

## بررسی اثر عصاره اتانولی گیاه بابونه بر اختلالات هماهنگی - حرکتی در موش صحرایی و تعیین ویژگی های آنتی اکسیدانی گیاه بابونه

زهرا ربیعی (MSc)<sup>1</sup>، زهرا علی بابایی (MSc)<sup>1</sup>، محمود رفیعان کوبایی (PhD)<sup>1\*</sup>

1- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

دریافت: 93/2/28، اصلاح: 93/4/4، پذیرش: 93/5/15

### خلاصه

**سابقه و هدف:** آلزایمر یک بیماری پیشرونده زوال حافظه و دیگر کارکردهای مهم ذهنی است و از معمول ترین علت دمانس (زوال عقلی) می باشد. اکثر داروهای موجود بر این اختلال مغزی کم اثر هستند. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره اتانولی گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) بر تعادل و یادگیری حرکتی در موش های صحرایی دریافت کننده اسکوپولامین و موش های صحرایی سالم می باشد.

**مواد و روشها:** در این مطالعه تجربی از 42 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار که به 6 گروه 7 تایی تقسیم شدند، استفاده گردید. موش های صحرایی در این آزمایش 1 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن اسکوپولامین، گروه کنترل آب مقطر و گروه های مدل فراموشی به طور همزمان علاوه بر اسکوپولامین، عصاره گیاه بابونه را با دوز 200 و 500 میلی گرم به مدت 20 روز و گروه های سالم فقط عصاره دریافت کردند. تعادل حرکتی موش های صحرایی با دستگاه روتارود سنجیده شد.

**یافته ها:** مدت زمان مقاومت و ماندن بر روی گردونه روتارود برای گروه کنترل 169/51 و برای گروه اسکوپولامین 46/33 ثانیه بود ( $p < 0/05$ ). میزان مقاومت و ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود در گروه اسکوپولامین که عصاره با دوز 200 میلی گرم دریافت کرد (119/5 ثانیه) در مقایسه با گروه اسکوپولامین (SCOP) به طور معنی داری افزایش یافت ( $p = 0/044$ ). عصاره گیاه بابونه با دوزهای 200 و 500 میلی گرم در گروه های سالم که فقط عصاره دریافت کردند به طور چشمگیری مدت زمان مقاومت و ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود (168/3 و 263 ثانیه به ترتیب) را در مقایسه با گروه اسکوپولامین افزایش داد ( $p = 0/000$ ,  $p = 0/000$ ).

**نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره گیاه بابونه احتمالا به واسطه خاصیت آنتی اکسیدانی بالا باعث بهبودی تعادل حرکتی در موش های صحرایی دریافت کننده اسکوپولامین می شود.

**واژه های کلیدی:** اختلالات هماهنگی- حرکتی، گیاه بابونه، اسکوپولامین، موش صحرایی.

### مقدمه

چرب اشباع نشده است که بویژه نسبت به حملات رادیکالهای آزاد آسیب پذیر هستند. تصور می شود پراکسیداسیون لیپیدی به صورت برجسته و به ویژه فرم مخرب آسیب اکسیداتیو نورونی است که به غشا آسیب رسانده و چندین محصول ثانویه مختلف تولید می کند و هر دو فرم شکافته شده و حلقه ای شده اسیدهای چرب اکسیژنه شده دارای اثرات نورو توکسیک هستند (6). اشکال نیمه کاهش یافته اکسیژن در مغز در طول تنفس سلولی تولید می شوند و در طی آسیب مغزی تولید این اشکال نیمه کاهش یافته شدت می گیرد. گزارش شده است که این افزایش تولید رادیکال های آزاد باعث آسیب غشای سلولی، آنزیم ها، DNA، لیپید ها و پروتئین ها و اختلال عملکرد آنها می شود (7). استرس اکسیداتیو اختلاف بین میزان تولید رادیکال آزاد و حذف از طریق مکانیسم آنتی اکسیدانی درون زا است مانند آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلو تاتیون پراکسیداز

بیماری آلزایمر شایع ترین علت دمانس در میان سالمندان است که به تدریج، موجب پیدایش نقصهای متعدد همچون تخریب حافظه، زبان پریشی، کنش پریشی، اختلالات تعادلی و حرکتی می شود (1). ممکن است بیمار مشکلاتی در هماهنگی عضلات و حفظ تعادل داشته باشد. این مشکلات به دلیل خود بیماری یا برخی داروهای مصرفی ایجاد می شود (1). تحقیقات بالینی نشان می دهد استرس اکسیداتیو در پاتوفیزیولوژی زوال عقل در میان دیگر اختلالات عصبی وابسته به سن نقش دارد (2). یکی از عواملی که در پاتوژنز بیماری آلزایمر نقش مؤثری بازی می کند، استرس اکسیداتیو بوده که یک عدم تعادل بین رادیکالهای آزاد و سیستم آنتی اکسیدان است (3). رادیکالهای آزاد اکسیژن می توانند به پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک و غشاهای چربی حمله کنند و در نتیجه تمامیت و عملکرد سلول را مختل نمایند (4و5). بافت مغز حاوی مقدار زیادی اسیدهای

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره 1756 دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد می باشد.

\* مسئول مقاله: دکتر محمود رفیعان کوبایی

آدرس: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی. تلفن: 038-33346692

E-mail: rafieian@yahoo.com

زلف به وسیله قیف بوخنر صاف شده و در نهایت جمع آوری شد. عصاره به دست آمده توسط دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ گردیده و سپس با قرار دادن در آن 40 درجه سانتیگراد خشک گردید. جهت تهیه غلظتهای مختلف، پودر خشک عصاره توزین شده و توسط سرم فیزیولوژی به فرم سوسپانسیون رقیق شد و سپس به موش های صحرایی به صورت داخل صفاقی تزریق شد (27).

این مطالعه از نوع تجربی بوده و حیوانات با روش تصادفی ساده در گروههای مختلف آزمایشی قرار گرفتند. در این مطالعه از 42 سر موش صحرایی بالغ نر نژاد ویستار که به 6 گروه 7 تایی تقسیم شده و با وزن 200 تا 250 گرم که از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند، استفاده گردید. حیوانات حین و قبل از مطالعه در شرایط دوازده ساعته تاریکی - روشنایی در دمای 22 درجه سلسیوس نگهداری شدند و با غذای استاندارد موش های صحرایی تهیه شده از انستیتو پاستور ایران تغذیه شدند. حیوان ها به گروههای زیر تقسیم شدند:

**1. گروه کنترل:** گروهی که فقط آب مقطر دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند.

**2. گروه اسکوپولامین (SCOP):** گروهی که اسکوپولامین را با دوز 1 میلیگرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند.

**3. گروه دریافت کننده عصاره 200 mg/kg و اسکوپولامین 1 mg/kg (SCOP+200MC):** این گروه درمانی اسکوپولامین 1 میلیگرم را دریافت کرده و عصاره با دوز 200 میلی گرم را بلافاصله بعد از دریافت اسکوپولامین به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند.

**4. گروه دریافت کننده عصاره 500 mg/kg و اسکوپولامین 1 mg/kg (SCOP+500MC):** این گروه درمانی اسکوپولامین 1 میلیگرم را دریافت کرده و عصاره با دوز 500 میلی گرم را بلافاصله بعد از دریافت اسکوپولامین به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند.

**5. گروه سالم با دوز 200 mg/kg عصاره (Intact+200MC):** این گروه فقط به مدت 20 روز عصاره به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند.

**6. گروه سالم با دوز 500 mg/kg عصاره (Intact+500MC):** این گروه فقط به مدت 20 روز عصاره به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند.

**آزمون هماهنگی تعادلی - حرکتی با دستگاه روتارود:** قدرت حفظ تعادل و مقاومت حرکتی موش های صحرایی با استفاده از دستگاه روتارود مخصوص موش صحرایی شرکت برج صنعت مدل 6700 mt مورد بررسی قرار گرفت. روتارود دستگاهی است که با استفاده از آن مقاومت حرکتی و حفظ تعادل حیوانات سنجیده می شود. این دستگاه شامل یک گردونه است که از 0-40 rpm سرعت چرخیدن آن می باشد. دستگاه روتارود تسمه ای دارد که با جا به جا کردن آن روی محل قرار گرفتن تسمه می توان سرعت چرخیدن گردونه را تنظیم کرد. در ابتدا جهت آشنایی حیوان با دستگاه، بر روی میله غلتان روتارود قرار گرفتند و حرکت کردن بر روی آن بر اساس پروتکل اصلی (سرعت چرخیدن 10 rpm با شتاب 7 rpm<sup>2</sup>) به آنها آموزش داده شد و 30 دقیقه بعد از آموزش تست تعادلی

(GSHPx) و کاتالاز، همچنین گلوپاتینون (GSH) و آسکوربات است (2). افزایش سطح مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان یکی از گونه های واکنشی اکسیداتیو یک شاخص معتبر پراکسیداسیون لیپیدی *in vivo* نشان داده شده است (3و2). اختلال در یادگیری و حافظه می تواند به صورت شیمیایی در حیوانات آزمایشگاهی توسط اسکوپولامین القاء شود. اسکوپولامین بلوک کننده گیرنده های موسکارینی استیل کولین است که به عنوان یک ابزار دارویی مفید در تولید یک مدل فراموشی عمل می کند (8). اسکوپولامین به طور قابل توجهی مالون دی آلدئید را در کورتکس و هیپوکامپ افزایش می دهد. افزایش استرس اکسیداتیو مغز بعد از مصرف اسکوپولامین ارزش فراموشی القا شده توسط اسکوپولامین را به عنوان یک مدل حیوانی ثابت می کند (7).

کاهش تعداد محل های اتصال N- متیل اسکوپولامین در حضور غلظتهای بالا از H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> به عنوان یک القاءگر پراکسیداسیون لیپیدی در قشر مغز رت مشاهده می شود که با کاهش سطح TBARS همراه است (9). تحریک نورونهای کولینرژیک در قاعده مغز جلویی و هیپوکامپ آثار توکسیک داشته و با واسطه از طریق تولید رادیکال های آزاد باعث آزاد شدن گلوپاتینون می شود. بنابراین نقش انتقال های عصبی کولینرژیک در ایجاد استرس اکسیداتیو کاملاً مشخص شده است (10). تحقیقات اخیر نتایج امیدوار کننده ای از اثر داروهای گیاهی با خواص آنتی اکسیدانی در درمان یا پیشگیری بیماری های مختلف از جمله مشکلات حافظه (11-13)، سکتة های مغزی (14-17)، مشکلات گوارشی (18و19)، دیابت (20و21)، قلبی - عروقی (22و23)، سرطان (24و25) و بسیاری دیگر از مشکلات از خود نشان داده اند. این اثرات اگرچه می توانند مربوط به مواد اختصاصی آنها باشد ولی اکثراً به خواص آنتی اکسیدانی آنها ارتباط داده شده اند. بابونه از گیاهان گلدار چند ساله است که در مناطق گسترده از جمله اروپا، آسیا و آفریقا رشد می کند و دارای خواص آنتی اکسیدانی است. بابونه گیاهی است دارای بویی معطر که در چمنزارها و زمین های شنی می روید و در حال حاضر در طب سنتی ایران به عنوان تسکین دهنده درد و تب و یک عامل ضد اسپاسم مورد استفاده قرار می گیرد (26). منشأ اصلی بابونه در نواحی مختلف مدیترانه بوده ولی امروزه در تمام جهان انتشار پیدا نموده است. قسمت مورد استفاده درمانی بابونه فقط کاپیتول های آن بوده که وقتی رسیده یا باز هستند جمع آوری می شوند. اثرات ضد دردی و ضد تشنجی این گیاه نیز به خواص آنتی اکسیدانی و فلاونوئیدهای موجود در گیاه نسبت داده شده است (26). این مطالعه با هدف بررسی اثر درمانی عصاره الکلی گیاه بابونه بر اختلالات هماهنگی - حرکتی ایجاد شده در اثر تزریق اسکوپولامین در موش های صحرایی نر دریافت کننده اسکوپولامین و موش های صحرایی سالم با استفاده از دستگاه روتارود انجام شد.

## مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی از گلهای تازه و خشک شده گیاه بابونه استفاده شد که در فصل بهار در منطقه چهارمحال و بختیاری جمع آوری شد و توسط گیاه شناس مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد شناسایی گردید و با شماره هرباریومی 423 ثبت شد. برای گلهای خشک شده گیاه بابونه به وسیله آسیاب برقی در حد ملایم پودر شد. 50 گرم از پودر حاصل با 500 میلی لیتر الکل اتیلیک 70% مخلوط شده و پس از گذشت 48 ساعت محتویات داخل

را بیان می کند. پس از آن غلظتی از عصاره که دارای درصد مهار رادیکالی 50 بود توسط نمودار محاسبه گردید. بدیهی است که هر چه این عدد کوچکتر باشد قدرت آنتی اکسیدانی یا مهار رادیکال های آزاد، بیشتری باشد. در این آزمایش به عنوان کنترل مثبت آنتی اکسیدان سنتزی هیدروکسی تولوئن بوتیل شده استفاده گردید و کلیه آزمایش ها دو بار تکرار شدند (32).

**آنالیز آماری:** برای تحلیل آماری داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود معنی داری از آزمون LSD جهت تعیین سطح تفاوت معنی داری بین گروه ها استفاده شد و  $p < 0/05$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

### یافته ها

**استاندارد سازی عصاره اتانولی بابونه (Matricaria chamomilla):** میزان ترکیبات فنولی، فلاونولی و فلاونوئیدی در عصاره بابونه به ترتیب 78/4، 26/5 و 47/6 میلی گرم بر گرم خشک عصاره است. **فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه بابونه:** میزان  $IC_{50}$  برای فعالیت مهار رادیکالی برای عصاره گیاه بابونه در جدول 1 گزارش شده است.

**جدول 1. مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه بابونه با بوتیلید هیدروکسی تولوئن به عنوان کنترل مثبت به روش DPPH (32)**

| نمونه                   | غلظت ( $\mu g/ml$ ) | درصد مهار رادیکالی DPPH ( $IC_{50}$ (%)) |
|-------------------------|---------------------|------------------------------------------|
| عصاره بابونه            | 80                  | 74.8                                     |
|                         | 70                  | 65.3                                     |
|                         | 60                  | 56.9                                     |
|                         | <b>50</b>           | <b>49.2 (<math>IC_{50}</math>)</b>       |
|                         | 40                  | 41.29                                    |
|                         | 30                  | 32.4                                     |
|                         | 25                  | 27.5                                     |
|                         | 20                  | 22.15                                    |
|                         | 15                  | 18                                       |
|                         | 10                  | 5.8                                      |
| بوتیلید هیدروکسی تولوئن | 20                  | 8.8                                      |
|                         | 50                  | 14.4                                     |
|                         | <b>100</b>          | <b>30.7 (<math>IC_{50}</math>)</b>       |
|                         | 250                 | 68.2                                     |
|                         | 500                 | 79.3                                     |
|                         | 700                 | 95.3                                     |

آزمون آماری نشان داد که اختلاف معنی داری بین گروه دریافت کننده اسکوپولامین (SCOP) و گروه کنترل در زمان تاخیر برای افتادن از دستگاه

انجام شد. در این بررسی سرعت چرخیدن rpm 10 با شتاب  $7 \text{ rpm}^2$  در نظر گرفته شد که تقریباً 11-10 دور در دقیقه است. در هر یک از گروههای آزمایشی، 1 ساعت بعد از تزریق عصاره، موشهای صحرایی بر روی گردونه دستگاه روتارود قرار گرفتند. مدت زمانی را که حیوان می توانست تعادل خود را حفظ و در مقابل حرکت گردونه مقاومت کند، بعنوان زمان مقاومت حیوان ثبت شد. حداکثر زمان مورد بررسی برای هر حیوان در این آزمون 300 ثانیه در نظر گرفته شد (28). این آزمایش سه بار تکرار شد و فاصله بین تکرارها 30 دقیقه بود و میانگین آنها گرفته شد.

**تعیین ترکیبات فنلی:** برای اندازه گیری ترکیبات فنلی به 0/1 میلی لیتر از عصاره رقیق شده (0/01 گرم در 10 میلی لیتر متانول 60 درجه) مقدار 0/5 میلی لیتر از محلول فولین سیوکالتیو اضافه گردید و پس از 3 تا 5 دقیقه مقدار 0/4 میلی لیتر از کربنات سدیم 7/5% اضافه شد. پس از 30 دقیقه آنکوباسیون در دمای اتاق جذب نمونه ها در مقابل بلانک آب مقطر قرائت گردید. همزمان با انجام آزمایش رقت های مختلف اسید گالیک تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه شد. جذب نمونه ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فنل تام هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید (29).

**تعیین ترکیبات فلاونوئید:** برای اندازه گیری ترکیبات فلاونوئید به طور خلاصه 0/5 میلی لیتر از محلول هر عصاره (0/01 گرم در 10 میلی لیتر متانول 60 درجه) با 0/5 میلی لیتر کلرید آلومینیوم 2% مخلوط و مقدار 3 میلی لیتر استات پتاسیم 5% به آنها اضافه گردید. پس از 40 دقیقه جذب نمونه ها در مقابل آب مقطر در طول موج 415 نانومتر قرائت گردید. همزمان با انجام آزمایش رقت های مختلف روتین تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فلاونوئید هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید (30).

**تعیین ترکیبات فلاونولی:** جهت اندازه گیری ترکیبات فلاونولی 0/5 میلی لیتر از محلول هر عصاره (0/01 گرم در 10 میلی لیتر متانول 60 درجه) با 0/5 میلی لیتر کلرید آلومینیوم 2% مخلوط و مقدار 3 میلی لیتر استات سدیم 5% به آنها اضافه گردید. پس از 2/5 ساعت جذب نمونه ها در مقابل آب مقطر در طول موج 440 نانومتر قرائت گردید. همزمان با انجام آزمایش رقت های مختلف روتین تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فلاونول هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید (31).

**بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با آزمون 2 و 2 دی فنیل - 1 - پیکریل هیدرازیل (DPPH):** در این روش برای ترکیب رادیکالی پایداراز DPPH به عنوان معرف استفاده شد. بدین ترتیب که 50 میکرولیتر از غلظت های مختلف 10، 15، 20، 25، 30، 40، 50، 60، 70، 80 میکروگرم در سی سی عصاره ها در متانول به 5 میلی لیتر محلول 0/004 درصد DPPH در متانول اضافه گردید. بعد از 30 دقیقه در دمای معمول اتاق جذب نوری نمونه ها در طول موج 517 نانو متر بر علیه بلانک قرائت شد. درصد مهار رادیکالهای آزاد DPPH با استفاده از فرمول  $I(\%) = 100 \times (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}$  محاسبه گردید. در این فرمول  $A_{\text{control}}$  جذب نوری کنترل منفی را که فاقد عصاره

می باشد نشان می دهد و  $A_{\text{sample}}$  میزان جذب نوری غلظتهای مختلف عصاره

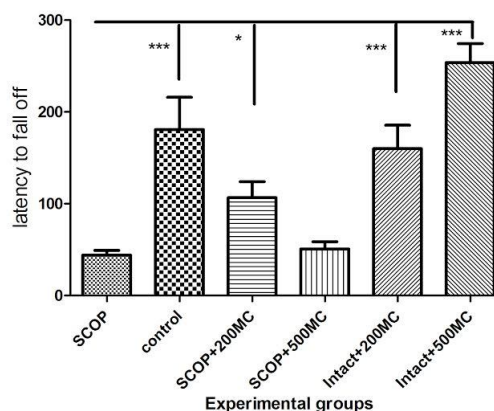
به نظر می رسد نسبت به استرس اکسیداتیو حساس باشند و نیاز به آنتی اکسیدانها داشته باشند. تصور می شود استرس اکسیداتیو یک عامل در کاهش عملکرد حرکتی و شناختی دیده شده در پیری است (2).

یکی از مشکلات در بیماران آلزایمری کنش پریشی یا آپراکسی است بدین معنی که بیمار توان انجام ماهرانه حرکات هدفمند و هماهنگ را بدون اینکه دچار فلج یا اختلال حسی یا حرکتی عضو یا اعضا باشد از دست می دهد (28). مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده بابونه اسانس های ضروری و ترکیبات فلاونوئیدی است. علاوه بر این ترکیبات انواع موسین، کومارین، اسید کربوکسی فنلی، اسید آمینه، کولین و فیتواسترول در بابونه یافت شده است (29). عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه (500، 600، 800 و 1000 میلی گرم بر کیلوگرم) در پیشگیری از تشنج ناشی از نیکوتین در موش سفید کوچک نقش موثری داشته بیانگر این واقعیت است که عصاره هیدروالکلی دارای اثر ضد تشنج می باشد (33). شواهد قابل توجهی وجود دارد که نشان می دهد اسکوپولامین باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در مغز می شود و این از طریق تداخل با استیل کولین در مغز است و منجر به اختلالات شناختی می شود (7). گیاه بابونه حاوی ترکیبات پلی فنولی است و قدرت آنتی اکسیدانی بالایی دارد و از این طریق اثرات مفید خود را اعمال می کند. بیماران مبتلا به آلزایمر داروهای شیمیایی زیادی را برای بهبود علائم بیماری دریافت می کنند با این وجود هنگامی که شخص این داروها را دریافت می کند خطر ایجاد نتایج عکس مثل گیج شدن، پریشانی، خواب آلودگی یا بی خوابی، نوسانات خلقی، مشکلات حافظه یا مشکلات گوارشی وجود دارد (34). به دلیل چنین مشکلاتی بر آن شدیم تا اثر گیاهان دارویی را به عنوان جایگزینی در درمان این بیماری بررسی کنیم. آنالیزهای آزمایشگاهی و سنجش های داروشناسی نشان داده که گلهای بابونه محتوی اسانس های روغنی ترپنوئیدی (آزلن، کامازولن، اکسید بیسابولول، سزکوئی ترین های A, B)، فلاونوئیدها (آپی ژنین، کریزین، لوتئولین، کورستین)، کومارین ها (امبلی فرون)، اسپیرواترها و مواد موسیلاژی، املاح، پلی ساکاریدها، تانن ها و اسیدهای چرب است (35). مطالعات قبلی نشان داده اند که ترکیبات موجود در عصاره بابونه اثرات ضد اضطرابی و تسکینی دارند، ضمن این که در مدل سنجش اضطراب، کاهش فعالیت حرکتی را نشان می دهند (36). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که تزریق اسکوپولامین ممکن است از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو در مغز باعث ایجاد اختلالات هماهنگی- حرکتی در موش های صحرایی شود و عصاره اتانولی گیاه بابونه با داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی قوی باعث کاهش استرس اکسیداتیو شده و در نتیجه ممکن است باعث بهبودی هماهنگی- حرکتی شود. اگر چه مطالعات بسیاری در این زمینه لازم است، بهبودی در مقاومت و مدت زمان ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود در گروه های اسکوپولامین که عصاره دریافت می کنند ممکن است علاوه بر خواص آنتی اکسیدانی، به دلیل خاصیت آنتی استیل کولین استرازی گیاه بابونه باشد که اثرات سودمندی را ایجاد می کند.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و کلیه عزیزانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تشکر و قدردانی می گردد.

روتارود وجود دارد ( $p < 0/001$ ) و اسکوپولامین به طور معنی داری این مدت زمان را کاهش می دهد. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد عصاره گیاه بابونه با دوزهای 200 و 500 میلی گرم در گروه های سالم که فقط عصاره دریافت کردند (Intact 200MC, Intact 500MC) به طور چشمگیری مدت زمان مقاومت و ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود را در مقایسه با گروه اسکوپولامین افزایش داد ( $p < 0/001$ ). مقاومت و ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود در گروه اسکوپولامین که عصاره با دوز 200 میلی گرم دریافت کرد (SCOP+200MC) در مقایسه با گروه اسکوپولامین (SCOP) افزایش یافت ( $p < 0/05$ ) (نمودار 1).



نمودار 1. مقایسه ی میانگین آزمون حرکتی با استفاده از دستگاه روتارود بین گروه SCOP با سایر گروه های آزمایشی  $p < 0/001$  B=  $p < 0/05$ , A=

### بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اسکوپولامین باعث کاهش معنی دار در مدت زمان مقاومت و ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود در حیوانات دریافت کننده اسکوپولامین در مقایسه با گروه کنترل می شود ( $p < 0/05$ ) و تیمار با عصاره اتانولی گیاه بابونه در حیوانات دریافت کننده اسکوپولامین به طور معنی داری باعث بهبودی در مدت زمان مقاومت و ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود می شود. اختلال در یادگیری و حافظه که به عنوان مشخص ترین ویژگی های زوال عقل است را می توان به صورت شیمیایی در حیوانات آزمایشگاهی توسط اسکوپولامین القاء کرد. اسکوپولامین یک آنتاگونیست کولینرژیک شناخته شده است که در انتقال استیل کولین در سیستم عصبی مرکزی دخالت می کند (8). دریافت اسکوپولامین در موش های صحرایی باعث افزایش سطح مالون دی آلدئید مغز شده که مارکر مهمی در پراکسیداسیون لیپیدی است و همچنین باعث کاهش سطح گلوتاتیون مغزی می شود. علاوه بر این فعالیت پراکسیداسیون لیپیدی در مغز بیماران آلزایمری به طور چشمگیری در مقایسه با افراد سالم افزایش می یابد (7). نتایج این مطالعه نشان می دهد که عصاره اتانولی بابونه خواص آنتی اکسیدانی نشان می دهد و باعث محافظت از مغز موش صحرایی از وضعیت اکسیداتیو بالا به علت استفاده از اسکوپولامین می شود. کورتکس مغزی و هیپوکامپ برای کنترل عملکردهای شناختی و حرکتی با هم در ارتباط هستند و

## Determining the Antioxidant Properties of Chamomile and Investigating the Effects of Chamomile Ethanol Extract on Motor Coordination Disorders in Rats

Z. Rabiei (MSc)<sup>1</sup>, Z. Alibabaei (MSc)<sup>1</sup>, M. Rafieian-Kopaei (PhD)<sup>\*1</sup>

1. Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 17(4); Apr 2015; PP: 44-50

Received: May 18<sup>th</sup> 2014, Revised: Jun 25<sup>th</sup> 2014, Accepted: Agu 6<sup>th</sup> 2014.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Alzheimer's, a progressive disorder causing the memory and other crucial functions of the brain to deteriorate, is mainly responsible for Dementia (brain deterioration). Most of the available drugs exert little influence on this brain disorder. The purpose of this study was to investigate the effects of Chamomile (*Matricaria chamomilla*) and its ethanol extract on the balance and motor learning of healthy rats and rats receiving Scopolamine.

**METHODS:** In this experimental study, 42 male Wister rats were divided into 6 groups of 7. They received one milligram of Scopolamine per kilogram of their body weight. The control group received distilled water. Simultaneously, the Amnesiac groups received 200 to 500 milligrams of Chamomile extract in addition to Scopolamine for 20 days. The healthy group only received the extract. The rats' motor balance was measured using the Rotarod device.

**FINDINGS:** In comparison with the control group, Scopolamine significantly reduced the time of resistance and staying on the Rotarod rolling stock ( $p=0/0005$ ). The resistance time and staying time on the Rotarod rolling stock in the control group and the Scopolamine group were 169/51 and 46/33 seconds, respectively. The time of resistance and staying in the Scopolamine group receiving 200 milligrams of the Chamomile extract was 119/5 seconds which shows a significant increase compared to the Scopolamine-only group ( $p=0/044$ ). Compared to the Scopolamine group receiving the same dose, 200 to 500 milligrams of the extract in healthy rats noticeably increased the time of resistance and staying on the rolling stock (168/3 and 263 seconds, respectively) ( $p=0/000$ ,  $p=0/000$ ).

**CONCLUSION:** The results of this study indicate that with its antioxidant properties, Chamomile extract could probably enhance motor balance in Scopolamine receiving rats.

**KEY WORDS:** *Motor Coordination Disorders, Chamomile, Scopolamine, Rats.*

### Please cite this article as follows:

Rabiei Z, Alibabaei Z, Rafieian-Kopaei M. Determining the Antioxidant Properties of Chamomile and Investigating the Effects of Chamomile Ethanol Extract on Motor Coordination Disorders in Rats. J Babol Univ Med Sci. 2015; 17(4):44-50.

\* Corresponding Author; M. Rafieian-Kopaei (PhD)

Address: Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran

Tel: +98 38 33346692

E-mail: rafieian@yahoo.com

## References

1. Miller PR, Dasher R, Collins R, Griffiths P, Brown F. Inpatient diagnostic assessments: 1. Accuracy of structured vs. unstructured interviews. *Psychiatry Res.* 2001;105(3):255-64.
2. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and aging prevention. *Int J Prev Med.* 2013; 4(9): 1101-2.
3. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. *J Nephropathol.* 2013; 2(2):152-3.
4. Bassett CN, Montine TJ. Lipoproteins and lipid peroxidation in Alzheimer's disease. *J Nutr Health Aging.* 2003;7(1):24-9.
5. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. *J Res Med Sci.* 2014;19(1):82-3.
6. Gu M, Owen A, Toffa S, Cooper JM, Dexter DT, Jenner P, et al. Mitochondrial function, GSH and iron in neurodegeneration and Lewy body diseases. *J Neurol Sci.* 1998;158(1):24-9.
7. Wilson JX. Antioxidant defense of the brain: a role for astrocytes. *Can J Physiol Pharmacol.* 1997;75(10-11):1149-63.
8. Misane I, Ogren SO. Selective 5-HT<sub>1A</sub> antagonists WAY 100635 and NAD-299 attenuate the impairment of passive avoidance caused by scopolamine in the rat. *Neuropsychopharmacology.* 2003;28(2):253-64.
9. Kvaltinova Z, Juranek I, Machova J, Stolc S. Effect of oxidative stress on (3H) N-methylscopolamine binding and production of thiobarbituric acid reactive substances in rat cerebral cortex membranes. *Gen Physiol Biophys.* 1993;12(2):155-61.
10. Savolainen K, Hirvonen MR, Naarala J. Phosphoinositide second messengers in cholinergic excitotoxicity. *Neurotoxicology.* 1993;15(3):493-502.
11. Rabiei Z, Rafieian-Kopaei M, Mokhtari S, Alibabaei Z, Shahrani M. The effect of pretreatment with different doses of *Lavandula officinalis* ethanolic extract on memory, learning and nociception. *Biomed Aging Pathol.* 2014;4(1):71-6.
12. Rabiei Z, Bigdeli MR, Rasoulia B, Ghassempour A, Mirzajani F. The neuroprotection effect of pretreatment with olive leaf extract on brain lipidomics in rat stroke model. *Phytomedicine.* 2012;19(10):940-6.
13. Rabiei Z, Bigdeli MR, Rasoulia B. Neuroprotection of dietary virgin olive oil on brain lipidomics during stroke. *Curr Neurovasc Res.* 2013;10(3):231-7.
14. Rabiei Z, Bigdeli MR, Mohagheghi F, Rasoulia B, Sharifi A. Effect of dietary olive leaf extract on brain cholesterol, cholesterol ester and triglyceride levels and of brain edema in rat stroke model. *Razi J Med Sci.* 2013;19(103):18-25. [In Persian]
15. Rabiei Z, Bigdeli MR, Mohagheghi F, Rasoulia B. Relationship between dietary virgin Olive oil on brain Cholesterol, Cholesteryl ester and Triglyceride levels and Blood Brain Barrier (BBB) permeability in a rat stroke model. *Physiol Pharmacol.* 2012;16(3):245-54. [In Persian]
16. Rabiei Z, Bigdeli MR, Rasoulia B, Mohagheghi F, Sharifi A. The effect of various doses of olive leaf extract on brain lipid levels and blood brain barrier permeability in rat stroke model. *Pajoohandeh.* 2012;17(2):67-72. [In Persian]
17. Rabiei Z, Rafieian-kopaei M, Heidarian E, Saghaei E, Mokhtari S. Effects of *Zizyphus jujube* extract on memory and learning impairment induced by bilateral electric lesions of the nucleus Basalis of Meynert in rat. *Neurochem Res.* 2014;39(2):353-60.
18. Moradi MT, Rafieian-Koupaei M, Imani-Rastabi R, Nasiri J, Shahrani M, Rabiei Z, et al. Antispasmodic effects of yarrow (*Achillea millefolium* L.) extract in the isolated ileum of rat. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2013;10(6):499-503.



19. Sedighi M, Nasri H, Rafieian-kopaei M, Mortazaei S. Reversal effect of *Achillea millefolium* extract on ileum contractions. *J Herb Med Pharmacol*. 2013;2(1):5-8.
20. Akbari F, Ansari-Samani R, Karimi A, Mortazaei S, Shahinfard N, Rafieian-kopaei M. Effect of turnip on glucose and lipid profiles of alloxan-induced diabetic rats. *Iran J Endocrinol Metab*. 2013;14(5):492-7. [In Persian]
21. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. *J Res Med Sci*. 2014;19(1):82-3.
22. Khosravi-Boroujeni H, Mohammadifard N, Sarrafzadegan N, Sajjadi F, Maghroun M, Khosravi A, et al. Potato consumption and cardiovascular disease risk factors among Iranian population. *Int J Food Sci Nutr*. 2012; 63(8):913-20.
23. Khosravi-Boroujeni H, Sarrafzadegan N, Mohammadifard N, Sajjadi F, Maghroun M, Asgari S, et al. White rice consumption and CVD risk factors among Iranian population. *J Health Popul Nutr*. 2013;31(2):252-61.
24. Azadmehr A, Hajiaghvae R, Afshari A, Amirghofran Z, Refieian-Kopaei M, yousofi-Darani H, et al. Evaluation of in vivo immune response activity and in vitro anti-cancer effect by *Scrophularia megalantha*. *J Med Plants Res*. 2011; 5(11): 2365-8.
25. Shirzad H, Shahrani M, Rafieian-Kopaei M. Comparison of morphine and tramadol effects on phagocytic activity of mice peritoneal phagocytes in vivo. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(7-8):968-70.
26. Hosseinpour M, Mobini-Dehkordi M, Saffar B, Teimori H. Antiproliferative effects of *Matricaria chamomilla* on *Saccharomyces cerevisiae*. *J Herb Med Pharmacol*. 2013;2(2):49-51.
27. Nasri H, Nematbakhsh M, Rafieian-Kopaei M. Ethanolic extract of garlic for attenuation of gentamicin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Iran J Kidney Dis*. 2013;7(5):376-82.
28. Mallet PE, Beninger RJ, Flesher SN, Jhamandas K, Boegman RJ. Nucleus basalis lesions: Implication of basoamygdaloid cholinergic pathways in memory. *Brain Res Bull*. 1995; 36(1):51-6.
29. Karimi M, Parsaei P, Asadi SY, Ezzati S, Khadivi Boroujeni R, Zamiri A, et al. Effects of *Camellia sinensis* ethanolic extract on histometric and histopathological healing process of burn wound in rat. *Middle-East J Sci Res*. 2013;13(1):14-9.
30. Parsaei P, Karimi M, Asadi SY, Rafieian-kopaei M. Bioactive components and preventive effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on post-laparotomy intra-abdominal adhesion in rats. *Int J Surg*. 2013;11(9):811-5.
31. Asadi SY, Parsaei P, Karimi M, Ezzati S, Zamiri A, Mohammadizadeh F, et al. Effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on healing process of surgical wounds in rat. *Int J Surg*. 2013;11(4):332-7.
32. Sharafati Chaleshtori R, Sharafati Chaleshtori F, Rafieian-kopaei M. Biological characterization of Iranian walnut (*Juglans regia*) leaves. *Turk J Biol*. 2011; 35(5):635-9.
33. Arzi A, Kesmati M, Alikhany M. Preventive effect of hydroalcoholic extract of *Matricaria Chamomilla* on Nicotine induced convulsions in mice. *J Babol Univ Med Sci*. 2004;692):12-7. [In Persian]
34. Vale-Martínez A, Guillazo-Blanch G, Martí-Nicolovius M, Nadal R, Arévalo-García R, Morgado-Bernal I. Electrolytic and ibotenic acid lesions of the nucleus basalis magnocellularis interrupt long-term retention, but not acquisition of two-way active avoidance, in rats. *Exp Brain Res*. 2002;142(1):52-66.
35. Gomaa A, Hashem T, Mohamed M, Ashry E. *Matricaria chamomilla* extract inhibits both development of morphine dependence and expression of abstinence syndrome in rats. *J Pharmacol Sci*. 2003;92(1):50-5.
36. Zanolli P, Avallone R, Baraldi M. Behavioral characterisation of the flavonoids apigenin and chrysin. *Fitoterapia*. 2000;71(Suppl 1):S117-23.