

TÜRKİYE'DE YETİŞEN KARABAŞ (*LAVANDULA STOECHAS*) BITKİSİNİN FARELERDE ÇEŞİTLİ KONVÜLSİYON MODELLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dikmen DÖKMECI^a, Izaldin AL-KHATIB^b, Çetin Hakan KARADAĞ^c,
Ahmet ULUGÖL^d

ÖZET

Farelerde, beş yöntem ile oluşturulan konvülsiyon üzerine *Lavandula stoechas* (karabaş) bitkisinin (50-200 mg/kg PO) etkisi araştırıldı. Elektrokonvülsif şokun, EKS (10-100 mA) ED50'si 56.2 mA (50.3-62.8) olarak tesbit edildi. Maksimum EKS 90 mA'de %30 oranında ölüm gözlandı. Pentylenetetrazol (PTZ), 10-200 mg/kg SC, konvülsiyonu oluşturdu ve ED50'si tonik üzerine 77.1 mg/kg (65.3-88.6) ve klonik üzerine 68.2 mg/kg (58.8-79.1) civarında idi. PTZ'in LD50'si ise 85.4 mg/kg (70.6-103.3) olarak saptandı. Penisilinin (100 IU) motor kortekse injeksiyonu ile klonik, miyoklonik kasılmalar ve aktivasyon oluşturuldu. Ca²⁺ (1-10x 0.25 M İCV) uyuşukluk, ataksi, klonik, tonik kasılmalar, aktivasyon ve ölüm neden oldu. Bay K 8644 (10-40 µg İCV) grooming, klonik ve tonik kasılmalar ve aktivasyona neden oldu. *L. stoechas*, maksimum EKS'nin tonik kasılmalarının yanı sıra (ED50=145.4, 121.2-174.6) ölüm oranını azalttı (%30'den sıfır'a düşürdü). Doz-yanıt eğrisini sağa kaydırıldı. Bay K 8644 ile oluşturulan bozuklukları ve konvülsiyonu grooming'e dönüştürdü. Diğer modeller 0zeinde *L. stoechas* önemli bir etki oluşturmadı.

Anahtar Kelimeler: *Lavandula stoechas*, Karabaş bitkisi, konvülsiyon,

SUMMARY

THE EFFECT OF LAVANDULA STOECHAS GROWING IN TURKEY ON CONVULSION PRODUCED BY VARIOUS METHODS IN MICE

The effect of *Lavandula stoechas* on convulsion induced by 5 methods were investigated in mice. The electroconvulsive shock was induced using ear electrodes and applying AC currents of various intensities, 10-100 mA. The ED50 for production of clonic-tonic convulsion was 56.2 mA (confidence limit 50.3-62.8). Pentylenetetrazol, PTZ (10-200 mg/kg, sc), dose-dependently induced clonic convulsions (ED50=68.2 mg/kg, 58.8-79.1) extended to tonic convulsions (ED50=77.1 mg/kg, 65.3-88.6). PTZ also caused deaths of mice with ED50=85.4 mg/kg, 70.6-103.3. It was found that intracortical injection of penicillin (100 iu) into the motor cortex

^a Araş. Gör. Dr., Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, EDİRNE

^b Doç. Dr., Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, EDİRNE

^c Uzm. Dr., Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, EDİRNE

^d Yrd. Doç. Dr., Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, EDİRNE

produced clonic and myoclonic convulsions with hyperactivity. Ca^{2+} (1-10x0.25 M icv) produced ataxia, clonic tonic convulsions, hyperactivity and death. Bay K 8644 (10-40 µg, icv) produced grooming, clonic and tonic convulsions and hyperactivity. The results of the present study revealed inhibition by *L. stoechas* of the tonic convulsions induced by maximum electroconvulsive shock (90-100mA) with ED₅₀ of 145.4 mg/kg, 121.2-174.6 and reduced the mortality rate from 30% to 0. *L. stoechas* also displaced the dose response curve of the electroconvulsive shock to the right. On the other hand, *L. stoechas* modified the effect of Bay K 8644; only grooming was evident after *L. stoechas*. No significant effect on the other models of convulsion was produced by *L. stoechas*. These results revealed the selective inhibitory effect of *L. stoechas* on the electroconvulsive-induced convulsions, suggesting its potential as a probable drug of natural source useful in treatment of grand mal epilepsy in human.

Key Words: Lavandula stoechas, Karabaş plant, convulsion.

GİRİŞ

Lavandula stoechas (karabaş) Türkiye ve diğer Akdeniz ülkelerinde yetişir ve çeşitli tıbbi aktif maddeler içermektedir: terpinoid (1), pinen deriveleri (2), glikosid, saponin ve uçucu yağlar (3) ve kamfen (4). *Lavandula stoechas*'ın hipoglisemik etkisi İspanya'da saptanmıştır (5). Laboratuvarımızda *Lavandula stoechas*'ın negatif inotropik etkisi (6) ve adjuvant artritli sıçanlarda lenfositleri artırıcı etkileri saptanmıştır (7). Halk arasında yatsuñıcı olarak epilepsi durumlarında yararlı olduğu sanılmaktadır (3).

Deney hayvanlarında, insandaki epilepsiye benzeyen konvülsyon çeşitli yöntemler ile oluşturulabilir ve bunlar üzerinde antiepileptiklerin önleyici etkileri ile insanda epilepsinin çeşitli tipleri üzerine etkileri arasında bir benzerlik olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada *Lavandula stoechas* bitkisinin farelerde 5 ayrı yöntem ile oluşturulan konvülsyon tipleri üzerine etkisi araştırıldı.

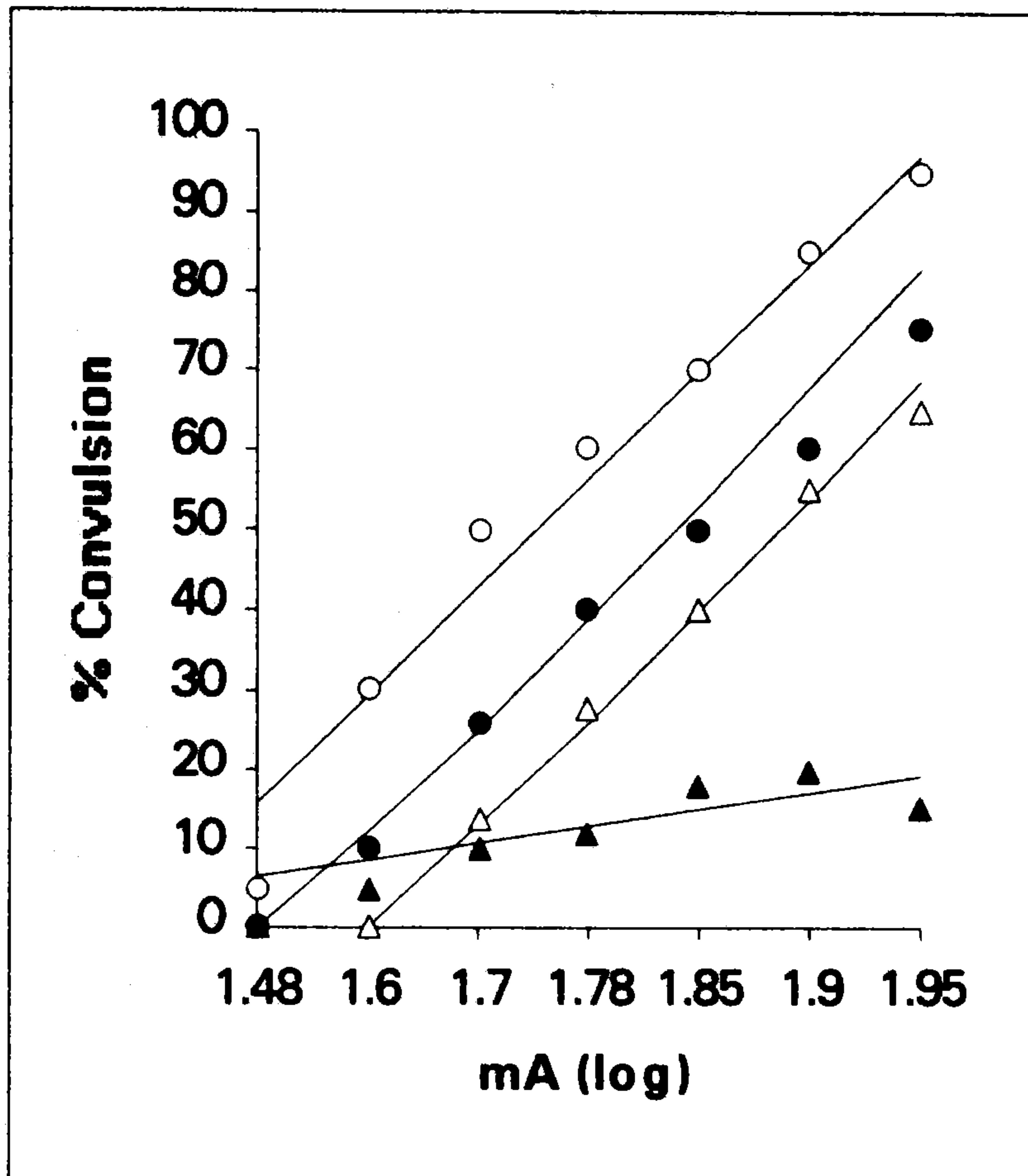
MATERIAL VE METOD

Hayvanlar:

Deneylerimizde 25-30 g ağırlığında erkek *Albino* fareler kullanıldı. Hayvanlar 20'şer gruplar halinde, 26x 42x17 cm ebatlarındaki kafeslerde standard laboratuvar koşullarda yetiştirildi (ısı $22\pm1^{\circ}\text{C}$, nem oranı % 55±5 ve aydınlatma: 12 saat karanlık-aydınlatık).

Denekler ve elektrokonvülsif şok (EKŞ) oluşumu:

Elektrokonvülsif şoku oluşturmak için elektrodiar kulaklıara bağlanarak 10-100 mA, puls genişliği=0.2, frekans puls/saniye=50, 0.4 saniye süre ile elektrik şoku (Ugo-Basile ECT Unit) verildi. Pentilentetrazol 10-100 mg/kg sc verildi. Penisilin, 100 iu, 2 mm bregmadan arkaya, 2 mm midsagittal çizgiden dışarı ve 1.5 mm kafatası



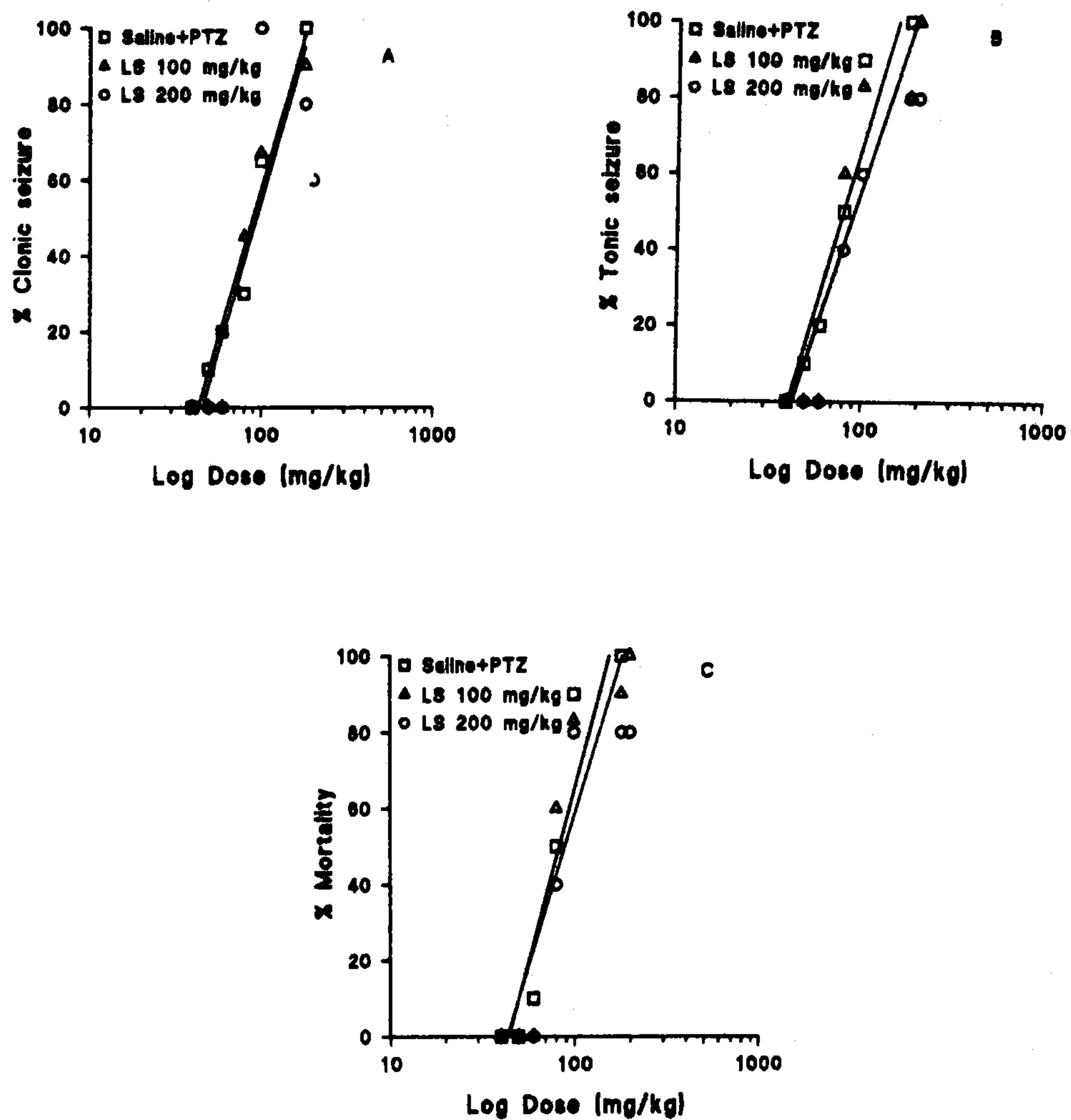
Şekil I. Elektrokonvülsif şokun üzerine *L. stoechas* ve morfinin etkisi. O -Saline O - *L. stoechas* 200 mg/kg Δ - *L. stoechas* 100 mg/kg, △ - Morphine 1 mg/kg.

yüzeyinden aşağı, 40° açı ile sol serebral motor kortekse injekte edildi. Bay K-8644 ve Ca²⁺ bregma'dan 2 mm arkaya, kafatası yüzeyinden 3 mm aşağı dik olarak midsagittal çizgide icv olarak injekte edildi.

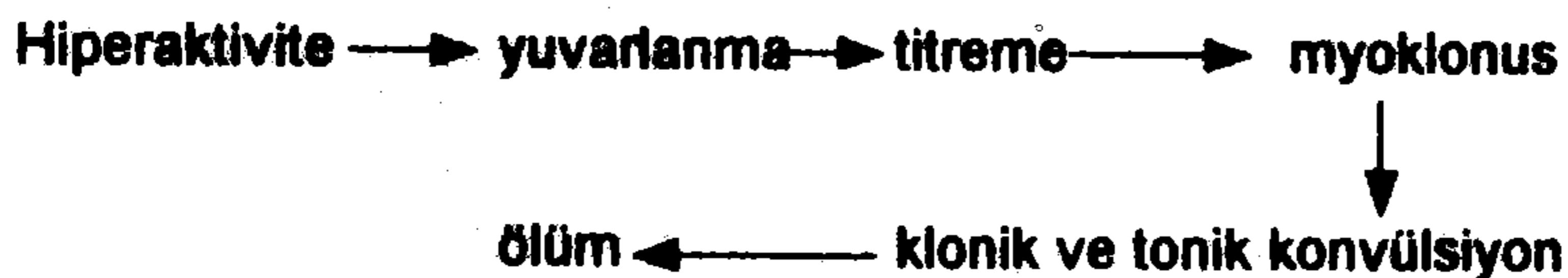
ED50 ve LD50 değerleri Litchfield & Wilcoxon metodu ile hesaplandı.

Lavandula stoechas'in ekstresi:

Çiçek ve yaprak örnekleri toz duruma getrilidikten sonra 5'şer gramlık bitki örnekleri 3 kez 200 ml %50 etanol, 40 °C sıcaklıkta ekstre edildi. Etanol ile su vakum altında uçurulduktan sonra %20 sarı-yeşil ekstre elde edildi.



Şekil II. Pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan konvülsiyon üzerine *L. stoechas*'ın (LS) etkileri. A-Klonik konvülsiyon; B-Tonik konvülsiyon; C-Mortalite.



Şema I. Kalsiyumun oluşturduğu etkiler.

İlaçlar:

Bu araştırmada penisilin-G kristalize (Pfizer), pentilentetrazol ve Bay K 8644 [(metil - 1,4-dihidro-2,6-dimetil-3-nitro-4-(2-trifluorometilfenil)-piridin-5-karboksilat), RBI-USA], fenitoin (Epanutin, Eczacıbaşı), karbamazepin (Tegretol, Ciba-Geigy), fenobarbital (Luminal, Bayer), valproik asid (Depakin, Sifar), etosüksimid (Petimid, Tems), diazepam (Diazem, Deva), ve verapamil (Isoptin, Knoll) kullanıldı. Dozlar 0.1 ml/10 g vücut ağırlığı başına sabit hacimde verildiler.

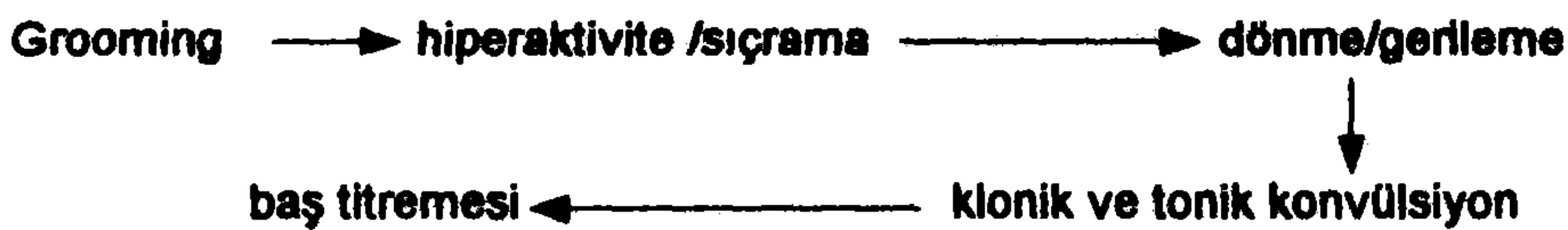
SONUÇLAR

Elektrokonvülsif şoku, şokun şiddetine göre klonik ve tonik ($ED_{50}=56.2\text{mA}$, 50.3-62.8) kasılmalar oluşturdu. *Lavandula stoechas*, doz-yanıt eğirisini sağa kaydırı (Şekil II), MEKS ile oluşan ölüm oranını %90' dan sıfıra düşürdü ve tonik-klonik kasılmalarını doza bağlı olarak inhibe etti ($ED_{50}=145.4\text{ mg/kg}$, 121.2-174.6).

PTZ klonik, (Şekil II A, $ED_{50}=68.2$, 58.8-79.1), tonik kasılmalar, (Şekil II B, $ED_{50}=77.1\text{ mg/kg}$, 64.84-91.7) ve ölüme neden oldu, (Şekil II C, $LD_{50}=85.4\text{ mg/kg}$, 70.6-103.3). *Lavandula stoechas* araştırılan dozlarda PTZ'in etkisini değiştirmedi.

Ca^{2+} (1x0.25 M, Şema I) hiperaktivite ve dengesizlik gibi değişikliklere neden oldu. 5x0.25M'de klonik sonra tonik kasılmaya dönüşen konvülsiyona neden oldu ve %50 oranında ölüm oluşturdu. Ca^{2+} , 10x0.25 M, klonik, miyoklonik, tonik kasılma ve tüm vücut titremesi oluşturdu. %80 oranında ölüm gözlendi. *Lavandula stoechas* araştırılan dozlarda Ca^{2+} 'un etkisini değiştirmedi.

ICV injekte edildiğinde, Bay K 8644 (10-40 μg , Şema II), klonik ve tonik kasılmaların yanı sıra aşırı bir şekilde grooming'e neden oldu. Öte yandan hayvanlarda hiperaktivite ve gerileme, sıçrama ve dönme gibi anormal davranışlar da gözlendi. *Lavandula stoechas*, Bay K 8644'den önce verildiğinde yalnızca hafif derecede grooming gözlendi.



Şema II. Bay K 8644'ün oluşturduğu etkiler.

Penisilin (100 iu, Şema III) intrakortikal verildikten sonra, 1 dakika içinde ön bacaklarda titreme ve klonik kasılmalar gözlandı, daha sonra arka bacaklarda da aynı kasılmalar başladı. Diğer değişiklikler, miyoklonik kasılmalar, titreme, kuyruk erekşiyonu, dönme ve yuvarlanma gibi hareketler şeklinde ortaya çıktı. Bazı farelerde ağız hareketleri ve dişlerin kilitlenmesi sonucu ağızda kanamalar da oluştu. *Lavandula stoechas* araştırılan dozlarında, penisilinin etkisini değiştirmedi.

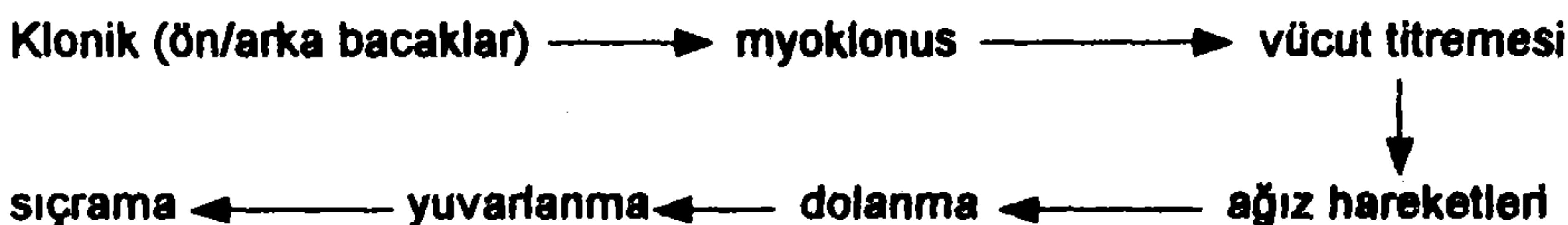
Tablo I. *Lavandula stoechas*'nın etkilerinin diğer ilaçlar ile karşılaştırılmasını göstermektedir.

TARTIŞMA

Konvülsiyon, beyinde nörolojik, metabolik veya fonksiyonel paroksismal bozuklukların sonucu olarak ortaya çıkabilir. Bu bozuklukların ürünü aktif odaklardan yayılan eksitabilité beyini zedeler, kaslarda ise kasılmalara neden olabilir.

Konvülsiyona yol açan mekanizmalar arasında beyinde var olan inhibitör sistemin, GABA (8, 9) ve adenosin (10) gibi, azalması ya da ortadan kalkması ve eksitatör sistemin serbest kalması en çok kabul edilen görüşlerden birisidir.

EKS-nöbetleri deneysel epilepsi modeli olarak kullanılmaktadır. EKS, kulak yolu ile verildikten sonra beyin sapını geçerek beyinin diğer bölgelerine yayılır ve tipik tonik-klonik kasılmalar görülür. Bu kasılmalar, seçici olarak insanda generalize tonik-



Şema III. Penisilin'in oluşturduğu etkiler.

Tablo I. *Lavandula stoechas*'in antikonvülsan etkisini çeşitli konvülsiyon modellerinde diğer antikonvülsan ilaçlar ile karşılaştırılması

	ED50 (mg/kg)	Konvülsiyon modelleri				
		MEKS ^a	Pentilen tetrazol ^b	Penisilin ^c	Bay K 8644 ^d	Ca ²⁺ ^e
Fenitoïn	10	-	?	?	-	?
Karbamazepin	9	-	?	?	-	?
Fenobarbital	22	13	?	?	-	?
Valproik asid	272	140	?	?	+	?
Etosüksimid	-	130	+	+	?	?
Diazepam	19	0.2	>1	>1	10	±
Verapamil	?	?	?	?	>20	10
<i>L. stoechas</i> ^f	145	-	-	-	-	-

a-10-100 mA; b-10-200 mg/kg SC; c-100 IU intrakortikal; d-10-40 µg ICV; e-1-10x0.25M ICV. *100-200 mg/kg PO. Diğer ilaçlar IP olarak verildiler. - : etkisi yok.

klonik nöbetleri inhibe eden fenitoïn ve karbamazepin gibi ilaçlar ile inhibe edilir (11). Bu araştırmada, *Lavandula stoechas* EKS'nin tonik-klonik nöbetleri ve ölüm oranını diğer modellerle karşılaştırıldığında göreceli olarak belirgin bir şekilde azaltır. Bu son gözlem nedeniyle, *Lavandula stoechas*'in grand mal tipi epilepside yararlı olasıdır.

PTZ ile oluşan tonik-klonik konvülsyonlar absans tipi epilepsilerde kullanılan etosüksimid ile fenitoïn veya karbamazepinden daha fazla suprese olur. Bu farklılık, PTZ ve EKS nöbetleri altında yatan mekanizmaların farklı olmalarına bağlı olabilir. PTZ eksitator amino asidler (8), katekolaminler (12) ve β_2 -reseptörlerini etkilemektedir (13).

Ca²⁺ epilepsi nöbetlerinde paroksismal depolarizasyona neden olmaktadır (14). Öte yandan, çeşitli konvülsyon olaylarında, örneğin metilksantin (15), penisilin (16) ve PTZ (17) konvülsyonlarında rol oynamaktadır. Bay K 8644, Ca²⁺ kanalı açıcı bir ilaç olarak konvülsiyona neden olmaktadır. Bu tip konvülsyonlarda Bay K 8644'in seçici beyin Ca²⁺ kanalları (18), endojen adenosin (19) ve eksitator amino asid salınımı (20) ile ilişkili olması olasıdır. Bu araştırmada *Lavandula stoechas* Ca²⁺'u etkilemeden, Bay K 8644 nöbetlerini yalnız nitelik olarak grooming'e dönüştürdü. Fenitoïn ve karbamazepin L ve N tipi Ca²⁺ kanalları üzerine etkileri olmasına rağmen, Bay K 8644 konvülsyonunu etkilememektedirler (18). *Lavandula stoechas*'in bu etkisi fenitoïn ve karbamazepin'e benzemektedir. Bu durum *Lavandula stoechas*'ın, fenitoïn ve karbamazepin'de olduğu gibi, Ca²⁺-kalmodulin ile stimule edilen процeslerin üzerine hiç bir etkisi olmadığını göstermektedir, çünkü bu mekanizma ve diğer Ca²⁺ aracılığıyla ortaya çıkan mekanizmaları etkileyen klonazepin, diazepam ve sodyum valproat, Bay K 8644 konvülsyonunu inhibe ederler (18).

Penisilin, Ca²⁺'un yanı sıra, GABA sistemini de etkileyerek konvülsyon oluşturur (21). Bu araştırmada *Lavandula stoechas*, penisilin ile oluşan konvülsyonu etkilemedi. Bu sonuç *Lavandula stoechas*'in Ca²⁺ veya GABA üzerine etkisi olmamasından kaynaklanabilir.

Bu araştırma *Lavandula stoechas*'in EKS-konvülsyonunu diğer modellere göre daha fazla inhibe edebilmesi, grand mal epilepsi nöbetlerinde yararlı olduğunu ortaya koymaktadır. Bitkinin bu etkiden sorumlu fraksiyonunu izole etmek ve bitkiden doğal bir antikonvülsan ilaç elde etmek gelecek araştırmaların konusudur.

KAYNAKLAR

1. Ulubelen A., Olcay Y.: *Triterpinoids from Lavandula stoechas subsp. stoechas*. Fitoterapia, 60, 475-476, 1989.
2. Ulubelen A., Gören N., Olcay Y.: *Longipinen derivatives from Lavandula stoechas subsp.* Phytochemistry, 27, 3966-67, 1988.
3. Baytop T.: Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi, 1984.
4. Uphof J.C.: Dictionary of economic plants. Stechert-Hafner Service Agency Inc., N.Y., pp.304, 1968.
5. Gamez M.J., Jimenez J., Risco S., Zarzuelo A.: *Hypoglycemic activity in various species of the genus Lavandula. part 1. Lavandula stoechas L. and Lavandula multifida L.* Pharmazie, 42, 706-7, 1987.
6. Al-Khatib İ., Karadağ H., Ulugöl A., Kadaişçi O.D., Dökmece İ.: *Some pharmacological studies on Lavandula stoechas plant.* Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 11, 1, 1994.
7. Al-Khatib İ., Kadaişçi R., Kadaişçi O.D., Karadağ H., Ulugöl A., Dökmece İ.: *Modification of rats adjuvant arthritis by lavandula stoechas plant growing in Turkey.* Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 11, 1, 1994 (baskıda).
8. Velisek L., Mikolasova R., Blankova-Vankova, S. Mares. P.: *Effects of ketamine on metrazol-induced seizure during ontogenesis in rat.* Pharmacol Biochem & Behav. 32, 405-10, 1989.
9. Garant D.S., Gale K.: *Lesions of substantia nigra protect against experimentally-induced seizure.* Brain Res. 273, 156, 1983.
10. Dunwiddie T.V., Hosler B.J., Fredholm B.B.: *Alkylxanthines elevate hippocampal excitability: Evidence for a role of endogenous adenosine.* Naunyn- Schmiedb. Arch. Pharmacol., 316, 326, 1981.
11. Browning R.A., Nelson D.K.: *Variation in threshold and pattern of electroshock-induced seizures in rats depending on site of stimulation.* Life Sci. 37, 2205-21, 1985.
12. Mason S.T., Corcovan M.E.: *Catecholamines and convulsion.* Brain Res. 170, 497-507, 1979.
13. Louis W.J., Summers J.P., Vajda R.J.: *Role of central β-adrenoceptors in the control of pentylenetetrazol-induced convulsion in rats.* Br.J. Pharmacol. 75, 441-46, 1982.
14. Heinemann U., Lux H.D., Gutnick M.J.: *Extracellular free calcium and potassium during paroxysmal activities in cerebral cortex of the rat.* Exp. Brain Res. 27, 237, 1977.

15. Neering L.R., McBurney R.N.: *Role for microsomal Ca storage in mammalian neurons?*. Nature, 309, 158, 1984.
16. Pumain R., Kurcewicz L., Luvel J. :*Fast extracellular calcium transiet: involvement in epileptic processes.* Science, 222, 177-79, 1983.
17. Heinmann U., Lambert J.D.C.: Changes in extracellular calcium and magnesium concentration and their consequences for development of seizure activity. In:*Neurotransmitter, seizure and Epilepsy* (Edited by Nistico G.,Morselli P.L.,Lloyd K., Fariello R.G.,Engel J.Jr.). III,65, 1986.
18. De Sarro G., Ascioto C., Di Paola E.D., Vidal M.J., De Sarro A. *Effects of anti-epileptic drugs, calcium channel blockers and other compounds on seizures induced by activation of voltage-dependent L calcium channel in DBA/2 mice.* Gen. Pharmac. 23, 1205-1216, 1992.
19. Stone T.W. *Purine receptors and their pharmacological roles.* Adv. Drug Res. 18, 291-429, 1989.
20. White E.J., Bradford H.F. *Enhancement of depolarization induced synaptosomal calcium uptake and neurotransmitter release by Bay K 8644.* Biochem. Pharmac. 35, 2193-97, 1986.
21. Horn E., Esseling K., Weber R.: *Protective sensitivity changes of the motor cortex due to epileptiform experience of the visual cortex.* Pharmacol. Biochem. Behav. 44, 709-15, 1993.