین از طریق کاهش ورود کلسیم یا سدیم به درون سلول و از طریق گیرنده‌های استیل کولینی انجام می دهد. افزایش کلسیم از طریق برخی داروها مثل واراتیدین و برادی کینین هم توسط کامفور تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد که این مطلب نیز مبین این است که کامفور عمدتاً اثر خود را از طریق گیرنده‌های استیل کولینی اعمال می‌کند [۳۹].

این اطلاعات نشان می‌دهد که کامفور خصوصاً آزادی کاتیکولامین را بوسیله مهار کردن گیرنده‌های استیل کولین نیکوتینی کاهش می‌دهد، بدون اینکه اتصال آگونیست روی آنها را تحت تأثیر قرار دهد. بنابر این کاهش آزادی کاتکولامین‌هایی مثل اپی‌نفرین از طریق کامفور موجود در گیاه می‌تواند توجیه کننده افزایش صرع در حیوانات باشد که دوزهای مختلفی از گیاه را دریافت کرده‌اند.

همانطور که گفته شد، ترکیب مهم دیگر این گیاه ۸ و ۱ سینئول یا سینئول می‌باشد که موارد متعددی از سمیت آن در دوزهای بالاتر از حد نرمال چه از طریق خوردن و چه از طریق تماس با پوست و یا استنشاق گزارش شده است که می‌تواند بر رفتار، تنفس و سیستم عصبی اثر بگذارد [۳۶،۲۵،۱۸]. ولی از آنجایی که این ترکیب از طریق استنشاق نسبت به راه‌های دیگر سریعتر جذب می‌شود بطوری که حضور آن ۵۰ دقیقه پس از استنشاق در خون شناسایی شده است در رده‌بندی به عنوان سم تنفسی شناخته می‌شود [۲۶].

محققین نشان دادند که سمیت گیاه *Artemisia calfornica* به دلیل وجود ۵ ترپن اصلی مثل ۱ و ۸ سینئول، آرتمیزیا کتون، آلفا توجون، icothujon و کامفور می‌باشد [۲۵]. همچنین بررسی ترکیبات اسانس گیاه اکالیپتوس که یکی از گیاهان تشنج‌زای قوی است نشان می دهد که ترکیب اصلی و عمده آن سینئول می‌باشد [۱۳، ۱۸]. مشخص شده سینئول با افزایش تخریب چربی بافت، خصوصاً ساختمان لایه شاخی، موجب افزایش نفوذ آن به بافت‌ها می‌گردد [۴۴]. همچنین این ترکیب می‌تواند بیوسنتز پروستاگلاندین‌ها را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند [۲۶].

با توجه به موارد گفته شده فوق علاوه بر اینکه هر یک از این دو ترکیب به تنهایی باعث افزایش صرع می‌گردند. گزارش‌هایی نیز وجود دارد که مبین این مطلب است که احتمالاً این دو ترکیب می‌توانند با تقویت اثر هم به طریق سینرژیک اثر صرع زایی همدیگر را تقویت کنند [۲۳].

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج حاصل ازاین پژوهش نشان داد که عصاره الکلی درمنه کوهی در فصل رویشی گیاه تشنج ناشی از پنتیلن تترازول را بطور وابسته به دوز و زمان افزایش می‌دهد. بنابر این به نظر می‌رسد که وجود ترکیباتی همانند سانتونین که جزو لاکتون‌های سزکویی‌ترپن می‌باشد و یا وجود برخی مونوترپن‌های کتونی مثل کامفور و سینئول (با کاهش آزادی کاتکولامین‌ها از طریق مهار غیررقابتی گیرنده‌های استیل کولینی) دلیل افزایش تشنج توسط این گیاه باشد. هر چند درک مکانیسم واقعی اثراین عصاره گیاهی بر تشنج ناشی از پنتیلن تترازول نیازمند بررسی‌های بیشتری می‌باشد.

منابع

۱- ارضی، ا.، گله‌دار، ف. ۱۳۷۰. بررسی دیدگاه های تازه دارو درمانی اپیلیسی. چاپ اول، انتشارات معاونت پژوهشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، صفحه ۱۵,

۲- آذرنیوند، ح. ۱۳۸۶. بررسی تغییرات پروتئین خام و دیواره سلولی علوفه درمنه کوهی *Artemisia aucheri* در مراحل مختلف رشد و در طبقات ارتفاعی مطالعه موردی: وردآورد کرج. مجله علمی پژوهشی مرتع، سال اول، شماره سوم، صفحه ۲۵۰.

۳- بهداد، آ.، ابریشم چی پ.، جنگجو م. ۱۳۸۷. اثرآللوپاتی عصاره درمنه کوهی *Artemisia aucheri* برجوانه زنی بذر *Bromus tomentellus*. اولین همایش ملی زیست-شناسی گیاهی دانشگاه پیام نور، مرکز تالش، صفحه ۲۵,

۴- پورغلامی، م. ح.، هداوند ن.، فلاحی م.، کمالی نژاد م. ۱۳۷۶. اثرات ضد تشنجی اسانس میوه گیاه زیره ایرانی با استفاده از PTZ-KINDLING در موش صحرایی. مجله پژوهنده، شماره پنجم، صفحات ۳۲-۲۷,

۵- حافظیه، ک. ۱۳۷۴. درمان دارویی تشنج‌ها، بررسی مکانیسم اثر داروها، تداخل دارویی و عوارض آنها. پایان نامه کارشناسی ارشد، تهران: دانشگاه علوم پزشکی ایران.

۶- حیدری، م.، ابراهیمی، ص.، مهربانی، م.، پرداختی، ع.، وفازاده ج. ۱۳۸۴. تأثیر عصاره متانولی بومادران *Achillea Wilhelmsii C. Koch* بر تشنج ناشی از پیکروتوکسین در موش سفید کوچک. مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره هفتم، شماره ۴، صفحات ۱۳-۷.

۷- سیستانی، ا. ۱۳۷۰. پزشکی سنتی مردم ایران. تهران ، انتشارات روزنه ، جلد اول و دوم، چاپ اول، صفحات ۱۷۰-۱۲۰,

۸-صالح نیا، ع. ۱۳۶۹. استخراج و شناسایی مواد مؤثر (مورد سیز) و بررسی آن علیه میکرو ب های بیماری زا. دانشکده داروسازی تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، پایان نامه شماره ۲۶۷۶، صفحات ۶۴-۵۸.

۹- قاسمی، ع. ۱۳۸۸. گیاهان دارویی ومعطر، شناخت وبررسی اثرات آنها. انتشارات دانشگاه آزاداسلامی واحدشهرکرد، سامان دانش، صفحه ۴۲۹,

۱۰- قرینه، م. (۷۳-۱۳۷۲). بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان سنتی. تهران، دانشکده داروسازی شهید بهشتی پایان نامه۱۳۹ ، صفحات ۴۸-۲۴,

۱۱- کاپلان، ه، رفیعی، ح. ۱۳۷۹. خلاصه روانپزشکی، علوم رفتاری-روانپزشکی بالینی. انتشارات سالمی، جلد اول.

۱۲- مظفریان، و. ۱۳۸۷. فلور ایران. موسسه تحقیقات جنگل ها ومراتع کشور. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها ومراتع کشور، صفحه,۲۴۷

۱۳- منیری، ش. ۱۳۷۶. بررسی ترکیبات گونه‌های مختلف اکالیپتوس (پایان‌نامهٔ دکترای داروسازی). شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز.

۱۴- میرحیدر، ح. ۱۳۷۴. معارف گیاهی. تهران، نشر فرهنگ اسلامی، چاپ دوم، صفحات ۳۱۵-۳۱۰.

15- Asgary S., N. Jafari Dinani, H. Madani, P. Mahzouni (2008), Ethanolic extract of *Artemisia aucheri* induces regression of aorta wall fatty streaks in hypercholesterolemic rabbits. *Pharmazie*, 63: 394-7.

16- Barton D.H.R., G.P Moss, J.A. Whittle (1968), Investigations on the biosynthesis of steroids and terpenoids. Part I. a preliminary study of the biosynthesis of santonin.

manifested by fractal dimension changes. *Archives of Biological Science*, 60(4): 547-553.

24- Hall A.C., C.M. Turcotte, B.A. Betts, W.Y. Yeung, A.S. Agyeman, L.A. Burk (2004), Modulation of human $Gaba_a$ and glycine receptor currents by menthol and related monoterpenoids. *European Journal of Pharmacology*, 506(1): 9-16.

25- Halligan J.P. (1975), Toxic Terpenes from *Artemisia californica*. *Ecology*, 56: 999-1003

26- Hania M.M. (2010), Topical medicine for treatment of the musculoskeletal. *International Journal of Chemtech Research*, 2(1): 700-705.

27- Hashemi P. (2007), Hydrodistillation–solvent microextractionand Gc–Ms identification of volatilecomponents of *Artemisia aucheri*. *Chromatographia*, 283-286.

28- Holtman L., Vliet E.A., Schaik R., Queiroz C.m., Aronicaand E., Gorter J.a. (2009), Effects of sc58236, a selective cox-2 Inhibitor, on epileptogenesis and Seizuresin a rat model for temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research*, 86: 56-65.

29- Hosseinzadeh H., M. Ramezani, G. Salmani (2000), Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multifloraboiss* extracts in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(3): 379-85.

30- Khine H., D. Weiss, N. Graber, R.S. Hoffman, N. Esteban-Cruciani, J.R. Avner (2009), A cluster of children with seizures caused by camphor poisoning. *Pediatrics*, 123(5): 1269-1272.

Journal of Chemical Society, 338(8): 1813-18.

17– Bora K.S., A.L.R. Sharma (2011), The genus *Artemisia*: a comprehensive review. *Pharmacological Biology*, 49(1): 101-9.

18- Burkhard PR. (1999), Plant-induced seizures: reappearance of an old problem. *Journal of Neurology*, 246(8): 667-70.

19- Cilani A.H., N. Aziz, M.A. Khan, F. Shaheen, Q. Jabeen, B.S. Siddiqui, (2000), Ethnopharmacological evalution of the anticonvulsant, sedative and antispasmodie activities of *Origanum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 71: 161-167.

20- De Kraker J.W., M.C. Franssen, M.C. Dalm, A. De Groot, H.J. Bouwmeester (2001), Biosynthesis of germacrene A carboxylic acid in chicory roots. demonstration of a cytochrome P450 (+)-germacrene A hydroxylase and NADP+-dependent sesquiterpenoid dehydrogenase (S) involved in sesquiterpene lactone biosynthesis. *Plant Physiology*, 125(4): 1930-1940.

21- Dinani N.J., A. Asgary, H. Madani, G. Naderi, P. Mahzoni (2010), Hypocholesterolemic and antiatherosclerotic effect of *Artemisia Aucheri* in hypercholesterolemic rabbits. *Pakistan Journal of Pharmacological Science*, 23(3): 321-325.

22- Farzaneh M., M. Ahmadzadeh, J. Hadian, A. Tehrani (2006), Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of *Artemisia* on some soil-borne phytopathogens. *Community of Agricuiture and Applied Biological Science*, 71: 1327-33.

23- Grbić G. (2008), Effect of camphor essential oil on rat cerebral cortex activity as

31- Love J.N., M. Sammon, J. Smereck (2004), Are one or two dangerous? camphor exposure in toddlers. *Journal of Emergency Medicine*, 49-54

32- Lucindo J., G. Adriana, E.S. Bruno, F. Geovana (2010). Carvacrol, (-)-orneol and citral reduce convulsant activity in rodents. *African Journal of Biotechnology*, 9(39): 6566-6572.

33- Massry K., A. Ghorab, A. Farouk (2002), Antioxidantactivity and volatile components of Egyptian, *Artemisia judaica*. *Food Chemistry*, 79: 331-336

34- Mentz M.B., C. Graeff-Teixeira (2003), Drug trials for treatment of human angiostrongyliasis. *Journal of the* São Paulo Institute *of Tropical* Medicine, 45(4): 179-184

35- Michiels E.A., S.S. Mazor (2010), Toddler with seizures due to ingesting camphor at an Indian celebration. *Pediatric Emergency Care*, 26(8): 574-5.

36- Millet Y., J. Jouglard, M.D. Steinmetz, P. Tognetti, P. Joanny, J. Arditti (1981), Toxicity of some essential plant oils. Clinical and experimental study. *Clinical Toxicology*, 18(12): 1485-98.

37– Mitra S.K., A. Sunitha, V. Kumar, R. Pooranesan, S. Satyarup (1997), Multicentric trial on the effect of V– Gel (Pdp–959gel) invaginiyis. *The Indian Practitioner*, 50: 951-3.

38- Mohammadpoor S.K, M. Yari, A.A.H. Roustaeian, S. Masoudi (2002), Chemical constituents of the essential oil of *Artemisia aucheri* Boiss a species endemic to Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 14(2): 122-123.

39- Park T.J, H.K. Seo, B.J. Kang, K.T. Kim (2001), Noncompetitive inhibition by camphor of nicotinic acetylcholine receptors. *Biochemical Pharmacology*, 61(7): 787-793.

40- Schwabe K., U. Ebert, W. Loscher (2004), The central piriform cortex: anatomical connections and anticonvulsant effects of Gaba elevation in the kindling model. *Euroscience*, 126: 727-747.

41- Siegel E., S. Wason (1986), Camphor toxicity. *Pediatric Clinics of North America*, 33(2): 375-9

42- Spinella M. (2001), Herbal medicines and epilepsy: The potential for benefit and adverse effects. *Epilepsy and Behavior*, 2: 524-532.

43- Sun X.Y., C.X. Wei, X.Q. Deng, Z.G. Sun, Z.S. Quan (2010), Evaluation of the anticonvulsant activity of 6-(4-chlorophenyoxy)-tetrazolo [5,1-A] phthalazine in various experimental seizure models in mice. *Pharmalogical Reports*, 62: 273-277.

44- Yamane M.A., A.C. Williams, B.W.J. Barry (1995), Pharmacology, 47(12a): 978-89.

45- Zapata-Sudo G., T.C. Mendes, M.A. Kartnaller, T.O. Fortes, N.F. Freitas, M.A. Kaplan, R.T. Sudo (2010), Sedative and anticonvulsant activities of methanol extract of *Dorstenia arifolia* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 1930: 9-12.

46- Ziyyat A.L. (1997), Phytotherapy of hypertension and diabetes in *Oriental Journal of Ethnopharmacology*, 58: 45-54.