

Assessment of Aqueous Extract of *Humulus Lupulus* Effects on Seizure Induced by Intraperitoneal Injection of Pentylenetetrazole in Mice

Simin Namvar Aghdash*, Soheila Nasirifard

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

Article Info:

Received: 27 Mar 2015

Accepted: 17 May 2015

ABSTRACT

Introduction: Epilepsy is one of the most common disorders of the brain, affecting at least 50 million persons worldwide. Despite a variety of current antiepileptic drugs, research for discovering new drugs with more efficacies and less side effects has been continued. Herbal medicine has various natural substances and proper context for this type of research. The aim of this study was to investigate the effect of *Humulus lupulus* (Hops) extract on seizure attacks in an experimental animal model. **Materials and Methods:** 40 male mice have been chosen randomly and divided into 5 groups; including control group, sham group, and three experimental groups. Treated mice received aqueous extract of *Humulus lupulus* via gavage at doses of 200, 400, and 600 mg/kg for 4 weeks. Thirty minutes after gavage with different doses of the herb or distilled water (sham mice), pentylenetetrazole (PTZ; 45mg/kg) was injected intraperitoneally. Animals immediately transferred to a special cage and the seizure behaviors were recorded by a camera during a 25 minutes period. **Results:** Data analysis indicated that the aqueous extract of *Humulus lupulus* had a significant inhibitory effect on PTZ-induced seizure. Treatment with *Humulus lupulus* significantly increased the latency of seizure onset, decreased the intensity of seizure, and seizure duration. **Conclusion:** The attained results showed that Hops extract has anticonvulsant effect on PTZ-induced seizure and may be useful for treatment of epilepsy.

Key words:

1. Seizures
2. Epilepsy
3. Pentylenetetrazole

* **Corresponding Author:** Simin Namvar Aghdash

E-mail: Siminnamvar2@gmail.com

ارزیابی اثرات عصاره آبی گیاه رازک بر تشنجهای ناشی از تزریق داخل صفاقی پنتیلن تترازول در موش های سوری

سیمین نامور آغداش*، سهیلا نصیری فرد

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۲۷ اردیبهشت ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۷ فروردین ۱۳۹۴

چکیده

مقدمه: صرع یکی از شایع ترین اختلالات مغزی است که حداقل ۵۰ میلیون نفر از جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار می دهد. علی رغم یک تنوعی از داروهای ضد تشنج فعلی، تحقیقات برای کشف داروهای جدید با بیشترین اثربخشی و کمترین عوارض جانبی ادامه یافته است. طب گیاهی، مواد طبیعی متنوع و زمینه مناسبی برای این گونه تحقیقات دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره گیاه رازک بر حملات تشنجی در یک مدل حیوانی آزمایشگاهی بود. **مواد و روش ها:** در این مطالعه ۴۰ سر موش سوری نر به طور تصادفی انتخاب شدند و به ۵ گروه تقسیم شدند؛ شامل گروه کنترل، گروه شم و ۳ گروه آزمایش. موش های تحت درمان عصاره آبی رازک را از طریق گاواژ در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۴ هفته دریافت کردند. ۳۰ دقیقه بعد از گاواژ با دوزهای مختلف گیاه یا آب مقطر (موش های شم) پنتیلن تترازول (PTZ ۴۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. حیوان ها بلافاصله به قفس ویژه ای منتقل شدند و رفتارهای تشنجی توسط یک دوربین به مدت ۲۵ دقیقه ثبت شد. **یافته ها:** آنالیز داده ها نشان داد که عصاره آبی رازک یک اثر مهاري معنی داری بر تشنجهای القاء شده توسط PTZ دارد. درمان با رازک تأخیر شروع تشنج را به طور معنی داری افزایش، شدت تشنج و طول مدت تشنج را کاهش داد. **نتیجه گیری:** نتایج به دست آمده نشان دادند که عصاره رازک اثر ضد تشنجی بر تشنج القاء شده توسط PTZ دارد و ممکن است برای درمان صرع مفید باشد.

کلید واژه ها:

۱. تشنج
۲. صرع
۳. پنتیلن تترازول

* نویسنده مسئول: سیمین نامور آغداش

آدرس الکترونیکی: Siminnamvar2@gmail.com

مقدمه

صرع که در زبان لاتین به آن اپی‌لیسی^۱ هم می‌گویند از واژه یونانی Epilambanien به معنای حمله کردن یا تصرف کردن (Seize) گرفته شده است و در اثر عدم تعادل بین نورون‌های تحریکی و مهارتی به وجود می‌آید (۱). انواع مختلفی از مدل‌های حیوانی برای مطالعه صرع وجود دارد. کیندلینگ^۲ در حال حاضر به عنوان اولین و مناسب‌ترین روش تجربی برای مطالعه مکانیسم‌های اپی‌لپتوژنز^۳، تشنج موضعی و پلاستیسیته نورونی استفاده می‌شود (۲). بر اساس نوع محرک، کیندلینگ به دو نوع اصلی شامل کیندلینگ الکتریکی و شیمیایی تقسیم شده است. کیندلینگ شیمیایی نسبت به الکتریکی آسان‌تر است و مدت زمان کمی برای انجام آن نیاز است و نیاز به جراحی و کاربرد الکترود ندارد (۳).

نخستین و فراوان‌ترین ترکیب شیمیایی تشنج‌زای سیستمیک مورد استفاده، پنتیلن تترازول (PTZ)^۴ است (۴). PTZ می‌تواند از سد خونی - مغزی عبور کند و باعث تحریک مغزی و اختلالات یادگیری از طریق اثر بر روی کانال‌های کلری نورون‌ها شود (۵). کیندلینگ به وسیله PTZ شامل استفاده منظم و پشت سر هم دوزهای زیر آستانه‌های آن می‌باشد که این تحریکات مکرر با گذشت زمان سبب تشنجات رفتاری می‌شود و به تدریج بعد از چند تزریق سیستمیک، بر شدت تشنجات افزوده شده و تقویت می‌یابند و در نهایت به حملات یا تشنجات تونیک - کلونیک منجر می‌شوند (۶).

امروزه استفاده از داروهای گیاهی به دلیل عوارض ناشی از سمیت داروهای ضد صرع و عدم دستیابی به اثر درمانی مطلوب گسترش زیادی یافته است و پرداختن به گیاهان دارویی قسمتی از برنامه‌های سازمان بهداشت جهانی^۵ در زمینه سیاست دارویی است. برای درمان تشنج نیز از گیاهان بسیاری در طب سنتی از گذشته دور تاکنون استفاده شده است (۷-۹).

گیاه هومولوس لوپولوس^۶ از تیره شاهدانگان^۷ می‌باشد و در زبان فارسی به آن رازک می‌گویند. رازک یک گیاه علفی، دارویی، بالارونده، چندساله و دو پایه است. فقط گل‌های ماده رازک مصارف دارویی و صنعتی دارند زیرا گل‌های نر کیفیت مطلوبی (از نظر مقدار و نوع ماده مؤثر) ندارند. گل‌های ماده گیاه رازک به صورت مخروط‌های سفید مایل به حنایی با بویی معطر و مطبوع و طعمی تلخ دیده می‌شوند و به آن‌ها مخروط‌های ماده^۸ یا استروبیل^۹ هم می‌گویند و محتوای مواد مؤثره گیاه نظیر ترکیبات رزینی آلفا، بتا اسیدهای تلخ، اسانس‌های میرسن^{۱۰}، بتاکاریوفیلن^{۱۱}، هومولون^{۱۲} و فارنزن است (۱۰). با در نظر گرفتن ترکیبات گیاه رازک و اثرات آن بر روی سیستم عصبی و همچنین با نظر به اینکه رازک به طور سنتی به عنوان آرام‌بخش

استفاده می‌شود (۱۱)؛ از این روبه نظر می‌رسد که این گیاه بتواند در درمان صرع و تشنج نیز مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط آزمایش

این مطالعه تجربی در دانشگاه شهید مدنی آذربایجان بر روی ۴۰ سر موش سوری جنس نر با وزن تقریبی 32 ± 2 گرم انجام شد. موش‌ها در ۵ گروه ۸ تایی در قفس‌های جداگانه در اتاقی با حرارت 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰٪ و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. آب و غذای استاندارد و کافی به جزء هنگام القای تشنج در اختیار آن‌ها قرار داشت. حیوانات هر هفته دو بار وزن می‌شدند و مقدار تجویز عصاره گیاهی و دارو بر حسب وزن جدید آن‌ها تغییر می‌کرد. در تمام مراحل انجام کار، اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب IASP^{۱۳} که عضو سازمانی آن می‌باشیم، رعایت شده است.

تهیه عصاره آبی گیاه رازک

گیاه رازک بومی مناطق شمال ایران از جمله منطقه ارسباران^{۱۴} است. زمان برداشت گل‌های ماده گیاه اغلب از تیر تا اواخر شهریور است. گل‌ها باید سریعاً به وسیله دستگاه‌های ویژه برداشته و خشک شوند. از این رو این گیاه منطقه ارسباران از عطاری مشهور در تبریز خریداری گردید و ناخالصی‌های آن جداسازی و گل‌ها با آسیاب برقی به صورت پودر درآورده شدند. برای تهیه عصاره، حدود ۲۰۰ گرم از پودر آسیاب شده گیاه در ۲ لیتر آب مقطر استریل به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. سپس به مدت ۵ ساعت بر روی دستگاه Hot Plate Magnetic Stirrer قرار داده شد تا در اثر حرارت بدون اینکه بجوشد با هم به خوبی مخلوط شوند. بعد از عبور از کاغذ صافی به وسیله دستگاه Rotary Evaporator تغلیظ و در دستگاه Freeze Drying به طور کامل خشک گردید و در نهایت ۱۵ گرم پودر عصاره خشک حاصل شد. حدود ۶۰۰۰ میلی‌گرم از پودر خشک در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل شد، به طوری که هر میلی‌لیتر از محلول ذخیره دارای ۳۰ میلی‌گرم از پودر عصاره بود (۱۲). در این آزمایش از روش گاواژ^{۱۵} برای تجویز دوزهای مختلف عصاره گیاه رازک استفاده شده است.

ایجاد تشنج

مدل مطالعاتی صرع در این تحقیق، کیندلینگ شیمیایی با PTZ بود. PTZ (ساخت شرکت سیگما) در محلول نرمال سالین ۰/۹ درصد حل شد و با دوز ۴۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. میزان دوز برای

¹ Epilepsy² Kindling³ Epileptogenesis⁴ Pentylene tetrazole⁵ World Health Organization⁶ Humulus lupulus⁷ Cannabaceae⁸ Cones⁹ Strobile¹⁰ Myrcene¹¹ Beta-Caryophyllene¹² Humulone¹³ International Association for the Study of Pain¹⁴ Arasbaran¹⁵ Gavage

یافته‌ها

اثر دوزهای مختلف رازک بر پیشرفت مراحل تشنج

در نمودار ۱ پیشرفت مراحل تشنج در گروه‌های درمان و شم با گروه کنترل در تمام نوبت‌های تزریق با هم مقایسه شدند. همان‌طور که در نمودار ملاحظه می‌شود رازک در گروه‌های درمان اثر مهارکنندگی بر روند کیندلینگ از نوبت تزریق ۱۲-۳ اعمال کرده است. هیچ‌کدام از گروه‌های درمان مرحله ۴ و ۵ تشنج را نشان نداده‌اند. دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به دوز ۲۰۰ و ۶۰۰ اثر مهارکنندگی بیشتری را اعمال کرده است، که می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که شاید مقادیر زیاد رازک به علت اثرات سمی آن در مهار تشنج خیلی مؤثر نباشد و مقادیر کم نیز مواد مؤثر کافی نداشته باشند. اختلاف معنی‌داری در پیشرفت مراحل تشنج بین گروه‌های کنترل و شم با گروه‌های درمان وجود دارد ($P < 0.05$).

اثر دوزهای مختلف رازک بر مدت زمان لازم برای شروع تشنج در نمودار ۲ مدت زمان لازم برای شروع تشنج در گروه‌های درمان و شم با گروه کنترل مقایسه شدند. در این نمودار میانگین کل تمام روزها برای شروع تشنج در هر گروه به دست آمد و سپس مقایسه بین گروه‌ها انجام شد.

همان‌طور که در نمودار مشاهده می‌شود مدت زمان لازم برای شروع تشنج در گروه‌های درمان شده با رازک در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ (2.32 ± 1.06 ، 3.93 ± 1.01 و 4.65 ± 0.05) دقیقه نسبت به گروه‌های کنترل (1.04 ± 0.03) و شم (0.03 ± 0.03) افزایش یافته است. دوز ۶۰۰ نسبت به دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ اثر مهارکنندگی بیشتری بر شروع تشنج نشان داده‌اند. آنالیز آماری نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های درمان با گروه‌های کنترل و شم وجود دارد ($P < 0.05$).

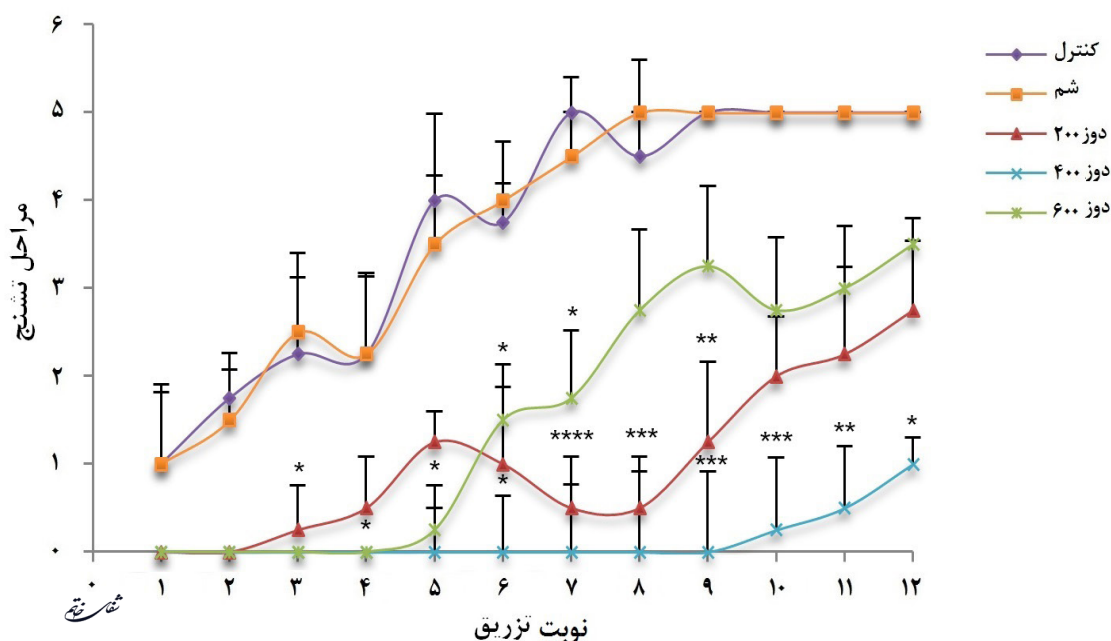
همه تزریق‌ها باید در حد ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم ثابت نگه داشته شود. بعد از ۳۰ دقیقه از گاوآژ، آب مقطر به گروه شم و عصاره گیاهی در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ به گروه‌های تحت درمان داده شد. سپس به کلیه موش‌ها محلول PTZ در ۱۲ نوبت و هر ۴۸ ساعت یکبار تزریق شد و بلافاصله به قفس مخصوص منتقل شدند. در طی ۲۵ دقیقه رفتارهای تشنجی توسط دوربین فیلمبرداری گردید و سپس مراحل مختلف تشنج طبق طبقه‌بندی زیر مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۳):

- مرحله صفر: عدم پاسخ
- مرحله ۱: حرکات و انقباضات عضلات صورت، دهان و گوش‌ها
- مرحله ۲: موج‌های انقباضی بدن
- مرحله ۳: انقباض میوکلونیک بدن و ایستادن روی دو پا
- مرحله ۴: کلونوس اندام جلویی و افتادن حیوان به پهلو
- مرحله ۵: از دست دادن تعادل و افتادن به پشت و تشنج‌های تونیک و کلونیک ژنرالیزه
- مرحله ۶: مرگ حیوان

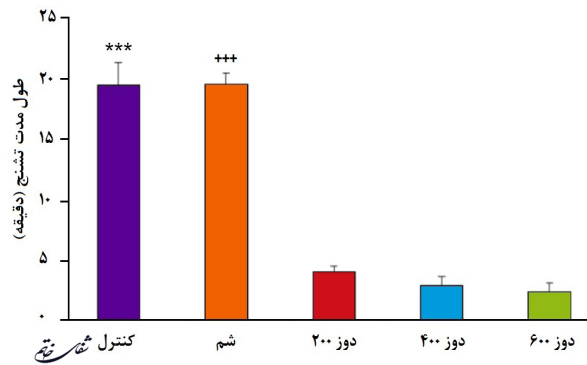
همچنین مدت زمان لازم برای شروع تشنج (نشان دادن مرحله اول تشنج) اندازه‌گیری شد و طول مدت تشنج یعنی فاصله زمانی بین شروع و خاتمه تشنج نیز ضبط شد.

آنالیز آماری

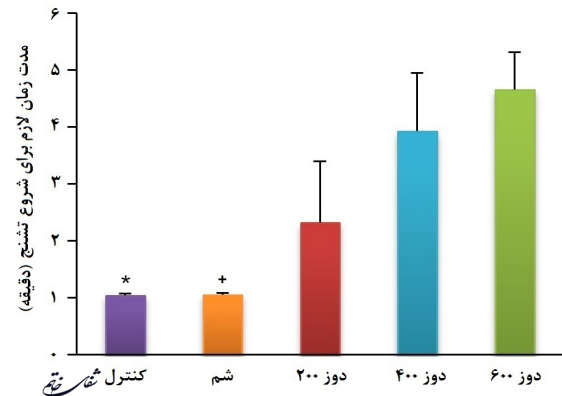
در این مطالعه نتایج به‌دست‌آمده به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است. مقایسه آماری بین گروه‌های آزمایشی با نسخه ۲۲ نرم افزار SPSS با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA one way) و آزمون تعقیبی Tukey انجام شد. اختلاف کمتر از $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.



نمودار ۱- اثر عصاره آبی دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم وزن بدن گیاه رازک بر مراحل تشنج. بین گروه‌های کنترل و شم با گروه‌های درمان در نوبت‌های تزریق ۱۲-۳ اختلاف معنی‌داری وجود دارد. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و شم در هر نوبت تزریق می‌باشد.



نمودار ۳- اثر عصاره آبی دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن گیاه رازک بر طول مدت تشنج. علامت *** نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه های درمان با گروه کنترل و علامت +++ نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه های درمان با گروه شم با سطح معنی داری $P < 0.001$ می باشد.



نمودار ۲- اثر عصاره آبی دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن گیاه رازک بر مدت زمان شروع تشنج. علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه های درمان با گروه کنترل و علامت + نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه های درمان با گروه شم با سطح معنی داری $P < 0.05$ می باشد.

اثر دوزهای مختلف رازک بر طول مدت تشنج

همان طور که در نمودار ۳ نشان داده شده است، رازک به طور بارزی طول مدت تشنج را نسبت به گروه های کنترل و شم کاهش داده است. اختلاف معنی داری بین گروه های درمان با گروه های کنترل و شم وجود دارد ($P < 0.001$).

بحث و نتیجه گیری

نتایج آزمایش ما نشان می دهد که دوزهای مورد استفاده در این تحقیق توانستند تا حدودی جلوی تشنج و صرع را بگیرند و دارای اثرات ضد تشنجی باشند. دوز ۴۰۰ بیشترین تأثیر را در کاهش شدت تشنج و دوز ۶۰۰ بیشترین تأثیر را بر مدت زمان لازم برای شروع تشنج و بر طول مدت تشنج داشت. انتظار بر این بود که با افزایش دوز گیاه اثرات ضد تشنجی آن نیز افزایش پیدا کند ولی دوز ۴۰۰ اثر مہاری بیشتری بر پیشرفت مراحل تشنج نسبت به دوز ۶۰۰ داشت. برای دست یابی بر دلیل این موضوع باید پژوهش های تکمیلی مانند مطالعات فیتوشیمیایی و مولکولی انجام شود. با آزمایش های فیتوشیمی می توان میزان دقیق ترکیبات گیاه و تغییر نسبت آن ها با تغییر دوز را به دست آورد. سپس با استفاده از ترکیبات به دست آمده و مطالعات مولکولی بافت مغزی می توان فهمید که کدام ترکیب بر کدام مکانیسم مؤثر در ایجاد صرع تأثیر بیشتری داشته است.

در مورد اثر گیاه رازک در درمان تشنج و صرع، در مرحله اول باید مکانیسم ایجاد صرع بررسی شود. پژوهش ها نشان می دهند که به دنبال کیندلینگ، فعالیت مسیرهای گلوتاماترژیک افزایش و یا فعالیت مسیرهای گابائترژیک کاهش می یابند و از این طریق سبب ایجاد صرع می شوند (۱۴). بنابراین یکی از مکانیسم های اصلی داروهای ضد صرع تقویت مهار سیناپسی با واسطه GABA^{۱۶} است. با در نظر گرفتن نقش PTZ در ایجاد صرع احتمال دارد که مولکول های شیمیایی موجود در عصاره رازک باعث کاهش فعالیت گیرنده های NMDA (مسیر گلوتاماترژیک) یا افزایش فعالیت مسیرهای گابائترژیک شوند، در نتیجه منجر به تضعیف تشنجات صرعی ناشی از PTZ گردند.

مراحل پیش سیناپسی و پس سیناپسی متعددی در عملکرد سیناپسی GABA از جمله سنتز، رهایش GABA، ناقلین GABA و فعالیت زیر واحدهای گیرنده های GABA_A و GABA_B با صرع وجود دارند (۱۵). تحقیقاتی نظیر اثر استرس های اکسیداتیو و آنتی اکسیدان ها در صرع نشان داده اند که آسیب های ایجاد شده به وسیله رادیکال های آزاد و استرس های اکسیداتیو می توانند زمینه ساز بروز تشنج باشند. این رادیکال های آزاد به وسیله غیرفعال سازی مستقیم گلوتامین سنتز و افزایش غیر طبیعی گلوتامات باعث تحریک می شوند و همچنین به خاطر مهار آنزیم گلوتامات دکربوکسیلاز^{۱۷} منجر به کاهش GABA و ایجاد تشنج می شوند (۱۶).

آنتی اکسیدان ها باعث کاهش این استرس های اکسیداتیو و رادیکال های آزاد در سلول های مغزی می شوند و اثرات ضد تشنجی آن ها در پژوهش های زیادی از جمله مطالعه اثر آنتی اکسیدان در درمان صرع نشان داده شده اند (۱۶، ۱۷). گیاه رازک نیز دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است که این فعالیت ناشی از وجود ترکیبات فیتوشیمیایی آن به ویژه فلاونوئیدها است (۱۸).

گزارش شده است که فلاونوئیدها یک گروه از ترکیبات پلی فنیک با خصوصیات شناخته شده ای از قبیل مهار رادیکال های آزاد، مهار آنزیم های اکسیداتیو و هیدرولیتیک و فعالیت ضد التهابی هستند (۱۹، ۲۰). بنابراین با توجه به نقش آنتی اکسیدان ها در درمان تشنج و صرع به نظر می رسد که بخشی از اثرات ضد تشنجی گیاه رازک به خاطر اثرات آنتی اکسیدانی آن باشد. از سوی دیگر روتین^{۱۸} از مواد فلاونوئیدی موجود در گیاهانی نظیر رازک و بابونه است (۲۱).

بررسی اثرات ضد تشنجی تجویز روتین به داخل بطن مغز در موش های صحرایی تیمار شده با PTZ نشان داده است که روتین دارای اثرات ضد تشنجی می باشد که شاید از راه مدولاسیون آلوستریک^{۱۹} مثبت کمپلکس گیرنده GABA_A این اثرات خود را اعمال می کند (۲۲). از طرف دیگر پژوهش های آزمایشگاهی نشان داده اند که روتین اثر مہاری بر آنزیم های

^{۱۶} gamma-Aminobutyric acid

^{۱۷} Glutamate decarboxylase

^{۱۸} Rutin

^{۱۹} Allosteric

مغز موش‌های صحرایی به‌وسیلهٔ مهار این آنزیم افزایش می‌دهد (۲۴، ۲۳). از این رو مهار هر دو آنزیم ذکر شده به‌وسیلهٔ روتین موجب ازدیاد میزان GABA شده و ممکن است کاربرد درمانی در اختلالات نورولوژیکی از جمله تشنج و صرع داشته باشد.

GABA ترانس آمیناز (GABA-T) و سوکسینیک سمی آلدئید دهیدروژناز (SSADH)^{۲۰} دارد. همچنین بررسی افزایش سطح GABA از طریق کاهش ترانس آمیناز توسط گیاه رازک مشخص کرده است که عصارهٔ آبی رازک، سطح GABA را در

منابع

- Magiorkinis E, Sidiropoulou K, Diamantis A. Hallmarks in the history of epilepsy: epilepsy in antiquity. *Epilepsy Behav.* 2010; 17(1):103-8.
- McNamara JO, Byrne MC, Dasheiff RM, Fitz JG. The kindling model of epilepsy: a review. *Prog Neurobiol.* 1980; 15(2): 139-59.
- Louis ED, Williamson PD, Darcey T. Experimental models of chronic focal epilepsy: a critical review of four models. *Yale J Biol Med.* 1987; 60(3): 255-72.
- De Deyn PP, D'Hooge R, Marescau B, Pei YQ. Chemical models of epilepsy with some reference to their applicability in the development of anticonvulsants. *Epilepsy Res.* 1992; 12(2): 87-110.
- MacDonald RL, Barker JL. Pentylentetrazol and penicillin are selective antagonists of GABA-mediated post-synaptic inhibition in cultured mammalian neurones. *Nature.* 1977; 267: 720-1.
- De Sarro, Palme E, Costa N, Marra R, Gratteri S, De Sarro A, et al. Effects of compounds acting on GABA B receptors in the pentylentetrazole kindling model of epilepsy in mice. *Neuropharmacol.* 2000; 39(11): 2147-61.
- Kim HJ, Jee EH, Ahn KS, Choi HS, Jang YP. Identification of marker compounds in herbal drugs on TLC with DART-MS. *Arch Pharm Res.* 2010; 33(9): 1355-9.
- Reyes-García V. The relevance of traditional knowledge systems for ethnopharmacological research: theoretical and methodological contributions. *J Ethnobiol Ethnomed.* 2010; 6: 32-6.
- Moussally K, Oraichi D, Bérard A. Herbal products use during pregnancy: prevalence and predictors. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2009; 18(6): 454-61.
- Shishehgar R, Monadi A. Study of sedation and pre-anesthetic effects of polar, semi-polar and non-polar fractions of hop (*Humulus lupulus* L.) extract compared with diazepam in rats. *Middle East J Sci Res.* 2013; 16(6): 762-8.
- Franco L, Sánchez C, Bravo R, Rodríguez A, Barriga C, Juárez JC. The sedative effects of hops (*Humulus lupulus*), a component of beer, on the activity/rest rhythm. *Acta Physiol Hunga.* 2012; 99(2): 133-39.
- Rezvani ME, Roohbakhsh A, Mosaddegh MH, Esmailidehaj M, Khaloobagheri F, Esmaili H. Anticonvulsant and depressant effects of aqueous extract of *Carum copticum* seeds in male rats. *Epilepsy Behav.* 2011; 22(2): 220-5.
- Palizvan MR, Ghaznavi-Rad E. Naloxan enhanced inhibitory effect of verapamil on seizure induced by pentylentetrazol in male rats. *Res Pharm Sci.* 2014; 9(4): 295-9.
- Gelfuso EA, Liberato JL, Cunha AO, Mortari MR, Beleboni RO, Lopes NP. Parawixin2, a novel non-selective GABA uptake inhibitor from *Parawixia bistriata* spider venom, inhibits pentylentetrazole-induced chemical kindling in rats. *Neurosci Lett.* 2013; 543: 12-6.
- Olsen RW, Avoli M. GABA and epileptogenesis. *Epilepsia.* 1997; 38(4): 399-407.
- Sudha K, Rao AV, Rao A. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy. *Clin Chim Acta.* 2001; 303(1-2): 19-24.
- Nemade ST, Melinkeri RR. Oxidative and antioxidative status in epilepsy. *Paravara Med Rev.* 2010; 2(4): 8-10.
- Krofta K, Mikyška A, Hašková D. Antioxidant characteristics of hops and hop products. *J Inst Brew.* 2008; 114(2): 160-6.
- Kowalczyk D, Świeca M, Cichocka J, Gawlikziki U. The phenolic content and antioxidant activity of the aqueous and hydroalcoholic extracts of hops and their pellets. *J Inst Brew.* 2013; 119(3): 103-10.
- Singh LR, Singh OM. *Datura stramonium*: An overview of its phytochemistry and pharmacognosy. *J Pharmacogn Phytochem.* 2013; 5(3): 143-8.
- ShahBN, PanchalAM, ModiD. Phyto-parmacological profile of *Humulus Lupulus*. *Pharmacologyonline.* 2010; 1: 719-36.
- Nassiri-Asl M, Shariati-Rad S, Zamansoltani F. Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008; 32(4): 989-93.
- Weeks SB. Formulations of dietary supplements and herbal extracts for relaxation and anxiolytic action. *Med Sci Monit.* 2009; 15(11): RA256-62.
- TaoYH, Jiang DY, Xu HB, Yang Xl. Inhibitory effect of *Erigeron breviscapus* extract and its flavonoid components on GABA shunt enzymes. *Phytomedicine.* 2008; 15(1-2): 92-7.

²⁰ Succinic semialdehyde dehydrogenase