

Análisis de los efectos de plantas medicinales de Bangladesh en la duración del sueño inducido por pentobarbital en ratones

Screening of Bangladeshi medicinal plants for their effects on pentobarbital-induced sleeping time in mice

CHAKMA TK¹, KHAN MTH², RAHMAN T¹, CHOUDHURI MSK¹, RAJIA S¹, ALAMGIR M^{3,*}

¹ Department of Pharmacy, Jahangirnagar University, Savar, Dhaka-1342, Bangladesh.

² Department of Pharmacy, University of Science and Technology Chittagong, Chittagong, Bangladesh.

³ Pharmacy Discipline, Khulna University, Khulna-9208, Bangladesh

Correo electrónico: m19alamgir@yahoo.com

* Autor de contacto. Dirección actual del autor de contacto. Mahiuddin Alamgir
School of Chemistry, University of New South Wales, Sydney, NSW-2052, Australia

Dirección de correo electrónico: m19alamgir@yahoo.com

Dirección actual del autor: Khan, MTH. Department of Pharmacology, University of Tromsø.
9037 Tromsø, Noruega

RESUMEN

Se analizó la actividad en el sistema nervioso central de los extractos acuosos de cuarenta plantas medicinales de Bangladesh mediante el estudio de la duración del sueño inducido por pentobarbital. Doce de las plantas mostraron un aumento significativo de la duración del sueño, mientras que seis mostraron una disminución significativa. *Woodfordia fruticosa* y *Uraria lagopodioides* presentaron un mayor efecto depresor que el diazepam.

PALABRAS CLAVE: Bangladesh. Sistema nervioso central. Planta medicinal. Duración del sueño inducido por pentobarbital.

ABSTRACT

Aqueous extracts of forty medicinal plants of Bangladesh have been screened for central nervous system activity by pentobarbital-induced sleeping time test. While twelve plants showed significant increase in sleeping time, six plants showed significant decrease. Woodfordia fruticosa and Uraria lagopodioides exhibited a better depressant effect than diazepam.

KEYWORDS: Bangladesh. Central nervous system. Medicinal plant. Pentobarbital sleeping time.

INTRODUCCIÓN

El uso de plantas medicinales es una forma tradicional de aliviar las enfermedades, y su uso se remonta a más de cinco mil años atrás en diversas civilizaciones. Aunque el progreso en el sistema terapéutico moderno ha sido enorme, aproximadamente un 80% de la población de los países en desarrollo sigue utilizando medicinas tradicionales para el cuidado de su salud¹. A me-

INTRODUCTION

The use of medicinal plants is a traditional form of providing relief from illness and can be traced back over five millennia in several civilizations. Although tremendous progress has been made in the modern therapeutic system, about 80% of the population of the developing countries still uses traditional medicines for their health care¹. By the middle of the nineteenth century

diados del siglo XIX, al menos el 80% de todas las medicinas se obtenían a partir de hierbas². Las farmacopeas modernas aún contienen al menos un 25% de fármacos derivados de plantas, y muchos otros, que son análogos sintéticos, se basan en prototipos de compuestos aislados a partir de plantas^{1,3}. La reconocida dependencia creciente del uso de sistemas de medicina alternativa para reducir costes y conseguir objetivos de asistencia sanitaria ha hecho que gobiernos de todo el mundo aumenten la inversión en medicinas complementarias y alternativas^{4,5}.

El uso prolongado de fármacos tranquilizantes y psicotrópicos modernos conlleva diversos efectos secundarios autonómicos, endocrinos, alérgicos, hematopoyéticos y neurológicos⁶. Además, dichos agentes alivian principalmente los síntomas y ofrecen un alivio paliativo de naturaleza temporal⁶. En las dos últimas décadas, la farmacoterapia con sustancias psicoactivas se reconoce cada vez más como la forma más eficaz de tratar problemas de ansiedad, estrés y enfermedades psicósomáticas. En muchos países, se prescriben medicinas herbales (por ejemplo, hipérico o hierba de San Juan y valeriana) para el tratamiento de problemas psiquiátricos con la misma frecuencia que las medicinas convencionales⁷. El potencial de las plantas superiores como fuentes para el desarrollo de nuevos fármacos con actividad central aún está en gran parte sin explorar. De las 250.000 especies de plantas que se estima que existen en el mundo, sólo se ha investigado fitoquímicamente un pequeño porcentaje, y la fracción sometida a análisis farmacológicos o biológicos es aún menor⁸.

Considerando la importancia de lo expuesto anteriormente, en este estudio se han analizado los efectos de cuarenta plantas medicinales utilizadas con frecuencia en Bangladesh en el sueño inducido por pentobarbital en ratones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales de la planta: Las plantas (Tabla 1) se recolectaron en herbolarios autenticados de Dhaka (Bangladesh), y fueron identificadas por el Herbario Nacional de Bangladesh (Bangladesh National Herbarium), donde se conservan especímenes de comprobación. A continuación, las plantas se secaron y se convirtieron en polvo con una trituradora. El extracto acuoso, conocido

at least 80% of all medicines were derived from herbs². Still now modern pharmacopoeias contain at least 25% of drugs derived from plants and many others, which are synthetic analogues, built on prototype compounds isolated from plants^{1,3}. The recognized growing dependence on the use of alternative medicine systems for achieving cost reduction and health care services goals has prompted governments worldwide to increase investment in complementary and alternative medicine^{4,5}.

The prolonged use of modern tranquilizers and psychotropic drugs leads to a variety of autonomic, endocrine, allergic, hematopoietic and neurological side effects⁶. Moreover, such agents primarily relieve the symptoms and offer a palliative relief of a temporary nature⁶. During the last two decades, pharmacotherapy with psychoactive drugs has been increasingly recognized as most effective in the management of anxiety, stress and psychosomatic disorders. In many countries herbal medicines (e.g., St John's Wort, Valerian) are as commonly prescribed as conventional medications for the treatment of psychiatric problems⁷. The potential of higher plants as sources for new centrally acting drugs is still largely unexplored. Among the estimated 250000 plant species existing world-wide, only a small percentage have been investigated phytochemically, and the fraction submitted to biological or pharmacological screening is even smaller⁸.

Considering the above importance forty commonly used medicinal plants of Bangladesh have been screened in this study for their effects on pentobarbital induced sleeping time in mice.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials: The plants (Table 1) were collected from authenticated herbal shops in Dhaka, Bangladesh and identified by the Bangladesh National Herbarium, where voucher specimens were preserved. The plants were then dried and finely powdered by a grinding machine. The hot water extract, commonly known as *kwath*, (the extraction procedure for Ayurvedic medicine) was prepared by boiling 100 mg of the powdered plant materials in 1600 ml water, and was filtered and evaporated to give 400 ml of hot water extract.

comúnmente como *kwath* (el procedimiento de extracción de la medicina ayurvédica), se preparó hirviendo 100 mg de los materiales de las plantas en polvo en 1600 ml de agua. Al filtrar y evaporar esta mezcla se obtuvieron 400 ml de extracto acuoso.

TABLA 1. Efectos de las plantas medicinales de Bangladesh en la duración del sueño inducido por pentobarbital.
TABLE 1. Effects of Bangladeshi medicinal plants on the pentobarbital-induced sleeping time.

Nombre de la planta <i>Plant name</i>	Familia <i>Family</i>	Parte de la planta <i>Plant part</i>	Usos tradicionales <i>Traditional uses</i>	Proporción del sueño <i>Sleeping ratio</i>
<i>Adhatoda vasica</i> Nees.	Acanthaceae	Whole plant	Expectorant, anthelmintic, sedative ¹³	1.40 ^a
<i>Argyreia speciosa</i> Sweet	Convolvulaceae	Seed	Spasmolytic, hypotensive ¹³	0.57 ^b
<i>Boerhavia diffusa</i> Linn	Nyctaginaceae	Whole plant	Diuretic, expectorant ¹³	0.90
<i>Butea monosperma</i> Kuntze	Leguminosae	Seed	Antidiarrhoeal ¹³	1.53 ^b
<i>Carum copticum</i> Karst	Umbelliferae	Seed	Carminative, stimulant ²³	1.19
<i>Cassia angustifolia</i> Vahl	Leguminosae	Leaf	Anticancer, laxative ²³	1.21 ^a
<i>Cinnamomum tamala</i> T.Nees.	Lauraceae	Leaf	Aromatic, astringent ²³	0.95
<i>Crataeva nurvala</i> Buch.-Ham.	Capparidaceae	Root-bark	Laxative, rubefacient ²³	0.60 ^b
<i>Curcuma domestica</i> Valetton	Zinziberaceae	Rhizome	Antispetic, carminative ¹³	0.89
<i>Cyperus rotundus</i> Linn	Cyperaceae	Root	Diuretic, anthelmintic ¹³	1.02
<i>Desmostachya bipinnata</i> (L.) Stapf	Poaceae	Root	Used in dysentery, menorrhagia ²³	1.19
<i>Elettaria cardamomum</i> Maton	Zinziberaceae	Fruit	Aromatic, diuretic ^{23, 24}	1.24 ^a
<i>Embelia ribes</i> Burm. f.	Myrsinaceae	Fruit	Antitussive ²³	0.93
<i>Emblia officinalis</i> Gaertn.	Euphorbiaceae	Fruit	Diuretic, laxative ¹³	0.91
<i>Imperata cylindrica</i> Beauv	Poaceae	Root	Antidiarrhoeal ²³	1.07
<i>Ipomoea turpethum</i> R.Br.	Convolvulaceae	Seed	Laxative, antiinflammatory ¹³	0.64 ^a
<i>Mangifera indica</i> Linn	Anacardiaceae	Seed kernel	Anthelmintic ^{13, 24}	0.99
<i>Mesua ferrea</i> Linn	Clusiaceae	Flower	Aromatic, antitussive ²³	1.31 ^a
<i>Nigella sativa</i> Linn	Ranunculaceae	Seed	Diuretic, stimulant, carminative ^{13, 24}	1.38 ^a
<i>Nymphaea lotus</i> Linn	Nymphaeaceae	Flower	Expectorant, antidiarrhoeal ²³	1.09
<i>Ocimum sanctum</i> Linn	Labiatae	Leaf	Expectorant, antidiabetic ¹³	1.57 ^a
<i>Paederia foetida</i> Linn	Rubiaceae	Whole plant	Diuretic, antidiarrhoeal ²³	1.03
<i>Phragmites maxima</i> Chiov	Poaceae	Root	Anthelmintic, diuretic ²⁴	0.94
<i>Picrorhiza kurroo</i> Royle.	Scrophulariaceae	Rhizome	Used in dyspepsia ²³	1.59 ^b
<i>Piper longum</i> Linn	Piperaceae	Fruit	Antidiarrhoeal ^{13, 24}	0.96
<i>Piper nigrum</i> Linn	Piperaceae	Fruit	Stomachic, dyspepsia ^{13, 24}	0.94
<i>Plumbago zeylanica</i> Linn	Plumbaginaceae	Root	Antidiarrhoeal ¹³	1.05
<i>Pterocarpus santalinus</i> L.f.	Leguminosae	Wood	Antipyretic, anthelmintic, antiinflammatory ^{13, 24}	0.78
<i>Saccharum officinarum</i>	Poaceae	Root	Used in burns ²³	1.28 ^a
<i>Saccharum spontaneum</i>	Poaceae	Root	Aphrodisiac, laxative ¹³	0.76
<i>Saraca asoca</i> (Roxb) De Wilde	Leguminosae	Bark	Used in dysmenorrhoea ¹³	0.99
<i>Sphaeranthus indicus</i> Linn.	Compositae	Seed	Hepatoprotective ¹³	0.59 ^b
<i>Terminalia bellerica</i> Roxb.	Combretaceae	Fruit	Laxative, anthelmintic, antiinflammatory ¹³	1.03
<i>Terminalia chebula</i> Retz.	Combretaceae	Fruit	Expectorant, anthelmintic, carminative ^{13, 24}	1.15 ^a
<i>Tinospora cordifolia</i> Miers	Menispermaceae	Whole plant	Aphrodisiac, emetic ^{23, 24}	0.77
<i>Tribulus terrestris</i> Linn.	Zygophyllaceae	Seed	Diuretic, aphrodisiac ¹³	0.51 ^b
<i>Uraria lagopodioides</i> Desv.	Leguminosae	Whole plant	Antidysenteric ^{23, 24}	1.99 ^b
<i>Vernonia anthelmintica</i> Kuntze	Compositae	Seed	Anthelmintic ¹³	0.67 ^a
<i>Woodfordia fruticosa</i> Kurz.	Lythraceae	Flower	Antipyretic, sedative, antidiarrhoeal ¹³	2.89 ^c
<i>Zingiber Officinale</i> Rosc.	Zingiberaceae	Rhizome	Antiinflammatory, antidiarrhoeal ^{23, 24}	0.98
Diazepam (1mg/kg)	-	-	-	1.77 ^c

^a p < 0.05, ^b p < 0.01, ^c p < 0.001

Animales: Para los experimentos se utilizaron ratones de ambos sexos que no se mantuvieron en ayuno (de la raza *Swiss-Webster*, con un peso corporal de 20-25 gm), criados en el Departamento de Farmacia de la Universidad de Jahangirnagar. A los animales se les proporcionó una dieta estándar y agua corriente *ad libitum*. Los animales se mantuvieron con el ciclo natural noche/día.

Prueba de duración del sueño inducido por pentobarbital: Los extractos de las plantas se administraron mediante inyección intraperitoneal (i.p.) en una dosis de 10 ml/kg. Al grupo de control se le administró solución salina normal i.p. Treinta minutos después, a los grupos de control y tratados se les administró pentobarbital sódico (40 mg/kg i.p.). Como control positivo se utilizó diazepam (1 mg/kg i.p.). La duración del sueño se evaluó como el tiempo transcurrido entre la pérdida y la recuperación del reflejo de enderezamiento. Cada grupo estaba compuesto por 6 ratones y equilibrado en cuanto a peso y sexo⁹.

Análisis estadístico: Se realizaron pruebas t con el programa SPSS 9.05 para probar el nivel de significación. El valor de probabilidad de 0,05 o menor ($p < 0,05$) se consideró significativo. Los datos se expresaron como una proporción del valor medio de la duración del sueño de los animales experimentales frente a los animales de control.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales intactos se consideraron los mejores para investigar la acción de los fármacos en el sistema nervioso central. El descenso en la latencia del sueño y el aumento de la duración del sueño están clásicamente relacionados con los fármacos depresores del sistema nervioso central¹⁰. Como muchos otros fármacos de acción central, los barbitúricos actúan sobre la corteza cerebral y, por tanto, producen sus acciones¹¹. El pentobarbital, un fármaco hipnótico de la familia de los barbitúricos por una modificación alostérica del receptor GABA_A, aumenta la conductancia del cloro y potencia la inhibición postsináptica mediada por el receptor GABA_A¹². Se analizaron los extractos acuosos de cuarenta plantas medicinales de Bangladesh mediante el estudio de la duración del sueño inducido por pentobarbital (Tabla 1). En este experimento, la

Animals: Nonfasted, male and female mice (*Swiss-Webster strain*, 20-25 gm body weight), bred at the Department of Pharmacy, Jahangirnagar University were used for the experiments. The animals were provided with standard diet and tap water *ad libitum*. The animals were maintained at natural day night cycle.

Pentobarbital-induced sleeping time test: The plant extracts were given intraperitoneally (i.p.) at a dose of 10ml/kg. The control group received normal saline i.p. Thirty minutes later, the treated and control groups were treated with sodium pentobarbital (40 mg/kg i.p.). Diazepam (1mg/kg i.p.) was used as a positive control. The sleeping time was evaluated as the time elapsed between losses and regaining of the righting reflex. Each group was composed of 6 mice, and balanced for their weight and sex⁹.

Statistical analysis: Unpaired t-tests were performed by SPSS 9.05 to test the level of significance. Probability value of 0.05 or less ($p < 0.05$) was considered as significant. The data were expressed as a ratio of sleeping time mean value of experimental animals vs. control animals.

RESULTS AND DISCUSSION

Intact animals are considered the best for investigating the action of drugs on central nervous system. Decrease in sleeping latency and increase in sleeping time are classically related to central nervous system depressant drugs¹⁰. Like many other centrally active drugs, barbiturates work on the cerebral cortex and thus produce their actions¹¹. Pentobarbital, a barbiturate class hypnotic drug by an allosteric modification of GABA_A receptor increases the chloride conductance and potentiates GABA_A mediated postsynaptic inhibition¹². The hot water extracts of forty Bangladeshi medicinal plants were screened by pentobarbital sleeping time test (Table 1). In this experiment pentobarbital induced sleeping time were presented as a ratio between the duration of sleeping time of experimental animals vs. control animals. Thus a value above one (>1.0) means an increase in pentobarbital sleeping time and below one (<1.0) means decrease in sleeping time induced with the sodium pentobarbital. The ratio was considered significant, when their mean sleeping time values were significant by t-test.

duración del sueño inducido por pentobarbital se presentó como una proporción entre la duración del sueño de los animales experimentales frente a los animales de control. Por tanto, un valor por encima de uno ($>1,0$) significa un aumento de la duración del sueño inducido por pentobarbital y un valor por debajo de uno ($<1,0$) significa un descenso de la duración del sueño inducido por el pentobarbital sódico. El promedio se consideró significativo cuando los valores de duración del sueño medios obtenidos mediante la prueba t fueron significativos.

Woodfordia fruticosa mostró el mayor promedio de duración del sueño con un valor de 2,89, que resultó estadísticamente muy significativo ($p<0,001$). El siguiente promedio más elevado se observó en *Uraria lagopodioides* con un valor de 1,99, que también resultó significativo ($p<0,01$). Estas dos plantas mostraron un promedio más elevado que el grupo de diazepam de control positivo (1,77; $p<0,001$), lo que indicó actividad depresora del sistema nervioso central y posibles candidatos para estudios adicionales. Con anterioridad, publicaciones tradicionales¹³ y científicas¹⁴ han reivindicado la actividad sedante de *Woodfordia fruticosa*; no se han podido encontrar publicaciones en las que se informe de una actividad sedante de *Uraria lagopodioides*.

Las siguientes diez plantas mostraron un aumento significativo ($p<0,05$) en la duración del sueño inducido por pentobarbital y mostraron una duración del sueño por encima de uno, tal como se esperaba. A continuación, aparecen las plantas ordenadas según su promedio de mayor a menor: *Picrorhiza kurrooa* (1,57), *Ocimum sanctum* (1,57), *Butea monosperma* (1,53), *Adhatoda vasica* (1,40), *Nigella sativa* (1,38), *Mesua ferrea* (1,31), *Saccharum officinarum* (1,28), *Elettaria cardamomum* (1,24), *Cassia angustifolia* (1,21) y *Terminalia chebula* (1,15). Entre estas plantas, *Ocimum sanctum*¹⁵ y *Butea monosperma*¹⁶ demostraron tener propiedades sedantes; *Nigella sativa* demostró tener propiedades depresoras¹⁷ y timoquinona como agente activo¹⁸; mientras que los xantonos de *Mesua ferrea* mostraron actividad depresora del sistema nervioso central¹⁹.

Seis plantas redujeron la duración del sueño inducido por pentobarbital. Es posible que estas plantas tengan capacidad para estimular el sistema nervioso central. A continuación, aparecen las plantas ordenadas según sus promedios de mayor a menor: *Vernonia anthelmintica* (0,67), *Ipomoea*

The highest ratio of duration of sleep was exhibited by the *Woodfordia fruticosa* as 2.89, which was statistically highly significant ($p<0.001$). The next higher ratio was observed as 1.99 by *Uraria lagopodioides*, which was also significant ($p<0.01$). These two plants showed a higher ratio than the positive control diazepam group (1.77; $p<0.001$), indicating central nervous system depressant activity and possible candidates for further studies. Previously both the traditional¹³ and scientific¹⁴ report claims the sedative activity of *Woodfordia fruticosa*, no previous sedative report of *Uraria lagopodioides* could be found in literature.

The following ten plants have showed significant ($p<0.05$) increase in the pentobarbital sleeping time and as expected showed sleeping time ratio over one. From higher to lower order in terms of ratio the plants are *Picrorhiza kurrooa* (1.57), *Ocimum sanctum* (1.57), *Butea monosperma* (1.53), *Adhatoda vasica* (1.40), *Nigella sativa* (1.38), *Mesua ferrea* (1.31), *Saccharum officinarum* (1.28), *Elettaria cardamomum* (1.24), *Cassia angustifolia* (1.21), and *Terminalia chebula* (1.15). Among these plants *Ocimum sanctum*¹⁵, *Butea monosperma*¹⁶ was reported to have sedative properties; *Nigella sativa* was shown as depressant¹⁷ and found thymoquinone as an active agent¹⁸; whereas xanthonos of *Mesua ferrea* showed central nervous system depressant activity¹⁹.

There were six plants reduced the pentobarbital induced sleeping time. These plants may have the stimulating ability to the central nervous system. The plants from lower to higher order in their ratio are *Vernonia anthelmintica* (0.67), *Ipomoea turpethum* (0.64), *Crataeva nurvala* (0.60), *Sphaeranthus indicus* (0.59), *Argyreia speciosa* (0.57), and *Tribulus terrestris* (0.51). Central nervous system activity was reported earlier for *Argyreia speciosa*²⁰, and *Tribulus terrestris*²¹.

Majority of the plants (22 out of 40) did not show a significant activity in the experiment. However, eight of them have a ratio over one, and fourteen have a ratio under one. The compounds present in the extracts are watersoluble substances, therefore triterpenoids and flavonoids commonly detected in the extracts might be present in glycosidic forms. On the other hand, it should be considered that other classes of compounds and any other polar substance can be responsible for the central nervous system activity examined in

turpethum (0,64), *Crataeva nurvala* (0,60), *Sphaeranthus indicus* (0,59), *Argyreia speciosa* (0,57) y *Tribulus terrestris* (0,51). La actividad del sistema nervioso central se demostró antes para *Argyreia speciosa*²⁰ y *Tribulus terrestris*²¹.

La mayoría de las plantas (22 de 40) no mostraron una actividad significativa en el experimento. No obstante, 8 de ellas tuvieron una proporción por encima de uno y 14 por debajo de uno. Los compuestos presentes en los extractos eran sustancias hidrosolubles; por tanto, los triterpenoides y flavonoides detectados habitualmente en los extractos pudieron presentarse en formas glicosídicas. Por otra parte, se debe tener en cuenta que otras clases de compuestos y otras sustancias polares pueden ser responsables de la actividad del sistema nervioso central examinada en este estudio²². Los resultados proporcionados por este estudio son una evaluación preliminar de las especies de plantas y actualmente se está llevando a cabo una evaluación más exhaustiva de las plantas activas.

RECONOCIMIENTOS

Los autores desean dar las gracias a Mr. M.K. Miah, Senior Taxonomist del Herbario Nacional de Bangladesh (Bangladesh National Herbarium), Dhaka, por la identificación de las plantas.

this work²². The results given in this paper are a preliminary evaluation of the plant species, and currently further evaluation of the active plants is ongoing.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to thank Mr. M.K. Miah, Senior Taxonomist, Bangladesh National Herbarium, Dhaka for the identification of the plants.

REFERENCIAS/REFERENCES

1. Kim HS. Do not put too much value on conventional medicines. *J Ethnopharmacol.* 2005;100:37-9.
2. Gilani AH, Rahman A. Trends in ethnopharmacology. *J Ethnopharmacol.* 2005;100:43-9.
3. Farnsworth NR, Waller DP. Current status of plant products reported to inhibit sperm. *Research frontiers in fertility regulation: RFFR / PARFR.* 1982;2(1):1-16.
4. WHO. Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines, Programme on Traditional Medicine. Geneva; 1991.
5. NFAM. Alternative Versus Conventional Medicine. 2004:1-5. <http://www.nfam.org/neveualtverusconvhtml>.
6. Koslow SH, Murthy RS, Coelho GV, editors. Decade of the Brain: U.S. Department of Health and Human Services; 1995.
7. Miller LG, Murray WJ, editors. Herbal Medicinals - A Clinicians Guide. New York: Pharmaceutical Products Press; 1998.
8. Hamburger M, Hostettmann K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry.* 1991;30:3864-74.
9. Schapoval EES, Silveira SM, Miranda ML, Alice CB, Henriques AT. *J Ethnopharmacol.* 1994;44:137-42.
10. Williamson EM, Okpako DT, Evans FJ. Pharmacological Methods in Phytotherapy Research. Selection Preparation and Pharmacological Evaluation of Plant Material. England: John Wiley & Sons Ltd.; 1996.
11. Bowman WC, Rand MJ. Textbook of Pharmacology. 2nd ed. New York: Blackwell Scientific Publications; 1980.
12. Katzung BG, editor. Basic and Clinical Pharmacology. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.
13. Parrotta JA. Healing Plants of Peninsular India. New York: CABI Publishing; 2001.
14. Paris RR, Jacquemin H. A Madagascan Lithraceae, *Woodfordia fruticosa* (L.) Kurz. Communication XVIII on Madagascan plants. *Fitoterapia.* 1976;47(2):51-5.
15. Sakina MR, Dandiya PC, Hamdard ME, Hameed A. Preliminary psychopharmacological evaluation of *Ocimum sanctum* leaf extract. *J Ethnopharmacol.* 1990;28(2):143-50.

16. Kasture VS, Chopde CT, Deshmukh VK. Anticonvulsive activity of *Albizia lebbeck*, *Hibiscus rosa-sinesis* and *Butea monosperma* in experimental animals. *J Ethnopharmacol.* 2000;71(1-2):65-75.
17. Al-Naggar TB, Gomez-Serranillos MP, Carretero ME, Villar AM. Neuropharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts. *J Ethnopharmacol.* 2003;88(1):63-8.
18. Parvardeh S, Hosseinzadeh H. Hypnotic and muscle relaxant activity of thymoquinone, the major active constituent of *Nigella sativa* L. seeds, and its effects on locomotor activity and motor coordination in mice. *Faslnamah-i Giyahan-i Daruyi.* 2003;2(8):17-25, 75.
19. Gopalakrishnan C, Shankaranarayanan D, Nazimudeen SK, Viswanathan S, Kameswaran L. Antiinflammatory and CNS depressant activities of xanthenes from *Calophyllum inophyllum* and *Mesua ferrea*. *Indian J Pharmacol.* 1980;12(3):181-91.
20. Srivastava A, Shukla YN, Jain SP, Kumar S. Chemistry and pharmacology of the elephant creeper *Argyreia speciosa*- a review. *J Med Aromatic Plant Sci.* 1998;20(3):774-8.
21. Bourke CA. The clinical differentiation of nervous and muscular locomotor disorders of sheep in Australia. *Aust Vet J.* 1995;72(6):228-34.
22. Jiménez G, Hasegawa M, Rodríguez M, Estrada O, Méndez J, Castillo A, et al. Biological screening of plants of the Venezuelan Amazons. *J Ethnopharmacol.* 2001;77:77-83.
23. Johnson T. *CRC Ethnobotany Desk Reference.* Boca Raton, Florida: CRC Press; 1999.
24. Duke JA, Godwin MJB, duCellier J, Duke PAK. *Handbook of Medicinal Herbs.* 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press; 2002.