



## مقایسه اثر تزریق درون بطنی - مغزی عصاره‌ی آبی و متانولی دانه‌ی گیاه هل در رفتار ترس ناشی از

### PTZ در موش صحرایی نر بالغ

ریحانه پوزش<sup>۱\*</sup>، غلامحسن واعظی<sup>۱</sup> و محمد رضا خواجه دلویی<sup>۲</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی، دامغان، ایران

۲- دانشگاه پیام نور مشهد، گروه زیست‌شناسی، مشهد، ایران

مسئول مکاتبات: r.poo64@yahoo.com

چکیده

ترس یک پاسخ مهیج به خطری معلوم است و شامل واکنش‌های اتونومیک، نورواندوکرینی و رفتاری می‌باشد. کشف خواص شفابخشی گیاهان از سوی دانشمندان زیادی صورت گرفته و توسل به گیاهان دارویی همواره در طول تاریخ یکی از روش‌های مؤثر درمان بوده است. در این پژوهش تاثیر مقایسه تزریق عصاره‌ی آبی و متانولی دانه‌ی گیاه هل (*Elettaria cardamomum*) بر رفتار ترس مورد بررسی قرار گرفته است. در این پژوهش حیوانات به دو دسته تقسیم گردیدند، که هر دسته شامل سه گروه بود: گروه کنترل (saline) که ۱ lit<sup>μ</sup> سالین را بصورت تزریق درون بطنی - مغزی (I.C.V) دریافت کرد. گروه شم که PTZ را به میزان ۲۰ mg/kg بصورت تزریق i.p دریافت کرد. گروه آزمایشی (تجربی) که عصاره آبی دانه گیاه هل را در دوزهای ۳۰، ۱۰، ۳ μ g/rat بصورت I.C.V و ترکیب PTZ را بصورت تزریق درون صفاقی (I.P) دریافت نمود، همچنین در گروه دوم آزمایش، عصاره متانولی را در دوزهای ۳۰، ۱۰، ۳ μ g/rat بصورت I.C.V و ترکیب PTZ را بصورت I.P دریافت کرد. برای بررسی اثرات ترس از پلاسمیز استفاده شد. مقایسه تزریق هر دو عصاره آبی و متانولی دانه گیاه هل، درصد زمان حضور در بازوی باز (OAT %) و درصد دفعات ورود به بازوی باز (OAE %) و فعالیت حرکتی حیوان را نسبت به گروه کنترل افزایش داد که دوز ۳۰ μ g/rat این افزایش را بطور معنی‌دار در OAT % و OAE % نشان داد. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که ترکیبات موجود در دو عصاره آبی و متانولی دانه گیاه هل ترس ناشی از PTZ را کاهش داد، احتمالاً تاثیر از طریق بر همکنش با سیستم گابائرتریک می‌باشد.

کلمات کلیدی: عصاره آبی، عصاره متانولی، هل، پنتیلین تترازول، پلاسمیز، موش صحرایی

### مقدمه

هل می‌باشند که *Elettaria* معمولاً هل سبز نامیده می‌شود، از آنجایی که *Amomum* بطور معمول به عنوان هل سیاه، قهوه‌ای شناخته شده است. هل به عنوان ملکه ادویه‌جات شناخته شده است. قدمت آن به دوره ودائی (حدود ۳۰۰۰ پیش از میلاد) و یکی از مواد تشکیل دهنده در آتش قربانی و ازدواج هندی‌ها محسوب می‌شود [۲۳]. هل بومی هند، سریلانکا و جنوب شرقی آسیا می‌باشد که به خانواده زنجبیلیان تعلق دارد [۱۶، ۱۷].

گیاه هل (*Elettaria cardamomum*) گیاهی همیشه سبز، همه ساله، پایا، همانند گیاهان زنجبیلی، با ریشه‌های ضخیم و ساقه‌های افراشته، برگ‌های نوک تیز و گل‌های سفید می‌باشد. دارای کپسول‌های سه‌خانه‌ای، محتوی ۲۰-۱۵ دانه معطر، کوچک، دانه‌های فشرده، قهوه‌ای - مشکی در سه ردیف مضاعف شده، در حدود ۶ عدد در هر ردیف که گرم و معطر هستند می‌باشند. *Elettaria* و *Amomum* دو جنس اصلی از

همچنین به عنوان داروی موثر ضدنفخ، ضدباکتری، ضد ویروسی و ضدقارچ در نظر گرفته شده و در درمان یبوست، قولنج، اسهال، سوءهاضمه، استفراغ، سردرد، صرع و بیماری‌های قلبی و عروقی مؤثر است. [۸،۱۴] روغن فرار آن خواص ضد درد، ضدالتهابی و ضداسپاسم دارد. اسانس هل متشکل از ترکیبات منوترپن نظیر 8-cineole و  $\alpha$ -terpinyl- $\alpha$  acetate, linalyl acetate, linalool,  $\alpha$ -terpineol می باشد [۱۶].

مطالعات فیتوشیمیایی نشان دهنده وجود مواد شیمیایی مختلف از قبیل Myrcene, Cineol limonene,  $\alpha$ -phellandrene,  $\alpha$ -pinene, menthone, Subinene, heptane,  $\beta$  piene [۲۶], nerolidol, linalool [۲۰], eugenyl acetat,  $\gamma$ -sitosterol,  $\beta$  sitostenone [۱۱], citronellol, bisaboene, borneol, phytol, geraniol, sitgmasterol و p-cymene. گزارش شده است میوه هل دارای استرول [۱۵]، روغن استیال [۱]، پتیدها و اسیدهای فنلیک است. نتایجی از آنالیز شیمیایی نشان می‌دهد که هل محتوی آلکالوئید، فلاونوئید، ساپونین، استرول و تانن می‌باشد. حدود ۳۵ تا ۵۲ درصد از اسانس هل حاوی 8-cineole و ۱ می‌باشد [۱۶]. ترس همراه با علائم فیزیکی همانند ضربان قلب، اسپاسم ماهیچه، عرق کردن، کوتاهی تنفس، سردرد و حالت تهوع با هیچ علت فیزیکی همراه است.

پنتیلن تترازول (PTZ) دارویی است که به عنوان محرک تنفسی بکار می‌رود و توسط Hungarian (نورولوژیست آمریکایی) و Ladislav Meduna در سال ۱۹۳۴ مطرح شد. پنتیلن تترازول به عنوان یک آنتا گونیست گابا (GABA) بیان شده است. مطالعات الکتروفیزیولوژیکی نشان می‌دهد که افزایش نفوذپذیری جریان یون‌هایی نظیر پتاسیم، سدیم و کلسیم در تحریک پذیری غشای نورونی موثر است، را در غشا ایجاد می‌کند. PTZ به عنوان یک نمونه دارو اضطرابی در مدل‌های حیوانات از اضطراب و ترس مورد استفاده قرار گرفته است. پنتیلن تترازول باعث تحریک گیرنده‌هایی نظیر سروتونین (5-

HT3, HT1A-5), N-متیل دی-اسپاراتات، گلايسين و لیگاند های کانال کلسیم نوع L را تحت تاثیر قرار می دهد [۱۳]. از PTZ در بازسازی حافظه و هوش و یادگیری نقش دارند و از آن برای درمان سندروم داون استفاده می شود. [۱۸]

**تهیه عصاره آبی:** دانه ی گیاه هل از بازار محلی مشهد خریداری شد. دانه ی هل تهیه شده، توسط آسیاب مکانیکی پودر شد. جهت تهیه عصاره آبی پودر دانه گیاه هل به مدت یک روز در آب مقطر خیس شد. سپس با دستگاه رفلاکس و عمل رفلاکس عصاره آبی دانه گیاه هل با درصد رطوبت ۸۳٪ بدست آمد.

**تهیه عصاره متانولی:** جهت تهیه عصاره، پودر حاصله سه روز در متانل ۹۶٪ خوابانیده شده و سپس با حذف حلال توسط دستگاه روتاری عصاره متانولی دانه‌ی گیاه هل بدست آمد. میزان درصد رطوبت ۴۱٪ بدست آمد.

**گروه های آزمایشی:** در این تحقیق حیوانات به دو گروه کلی تقسیم شدند:

گروه اول شامل: گروه کنترل (saline): حیوانات این گروه ۱  $\mu$  lit محلول سرم فیزیولوژیک را بصورت i.c.v دریافت کردند. گروه شم (sham): حیوانات این گروه PTZ را به میزان ۲۰ mg/kg دریافت و تزریق i.p بود. گروه‌های تجربی: حیوانات شامل سه گروه که عصاره آبی را با دوزهای  $\mu$  g/rat ۳،۱۰،۳ بصورت i.c.v و مقدار ۲۰ mg/kg از ترکیب PTZ را بصورت i.p دریافت نمودند.

گروه دوم یا گروه کنترل (saline): حیوانات این گروه ۱  $\mu$  lit محلول سرم فیزیولوژیک را بصورت i.c.v دریافت کردند. گروه شم (sham): حیوانات این گروه PTZ را به میزان ۲۰ mg/kg دریافت و تزریق i.p بود. گروه‌های تجربی: حیوانات شامل سه گروه که عصاره متانولی را با دوزهای  $\mu$  g/rat ۳،۱۰،۳۰ بصورت i.c.v و مقدار ۲۰ mg/kg از ترکیب PTZ را بصورت i.p دریافت نمودند.

**تست رفتاری:** برای سنجش رفتار ترس مدل رفتاری Elevated plus-maze مورد استفاده قرار گرفت [۲۱،۲۴]. ماز از جنس چوب است. دارای دو بازوی باز (۱۰ × ۵۰



بیهوشی کامل، موش در روی دستگاه استریوتاگس قرار داده شد. دستگاه استریوتاگس دارای یک Head holder است که حجمه حیوان را در وضعیت مناسب نگه می‌دارد. همچنین دارای یک قسمت نگه دارنده کانول یا الکتروود می‌باشد که می‌توان آن را در امتداد محور جلویی - عقبی، پشتی - شکمی و میانی-طرفی حرکت داد. میله دندانی در مقیاس ۳/۳ میلی‌متر زیر صفر افقی تنظیم شد. سپس میله‌های گوشه‌ای را کاملاً در سوراخ مجرای گوش خارجی بصورتی که به پرده صماخ حیوان آسیبی وارد نشود قرار داده، سپس دندان‌های پیشین حیوان روی میله دندانی قرارداده می‌شود و میله پوزه بند را به عقب کشیده و پیچ آن محکم بسته می‌شود. نهایتاً بعد از اطمینان فیکس حیوان، بوسیله تیغ جراحی استریل پوست حجمه را از ناحیه بین دو چشم بطول ۱/۵-۱ سانتیمتر بطور عمودی برش دادیم. سپس پوست سر حیوان را کنار زدیم و بافت ماهیچه‌ای روی حجمه را توسط پنس و قیچی بر داشتیم تا محل براگما و لامبدا کاملاً مشخص شود. پس از تعیین نقاط براگما و لامبدا محل قرار گرفتن کانول راهنما را با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون مختصات بطن طرف راست بصورت  $AP = -0.8$  و  $ML = +1.6$  از ناحیه براگما محاسبه نموده و محل ناحیه بطن روی حجمه علامت گذاری شد. نقطه مورد نظر را با مته ای به قطر ۷ میلی‌متر، با دقت و فشار کم سوراخ کردیم و کانول راهنما را که از سر سوزن Gauge ۲۱ تهیه شده بود درون این سوراخ تعبیه کردیم. پس از آن پیچ عینک را بر روی استخوان حجمه تعبیه کردیم. سپس با استفاده از سیمان دندان پزشکی کانول راهنما کامل فیکس شد. بعد از جراحی به حیوان ۵ روز استراحت داده شد تا استرس و تخریب بافتی احتمالی که توسط جراحی صورت گرفته بود از بین برود. سپس تزریق عصاره بوسیله یک کانول تزریق Gauge ۲۷ که توسط یک رابط پلی اتیلن به سرنگ هامیلتون متصل بود انجام شد.

حجمه خارج شد و در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد تا بافت مغز کاملاً تثبیت شود. سپس موقعیت کانول تزریق بررسی شد و رت‌هایی که کانول تزریق آنها در داخل بطن قرار نگرفته

و دو بازوی بسته (  $50 \times 10 \times 40$  cm ) و یک سقف باز می‌باشد. بازوها در در چهار گوش مرکزی (  $10 \times 10$  cm ) با یکدیگر تقاطع دارند. Maze توسط پایه‌هایی در ارتفاع ۵۰ cm از سطح زمین قرار می‌گیرد. بازوی باز دارای لبه‌های چوبی (  $0.5 \times 0.5 \times 0.5$  ) پیوسته می‌باشد که به عبور موش از بازو و جلوگیری از افتادن حیوان از ماز کمک می‌کند. نور مناسب در ارتفاع ۱۲۰ cm از مرکز maze قرار دارد، تامین می‌شود. موش روی ماز مرکزی، طوری که سر حیوان به طرف بازوی باز قرار می‌گیرد. تعدادی از ورودی‌ها و زمان گذرانده در بازوی باز میزان اضطراب را نشان می‌دهد و جمع شماری از ورودی‌های باز و بسته به عنوان فعالیت حرکتی [۲۱،۲۲] پذیرفته شده است. یک ورودی هنگامی شمارش می‌شود که چهار دست و پا موش روی بازوی مربوطه قرار گیرد. ماز قبل از هر آزمایش با پاک کننده تمیز و خشک شد. آزمایشات در یک اتاق بدون صدا انجام شد.

#### مواد و روش کار

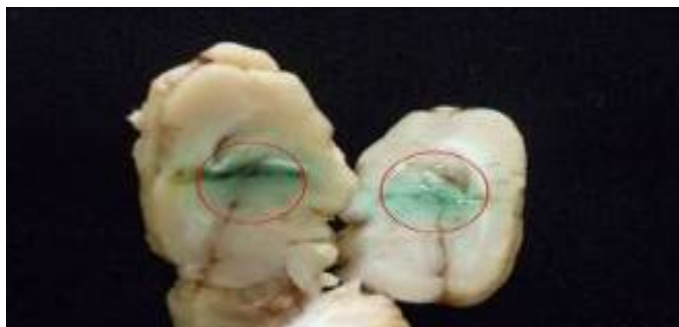
برای انجام این تحقیق از موش‌های نر بالغ، نژاد ویستار با میانگین وزنی  $20 \pm 200$  گرم استفاده گردید. حیوانات از انیستیتو رازی کرج خریداری شده و به حیوان‌خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان منتقل شد. در هر قفس تعداد چهار رت نگهداری شد. محل نگهداری حیوانات از نظر شرایط فیزیکی دارای دوره ۱۲ ساعته روشنایی-تاریکی و دمای  $2 \pm 22$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۰-۴۰٪ و بدون آلودگی صوتی بوده است و آزمایشات مورد نظر در زمان معینی از روز صورت گرفت.

**روش جراحی:** موش را با داروی بیهوشی کتامین ۱۰٪ و زایلازین ۲٪ (محصول شرکت Alfason، کشور هلند) را بر اساس وزن حیوان به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. بعد از **کارهای بافت‌شناسی:** بعد از اتمام آزمایشات و پایان تست‌های رفتاری رت‌ها توسط کلروفورم کشته شدند و به نمونه‌ها یک میکرولیتر بلودومتیلن داخل کانول تزریق شد. مغز آنها از

آنالیز واریانس یک طرفه One way ANOVA و تست Tukey انجام گردید و سطح معنی داری داده‌ها در  $p < 0/05$  بررسی گردید.

بود از دور آزمایش حذف گردید و فقط تجزیه و تحلیل شامل رت‌هایی بود که کانول تزریق آنها در داخل بطن قرار گرفته بود. (شکل ۱)

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نشان داده شده و آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS



شکل ۱- برش مغزی و محل تزریق دارو

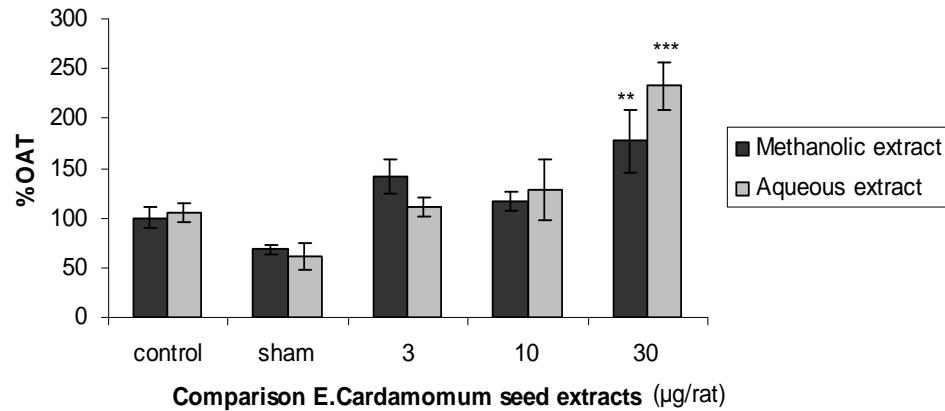
## نتایج

تعداد دفعات بازوی باز (%OAE) را نشان داد. این افزایش در سه دوز عصاره آبی نسبت به عصاره متانولی بیشتر بود. افزایش %OAE در دوز ۳۰ میکروگرم بر رت اثر معنی دار با  $P < 0/01$  نشان داد (نمودار ۲).

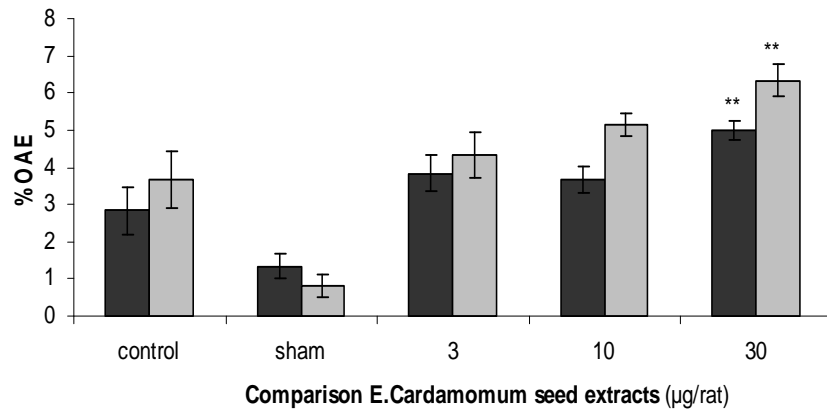
مقایسه آماری میانگین و انحراف معیار، مقایسه تزریق درون بطنی - مغزی عصاره متانولی و آبی دانه گیاه هل در دوزهای  $30 \mu\text{g/rat}$  و  $10 \mu\text{g/rat}$  و  $3 \mu\text{g/rat}$  به همراه تزریق درون صفاقی دوز  $20 \text{mg/kg}$  از PTZ نسبت به گروه کنترل، افزایش فعالیت حرکتی حیوان را نشان داد. این افزایش در عصاره آبی نسبت به عصاره متانولی بیشتر دیده شد. افزایش فعالیت حرکتی اثر معنی داری نداشت (نمودار ۳).

نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که مقایسه آماری میانگین و انحراف معیار، مقایسه تزریق درون بطنی، مغزی عصاره متانولی و آبی دانه گیاه هل در دوزهای  $30 \mu\text{g/rat}$  و  $10 \mu\text{g/rat}$  و  $3 \mu\text{g/rat}$  به همراه تزریق درون صفاقی دوز  $20 \text{mg/kg}$  از PTZ نسبت به گروه کنترل، باعث افزایش زمان سپری شده در بازوی باز (%OAT) را نشان داد. این افزایش در دو دوز  $30$  و  $10$  میکروگرم بر رت عصاره آبی نسبت به عصاره متانولی نشان داده شد. به طوری که دوز  $30$  میکروگرم بر رت عصاره آبی اثر معنی دار با  $P < 0/001$  و دوز  $30$  میکروگرم بر رت عصاره متانولی اثر معنی دار با  $P < 0/01$  را نشان داد (نمودار ۱).

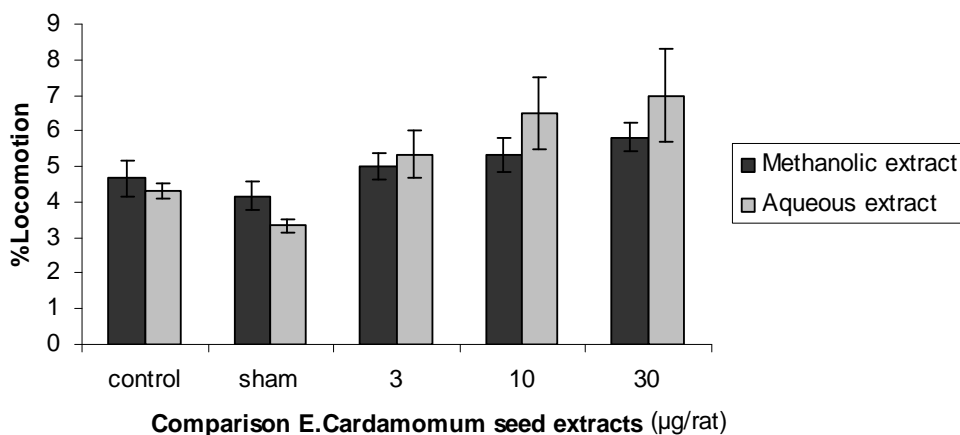
مقایسه آماری میانگین و انحراف معیار، مقایسه تزریق درون بطنی - مغزی عصاره متانولی و آبی دانه گیاه هل در دوزهای  $30 \mu\text{g/rat}$  و  $10 \mu\text{g/rat}$  و  $3 \mu\text{g/rat}$  به همراه تزریق درون صفاقی دوز  $20 \text{mg/kg}$  از PTZ نسبت به گروه کنترل، باعث افزایش درصد



نمودار ۱- مقایسه اثر تزریق دوزهای  $3, 10, 30 \mu\text{g/rat}$  عصاره متانولی و آبی دانه‌ی گیاه هل بر %OAT در مقایسه با گروه کنترل. مقایسه میانگین و انحراف معیار گروه‌های تجربی دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره دانه گیاه *E. cardamomum* (کنترل، مقایسه میانگین و انحراف معیار گروه‌های تجربی دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره دانه گیاه *E. cardamomum*  $3, 10, 30 \mu\text{g/rat}$  و گروه دریافت کننده PTZ با گروه کنترل در درصد زمان سپری شده در بازوی باز (%OAT)،  $**P < 0/01$ ).



نمودار ۲- مقایسه اثر تزریق دوزهای  $3, 10, 30 \mu\text{g/rat}$  عصاره متانولی و آبی دانه‌ی گیاه هل بر %OAE در مقایسه با گروه کنترل. مقایسه میانگین و انحراف معیار گروه‌های تجربی دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره دانه گیاه *E. cardamomum* (کنترل، مقایسه میانگین و انحراف معیار گروه‌های تجربی دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره دانه گیاه *E. cardamomum*  $3, 10, 30 \mu\text{g/rat}$  و گروه دریافت کننده PTZ با گروه کنترل در درصد ورود به بازوی باز (%OAE)،  $**p < 0/01$ ).



نمودار ۳- مقایسه اثر تزریق دوزهای  $30$ ،  $10$ ،  $3$   $\mu\text{g/rat}$  عصاره متانولی و آبی دانه‌ی گیاه هل بر میزان فعالیت حرکتی در مقایسه با گروه کنترل. مقایسه میانگین و انحراف معیار گروه‌های تجربی دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره دانه گیاه *E. Cardamomum* ( $30$ ،  $10$ ،  $3$   $\mu\text{g/rat}$ ) و گروه دریافت‌کننده PTZ با گروه کنترل بر میزان فعالیت حرکتی حیوان (%Locomotion).

## بحث

ترس به عنوان یکی از رفتارهای تدافعی که در حیات موجود زنده مؤثر است [۱۲، ۲۷]. ترس معمولاً با رفتارهای خاص فرار و اجتناب همراه است. بروز رفتار ترس در جانوران به شکل‌های مختلف از جمله تغییر فعالیت‌های حرکتی ظاهر می‌شود. مسیرهای اصلی مغز در برانگیختگی ترس آمیگدال [۴، ۹، ۱۰، ۱۹]، مناطق حسی از کورتکس و تالاموس می‌باشد. سیستم‌های گابآمینوبوتیریک اسید، نورآدرنرژیک و کولینرژیک در یادگیری، فرآیندهای حافظه و رفتارهای تدافعی، ترس و اضطراب نقش دارند [۳، ۵، ۶، ۲۲]. استفاده از ترکیبات دارویی مشتق از گیاهان در درمان بسیاری از بیماری‌ها رواج یافته است. گیاه هل به عنوان یک داروی گیاهی در درمان بیماری‌های ویروسی، فارچی، فشار خون و غیره مؤثر است. بر اساس نتایج تزریق درون بطنی - مغزی عصاره متانولی و آبی دانه گیاه هل در دوزهای  $30$ ،  $10$  و  $3$   $\mu\text{g/rat}$  درصد ورود به بازوی بازو (%OAE) همچنین زمان حضور در این بازو (%OAT) را در EMP نسبت به گروه کنترل افزایش داد که این افزایش، در دوز  $30$  میکروگرم بر رت اثر معنی‌داری در دو عصاره را نشان داد. همچنین درصد ورود به بازوی بسته (%CAE) و زمان حضور در بازوی بسته (%CAT) را نیز کاهش داد. طبق تحقیقات، این گیاه دارای ترکیباتی به نام فلاونوئید است و این ترکیبات دارای خاصیت آرام بخشی دارد. این احتمال وجود دارد که فلاونوئیدهای موجود در دانه‌ی گیاه هل محور HPA (Hypothalamic- Pituitary- Adrenal) را مهار کنند و این محور در بحث استرس و اضطراب فعال می‌شود پس با مهار این محور اضطراب و ترس نیز کاهش می‌یابد [۲]. گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر فلاونوئیدها بر گیرنده‌های

ترس به عنوان یکی از رفتارهای تدافعی که در حیات موجود زنده مؤثر است [۱۲، ۲۷]. ترس معمولاً با رفتارهای خاص فرار و اجتناب همراه است. بروز رفتار ترس در جانوران به شکل‌های مختلف از جمله تغییر فعالیت‌های حرکتی ظاهر می‌شود. مسیرهای اصلی مغز در برانگیختگی ترس آمیگدال [۴، ۹، ۱۰، ۱۹]، مناطق حسی از کورتکس و تالاموس می‌باشد. سیستم‌های گابآمینوبوتیریک اسید، نورآدرنرژیک و کولینرژیک در یادگیری، فرآیندهای حافظه و رفتارهای تدافعی، ترس و اضطراب نقش دارند [۳، ۵، ۶، ۲۲]. استفاده از ترکیبات دارویی مشتق از گیاهان در درمان بسیاری از بیماری‌ها رواج یافته است. گیاه هل به عنوان یک داروی گیاهی در درمان بیماری‌های ویروسی، فارچی، فشار خون و غیره مؤثر است. بر اساس نتایج تزریق درون بطنی - مغزی عصاره متانولی و آبی دانه گیاه هل در دوزهای  $30$ ،  $10$  و  $3$   $\mu\text{g/rat}$  درصد ورود به بازوی بازو (%OAE) همچنین زمان حضور در این بازو (%OAT) را در EMP نسبت به گروه کنترل افزایش داد که این افزایش، در دوز  $30$  میکروگرم بر رت اثر معنی‌داری در دو عصاره را نشان داد. همچنین درصد ورود به بازوی بسته (%CAE) و زمان حضور در بازوی بسته (%CAT) را نیز کاهش داد. طبق تحقیقات، این گیاه دارای ترکیباتی به نام فلاونوئید است و این ترکیبات دارای خاصیت آرام بخشی دارد. این احتمال وجود دارد که فلاونوئیدهای موجود در دانه‌ی گیاه هل محور HPA (Hypothalamic- Pituitary- Adrenal) را مهار کنند و این محور در بحث استرس و اضطراب فعال می‌شود پس با مهار این محور اضطراب و ترس نیز کاهش می‌یابد [۲]. گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر فلاونوئیدها بر گیرنده‌های



بر رت را با  $P < 0.001$  افزایش و باعث افزایش درصد تعداد دفعات به بازوی با  $P < 0.01$  را نشان داد.

#### منابع

- 1- Baruah A.K.S., Bhagarad S.D., Saika B.K. (1973), Composition of alleppey cardamom oil by gas chromatography, *Analyst*: 168-171.
- 2- Butterweek V., Hegger M., Winterboff H. (2004), Flavonoids of St. John's Wort reduce HPA Axis function in the rat, *Planta Medicine*, 70 (10): 1008-11.
- 3- Cahill L, Pham C. A., Setlow B., (2000), Impaired memory consolidation in rats produced with beta-adrenergic blockade. *Neurobiology of Learning and Memory*, 74: 259–266.
- 4- Davis M., Whalen P.J. (2001), The amygdala: vigilance and emotion. *Mol Psychiatry*, 6:13–34
- 5- De-Mello N., Carobrez A.P. (2002), Elevated T-maze as an animal model of memory: Effects of scopolamine. *Behavioural Pharmacology*, 13: 139–148.
- 6- Dielenberg R.A., Arnold J.C., McGregor I.S. (1999), Low-dose midazolam attenuates predatory odor avoidance in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 62: 197–201.
- 7- Duke J.A., Duke M.J, Bogenschutz-Godwin J, Duccellar and Duke P.K. (2002), *Hand Book of Medicinal Herbs* (second ed.), CRC press, Boca Raton, 153-154.
- 8- Duke, J.A. (1992), *Handbook of phytochemical constituents of GRAS Herbs and other economical plants*. CRC Press, London, 239-240.
- 9- File S. E., Aranko K. (1988), Sodium valproate and chlordiazepoxide in the elevated plus-maze test of anxiety in the rat. *Neuropsychobiology*, 20:82–86.

بنزودیازپین و وجود دارد. با توجه به وجود فلاونوئیدها در این گیاه احتمال این که عصاره دانه گیاه هل از طریق تأثیر بر گیرنده‌های بنزودیازپین متصل به گیرنده-های  $GABA_A$  باعث بروز اثرات آرام بخش و ضد اضطرابی شود و تقویت می گردد [۲۵]. بنابراین با توجه به وجود فلاونوئیدها در عصاره دانه گیاه هل احتمال می رود که این گیاه از طریق تأثیر بر گیرنده‌های بنزودیازپین متصل به گیرنده‌های  $GABA_A$  باعث بروز اثرات آرام بخشی و ضد اضطرابی می گردد. البته اثبات این امر نیازمند جدا نمودن هر یک از مواد مؤثر گیاه و تحقیق اختصاصی بر روی هر یک از این مواد و نیز با استفاده از مدل های حیوانی دیگر می باشد، تا بتوان مکانیسم اثر آرام بخشی و ضد اضطرابی آن را مشخص نمود که در این زمینه نیاز به مطالعه بیشتر و نیز استخراج و شناسایی مواد مؤثر گیاه می باشد. در این تحقیق از PTZ به عنوان ماده القا کننده ترس استفاده کردیم. PTZ غلظت یون کلسیم درون سلولی را افزایش می دهد که این افزایش غلظت یون کلسیم مانع از بروز اثرات مهارى ناشی از GABA می شود. با توجه به این که ترکیب فلاونوئید موجود در دانه گیاه هل به عنوان آنتاگونیست کلسیم در نظر گرفته شده است [۱۰]. در نتیجه این ماده اثر PTZ را به واسطه‌ی مهار گیرنده‌های NMDA کاهش داده و از افزایش غلظت یون کلسیم درون سلولی جلوگیری کرده است که نتیجه‌ی این عمل باعث تشدید فعالیت گیرنده‌های گابا در سلول عصبی شده و به این ترتیب از القای ترس ناشی از PTZ ممانعت می شود. تزریق عصاره‌ی متانولی دانه گیاه هل باعث افزایش مدت زمان حضور در بازوی با  $P < 0.01$  در دوز ۳۰ میکروگرم بر رت و افزایش درصد تعداد دفعات به بازوی با  $P < 0.01$  را نشان داد. همچنین عصاره آبی این گیاه، درصد زمان حضور در بازوی با  $P < 0.01$  میکروگرم



- 18- Minkel J.R. (2007), Drug may counteract Down syndrome. *Scientific American*, 25: 3-20.
- 19- Nader K, Majiishad P. Amorapanth P. & LeDoux J. E. ,(2001), Damage to the lateral and central, but not other, amygdaloid nuclei prevents the acquisition of auditory fear conditioning. *Learning and Memory*. 8 (3): 156-163.
- 20- Okugawa H, Okugawa M, Moriyasu S, Matsushita K, Saiki Y, Hashimoto K, Matsumoto A, Fudioka and Kato A, (1988), Evaluation of crude drugs by a combination of effleurage and chromatography on flavor components in seeds of *Amomum card amomum* and *Elettaria cardamomum*, *Shoyakugaku Zasshi*; 42: 94-97.
- 21- Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M. (1985), Validation of open: Closed arm entries in an Elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci MCTH*, 14: 149-167.
- 22- Perez de la Mora M., Lara-Garcia D., Jacobsen K., Vazquez-Garia M, Crespo-Ramirez M, Flores-Gracia C., Escamilla-Marvan E., Fuxe K. (2006), Anxiolytic-like effects of the selective metabotropic glutamate receptor 5 antagonist MPEP after its intraamygdaloid micro injection in three different non-conditioned rat models of anxiety. *Eur. J. Neurosci*, 23: 2749-2759.
- 23- Prabhakaran K.P. (2006), The Agronomy and Economy of Cardamom (*Elettaria cardamomum* M.): The Queen of spices. (6): 91004-9.
- 24- Rodgers R.J.(1997), Animal models of anxiety: where next. *Behav Pharmac*, 8: 470-496.
- 25- Salah S.M., Jager A.K. (2005), Screening of traditionally Used Lebanese
- 10- Gilani A., Gilani H., Aftab K., and Ahmed S. (1994), Cholinergic actions of crude saponins from *Castanospermum austrae*. *International Journal of pharmacognosy*, 32: 209-216.
- 11- Gopalakrishnan M. Gopalakrishna C.S., Grenz M. (1990), Nonsaponifiable lipid constituents of cardamom. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 38: 2133-2136.
- 12- Hillberp C., Hapillon P. (2005), Effect of harmaline on anxiety related behavior in mice. *Physiol Behav* ,86:164-167.
- 13- Jung M, Lal H, Gatch M. (2002), The discriminative stimulus effects of pentylentetrazol as a model of anxiety: recent developments. *Neurosci Biobehav Rev*, 26(4): 429-39.
- 14- Khan and Rahma N.A, Khan and Rahman S.Z., (1992), The screening of Majoon-e-Azaragi for cardiovascular and peripheral activity, *Hamdard Medicus*, 35: 102-109.
- 15- Korikanthimathm V.S., Prasath D, Rao G., (2001), Medicinal properties of cardamom (*Elettaria cardamom*), *Journal of Medicinal and Aromatic plant Sciences*, (23): 68-685.
- 16- Lucchesi M. E., Smadda J, Bradshaw S, , Louw W, and Chemat F ,(2007), Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of food Engineering*, 79(3): 1079-108629
- 17- Mehra K. (2001), Indian system of innovation in biotechnology- A case study of cardamom. *Techovation*, 21: 5-23.





the volatile oil of *Elettaria cardamomum* seeds. Pharmazie, 42: 207-208.

27- Sharaf M., Ansari A. (1997), Four flavonoide glycosides from peganum harmala. Phytochemistry, 3:533-536.

herbs for neurological activities. J. Ethnopharmacol.; 97(1): 145-9.

26- Shaban M. A. E., Shaban K. M. Kandeel G. A., Yacout and Mehaseb S. E. (1987), The chemical Composition of

