

بررسی نقش گیرنده‌های اوپیویدی بر اثر ضداضطرابی عصاره آبی (جوشانده)

سرشاخه‌های بادرنجبویه در موش سوری

چکیده

زمینه و هدف: بادرنجبویه (*Melissa Officinalis*) گیاهی است که در بخش‌های مختلف ایران رشد می‌کند. در مطالعات قبلی خواص آرام بخشی، ضد تشنجی و ضد دردی از عصاره هیدروالکی آن گزارش گردید. هدف از این مطالعه تعیین اثر ضد اضطرابی عصاره آبی (جوشانده) سرشاخه‌های بادرنجبویه با دوزهای مختلف و نیز بررسی نقش گیرنده‌های اوپیویدی بر اثر ضد اضطرابی گیاه مذکور در موش سوری می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه جهت بررسی اثرات گیاه بادرنجبویه ۹۳ سر موش سوری نر به وزن ۳۰-۲۵ گرم انتخاب شدند. حیوانات به ۴ گروه ۱۰ تایی آزمایش و ۱ گروه ۱۰ تایی کنترل تقسیم شدند. سپس به گروه‌های آزمایش، ۴ دوز عصاره آبی به میزان ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، و به گروه کنترل ۱۰ میلی‌لیتر نرمال سالین به ازای هر کیلوگرم وزن به صورت داخل صفاقی تزریق شد. بر روی ۱۵ سر موش مطالعه مقدماتی انجام شد. همچنین جهت بررسی نقش گیرنده‌های اوپیویدی بر اثر ضد اضطرابی گیاه بادرنجبویه، موش‌ها به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شدند و با دوز ۲ میلی‌گرم نالوکسان و ۵ میلی‌گرم عصاره آبی مورد بررسی قرار گرفتند. سپس به منظور افزایش فعالیت حرکتی و حس کنجکاو، موش‌ها به مدت ۵ دقیقه در یک جعبه با دیواره‌های مشکی قرار داده شدند و پس از آن در فواصل زمانی تنظیم شده به مان بعلاوه‌ای شکل مرتفع (Elavated Plus Maze=EPM) منتقل گردیدند و به مدت ۵ دقیقه شاخص‌های استاندارد ارزیابی اضطراب (تعداد ورود و مدت زمان سپری کردن در بازوی باز) از طریق مشاهده در آنها بررسی و ثبت گردید.

یافته‌ها: این مطالعه نشان داد که اثرات مصرف عصاره آبی بادرنجبویه با دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن در یکی از گروه‌های آزمایش در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشته به طوری که موجب افزایش قابل توجهی در تعداد ورود و مدت زمان سپری شده بر روی بازوی باز شده است ($p < 0.01$)، در حالی که مصرف دوزهای بالاتر این عصاره آبی موجب کاهش تعداد ورود و مدت زمان سپری شده بر روی بازوی باز شده است و به عبارتی دیگر اثرات خواب آلودگی بر روی موش‌ها داشته است. همچنین مصرف نالوکسان باعث کاهش اثر ضد اضطرابی دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از این جوشانده گردید.

نتیجه‌گیری کلی: یافته‌های فوق نشان می‌دهند که مصرف عصاره آبی بادرنجبویه با دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن اثر ضد اضطرابی داشته، در حالی که مصرف دوزهای بالاتر آن اثر خواب‌آوری بر موش‌ها داشته است به گونه‌ای که این اثر وابسته به دوز عصاره آبی بوده و احتمالاً از طریق گیرنده‌های اوپیویدی بروز کرده است.

کلیدواژه‌ها: ۱- عصاره آبی ۲- بادرنجبویه ۳- نالوکسان ۴- ضد اضطراب

۵- مان بعلاوه‌ای شکل مرتفع

تاریخ دریافت: ۱۳۸۴/۱۱/۱۷، تاریخ پذیرش: ۱۳۸۴/۲/۲۵

(I) کارشناس ارشد فیزیولوژی و مربی گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، جاده دامغان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان، سمنان، ایران (*مؤلف مسؤول).

(II) دکترای فیزیولوژی و استادیار گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، جاده دامغان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان، سمنان، ایران.

(III) دکترای فیزیولوژی و استاد گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، جاده دامغان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان، سمنان، ایران.

(IV) پزشک عمومی و مربی گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، جاده دامغان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان، سمنان، ایران.

(V) کارشناس ارشد فیزیولوژی و مربی گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، جاده دامغان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان، سمنان، ایران.

(VI) دکترای داروسازی و مربی گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، جاده دامغان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان، سمنان، ایران.

(VII) کارشناس علوم آزمایشگاهی دامپزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، جاده دامغان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان، سمنان، ایران.

مقدمه

اضطراب نوعی پاسخ درونی به شرایط تهدید کننده موقعیت‌های مادی و معنوی افراد است. اختلالات اضطرابی شایع‌ترین اختلال روحی - روانی می‌باشند به طوری که میزان شیوع این اختلالات ۳۰-۱۰٪ برآورد شده است.^(۱) از این رو داروهای آرام‌بخش و ضداضطراب از جمله داروهای پرمصرف به حساب می‌آیند. از آن جا که اکثر داروهای ضد اضطراب اثرات تسکین‌دهنده (سداتیو)، خواب‌آور و شل کننده مرکزی روی عضلات اندام‌ها دارند و از طرفی موجب وابستگی فیزیکی می‌شوند و از نظر روانی نیز اعتیاد ایجاد می‌کنند^(۲)، همچنین به علت میل روزافزون مردم به مصرف داروهای گیاهی؛ در این مطالعه سعی شد تا اثر ضد اضطرابی بادرنجبویه (گیاه دارویی ایران) را که در منطقه سمنان نیز به میزان فراوان می‌روید بر روی مدل اضطراب در موش سوری سنجیده شود.

بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) گیاهی پایا، پرشاخه، پرپشت، علفی و چند ساله است. منشأ اصلی این گیاه، شرق مدیترانه و جنوب اروپا می‌باشد، همچنین در مازندران، آذربایجان، ارومیه، خوی و اکثر نقاط ایران مانند کوهستان‌ها، کنار جاده‌ها، سایه درخت‌ها، پای دیوارها، حاشیه باغ‌ها، بوستان‌ها، بیشه‌ها و غیره یافت می‌شود.

قسمت قابل استفاده گیاه، برگ و سرشاخه‌های جوان آن است. پیکر رویشی آن بوی خاصی تقریباً شبیه به بوی لیمو دارد. این گیاه نیرو دهنده و ضد تشنج است و از آن به عنوان مقوی معده، بادشکن، تسهیل کننده عمل هضم، تسکین دهنده درد معده با منشأ عصبی، طپش قلب، سردردهای یک طرفه، میگرن، سرگیجه، عصبانیت‌ها، بی‌خوابی، خستگی‌های روحی، هیستری، مالیکولیا، دردهای عصبی، دندان درد و گوش درد استفاده می‌شود.

اسانس آن دارای خاصیت ضد تشنج و آرام‌بخش با اثر قاطع است مشروط بر آن که به مقادیر کم و با دوز درمانی مصرف گردد. از آن در تقویت حافظه و عوامل شناختی در افراد سالم و پیشگیری از آلزایمر نیز استفاده شده است. اثرات ضد هورمون محرک تیروکسین (*Anti-thyrotropic*)،

ضد درد در مدل درد محیطی (Tail flick)، ضد ویروس، آنتی‌اکسیدان و ضد موتاژنیک نیز دارد.^(۳-۸) ابوعلی سینا برای آن اثر تقویت نیروی حیاتی قایل بوده و چنین بیان داشته که با مصرف آن ناراحتی‌های عصبی از بین می‌روند و آن را دارویی آرام‌بخش خوانده است.^(۹)

ترکیبات شیمیایی آن شامل سیترال، سیترونل لال، ژرانیول، لینالول، اسیدکافیک، آنتول، ۴- ترپینول، ۴- کاراکرول، پیپریتون، اوژنول، استات اوگنول، اسیدرزماری، اسیدفنولیک یک کربنه و فلاونوئید می‌باشد.^(۳-۸)

در برخی مطالعات به اثرات ضد اضطرابی ناشی از عصاره الکی آن اشاره گردیده است^(۱۰)، لذا در این مطالعه اثر جوشانده سرشاخه‌های بادرنجبویه با دوزهای متفاوت و نیز نقش گیرنده‌های اوبیویدی بر اثر ضداضطرابی آن در مدل تجربی اضطراب به کمک ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع بررسی گردید. امید است که این پژوهش روزه‌ای برای دستیابی به داروی ضد اضطراب مناسبی باشد.

روش بررسی

این مطالعه از نوع بنیادی - کاربردی بوده و موش‌ها به صورت تصادفی انتخابی شدند. در این طرح ۹۳ سر موش سوری نر با وزن ۳۰-۲۵ گرم انتخاب شدند، که در قفس‌های مخصوص و تحت شرایط محیطی مناسب (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و درجه حرارت مطلوب (۲۲ درجه سانتی‌گراد)، در حالی که غذا و آب به طور آزادانه در اختیار داشتند نگهداری می‌شدند. از آن جا که در اکثر مطالعات از عصاره‌های هیدروالکی این گیاه استفاده شد، لذا در مطالعه حاضر با توجه به مصرف سنتی آن، جوشانده گیاه تهیه گردید.

سرشاخه‌های بادرنجبویه از یکی از داروخانه‌های سنتی شهر سمنان خریداری شد. پس از آسیاب کردن، به ازای هر گرم پودر، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون بشر ریخته و به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد. پس از سرد شدن، جوشانده با عبور دادن از پارچه‌ای تمیز، توسط کاغذ صافی و قیف بوختر صاف شد. عصاره حاصل شده مجدداً به منظور تغلیظ

پلکسی گلاس به ابعاد $40 \times 40 \times 30$ سانتی‌متر قرار می‌گرفت تا فعالیت جستجوگرانه (Explorative activity) حیوان در افزایش یابد، سپس برای سنجش سطح اضطراب، حیوان در ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع (در قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار داده می‌شد و به مدت ۵ دقیقه فعالیت‌های جستجوگرانه، تعداد ورود به بازوهای باز و مدت زمان ماندن در بازوهای باز ارزیابی و ثبت می‌گردید.

شایان ذکر است که افزایش ورود به بازوهای باز و مدت زمان سپری شده در آنها شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی می‌شود. همچنین قضاوت در مورد اختلاف معنی‌دار سطح اضطراب به این صورت است که اگر هم‌زمان هر دو شاخص (ورود به بازوی باز و مدت زمان سپری شده در آنها) در یک راستا کاهش و یا افزایش یابند و حداقل یکی از آنها تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشته باشد، به عنوان تغییر معنی‌دار سطح اضطراب تلقی می‌شود.^(۱۳) همچنین فعالیت حرکتی حیوان نظیر زمان بی حرکتی، روی دو پا ایستادن، بو کشیدن، دفع ادرار و مدفوع در داخل ماز نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

در یک آزمایش بررسی نقش جوشانده سر شاخه‌های بادرنجبویه بر سطح اضطراب به شرح زیر انجام گرفت:

در این مرحله از ۵۰ سر موش سوری نر استفاده شد. گروه آزمایش از ۴ گروه ۱۰ تایی تشکیل می‌شد و ۱ گروه ۱۰ تایی نیز گروه کنترل را تشکیل می‌داد.

الف) به گروه‌های آزمایش دوزهای ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن، جوشانده بادرنجبویه به صورت داخل صفاقی تزریق شد و پس از گذشت ۲۵ دقیقه، تست ارزیابی اضطراب انجام شد.

ب) به ۱ گروه ۱۰ تایی از موش‌ها (گروه کنترل) حجمی معادل با حجم جوشانده، از نرمال سالین به صورت داخل صفاقی تزریق شد و پس از گذشت ۲۵ دقیقه، تست ارزیابی اضطراب انجام شد.

آزمایش دیگری جهت بررسی نقش گیرنده‌های اوپیویدی بر اثرات ضد اضطرابی جوشانده بادرنجبویه به شرح زیر انجام گرفت:

حرارت داده شد تا عصاره‌ای با ویسکوزیته بالا مانند عسل به دست آمد. عصاره نهایی به چند پلیت (ظرف مسطح) منتقل و داخل انکوباتور با حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شوند.^(۱۲، ۱۱) غلظت ماده خشک به دست آمده ۷۵ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بود. ۵۰۰ میلی‌گرم ماده خشک را در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و از این محلول به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن به حیوان تزریق شد. برای ساخت محلول‌های دیگر با دوزهای ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن از جوشانده بادرنجبویه، رقیق‌سازی با آب مقطر انجام گرفت.

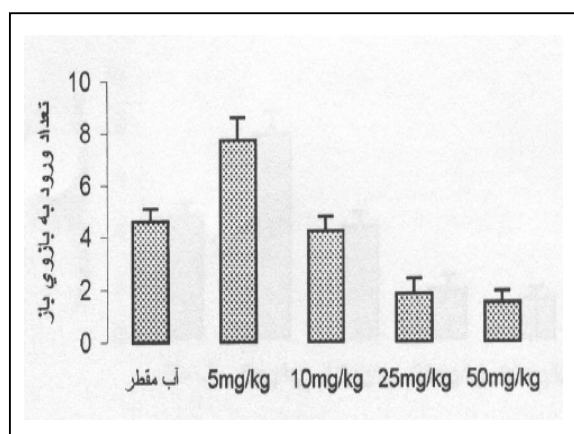
در این پژوهش در ابتدا به منظور تعیین مدت زمان تاثیر جوشانده در دوزهای مختلف، بر روی ۱۵ سر موش Pilot study انجام گردید. عصاره‌های دارویی در تمام گروه‌ها با حجم‌های مساوی به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. لازم به ذکر است که به دلیل جذب راحت‌تر دارو و نیز کنترل بهتر حیوانات، از روش تزریق داخل صفاقی استفاده شد. در گروه شاهد نیز از آب مقطر با حجم مساوی (۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن) استفاده گردید. نالوکسان نیز به صورت زیر جلدی تزریق شد.

برای ارزیابی میزان اضطراب از دستگاهی به نام ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع که مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه از چوب ساخته شده و شامل ۲ بازوی باز (هر کدام به ابعاد 50×50 سانتی‌متر) و ۲ بازوی بسته (هر کدام به ابعاد $40 \times 50 \times 50$ سانتی‌متر) و ۱ کفه مرکزی (به ابعاد 50×50 سانتی‌متر) می‌باشد، به طوری که بازوهای باز روبه‌روی هم و بازوهای بسته نیز روبه‌روی یکدیگر قرار دارند و در حدود ۵۰ سانتی‌متر از کف اطاق بالاتر قرار می‌گیرد. این مدل تجربی سنجش اضطراب، غیر شرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد.^(۱۳)

در صبح روز آزمون حیوانات به آزمایشگاه منتقل می‌شدند و داروهای مورد نظر به آنها تزریق می‌شد. هر موش به طور جداگانه، ۵ دقیقه قبل از آزمایش به اطاق کار منتقل می‌شد و در جعبه‌ای با دیواره‌های مشکی از جنس

در این مرحله موش‌ها به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شده و هر گروه به صورت زیر تحت بررسی قرار گرفتند و ۲۵ دقیقه بعد از آخرین تزریق، تست ارزیابی اضطراب انجام شد. الف) تزریق آب مقطر با حجمی معادل با حجم نالوکسان بلافاصله پس از تزریق آب مقطر با حجمی معادل با حجم جوشانده به ۱ گروه از موش‌ها. ب) تزریق نالوکسان به میزان ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بلافاصله پس از تزریق آب مقطر با حجمی معادل با حجم جوشانده به ۱ گروه از موش‌ها. ج) تزریق آب مقطر با حجمی معادل با حجم نالوکسان بلافاصله پس از تزریق جوشانده به میزان ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به ۱ گروه از موش‌ها. د) تزریق نالوکسان به میزان ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بلافاصله پس از تزریق جوشانده به میزان ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به ۱ گروه از موش‌ها.

به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات ثبت شده از تست آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و متعاقب آن برای مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون توکی (Tukey) استفاده گردید. اختلاف بین گروه‌های مورد آزمایش با $p < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. خوشبختانه با توجه به همکاری کلیه همکاران گروه فیزیولوژی و فراهم بودن امکانات و وسایل مورد نیاز مشکل خاصی در زمینه انجام این پژوهش وجود نداشت. سعی شد تا هیچ حیوانی از نظر مسایل اخلاقی مورد اذیت و آزار قرار نگیرد. در این پژوهش مشکل به خصوصی در این زمینه وجود نداشت.



نمودار شماره ۱- مقایسه تاثیر دوزهای مختلف جوشانده

سرشاخه‌های بادرنجبویه بر ورود به بازوی باز

اثرات مصرف دوز ۵ میلی‌گرم با $p=0.008$ ، دوز ۲۵ میلی‌گرم با $p=0.002$ و دوز ۵۰ میلی‌گرم با $p=0.008$ با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشت.

نتایج به صورت میانگین \pm میانگین انحراف معیار برای ۱۰ سر موش در هر گروه بیان شده است.

در نمودار شماره ۲ مشاهده می‌گردد که اثرات مصرف ۵ میلی‌گرم از جوشانده بادرنجبویه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشته به طوری که این میزان از جوشانده موجب افزایش مدت زمان سپری شده در بازوی

در این مرحله موش‌ها به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شده و هر گروه به صورت زیر تحت بررسی قرار گرفتند و ۲۵ دقیقه بعد از آخرین تزریق، تست ارزیابی اضطراب انجام شد.

الف) تزریق آب مقطر با حجمی معادل با حجم نالوکسان بلافاصله پس از تزریق آب مقطر با حجمی معادل با حجم جوشانده به ۱ گروه از موش‌ها.

ب) تزریق نالوکسان به میزان ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بلافاصله پس از تزریق آب مقطر با حجمی معادل با حجم جوشانده به ۱ گروه از موش‌ها.

ج) تزریق آب مقطر با حجمی معادل با حجم نالوکسان بلافاصله پس از تزریق جوشانده به میزان ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به ۱ گروه از موش‌ها.

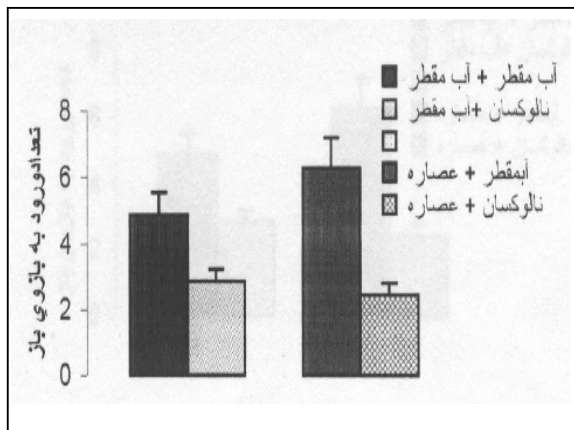
د) تزریق نالوکسان به میزان ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بلافاصله پس از تزریق جوشانده به میزان ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن به ۱ گروه از موش‌ها.

به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات ثبت شده از تست آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و متعاقب آن برای مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون توکی (Tukey) استفاده گردید. اختلاف بین گروه‌های مورد آزمایش با $p < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. خوشبختانه با توجه به همکاری کلیه همکاران گروه فیزیولوژی و فراهم بودن امکانات و وسایل مورد نیاز مشکل خاصی در زمینه انجام این پژوهش وجود نداشت. سعی شد تا هیچ حیوانی از نظر مسایل اخلاقی مورد اذیت و آزار قرار نگیرد. در این پژوهش مشکل به خصوصی در این زمینه وجود نداشت.

نتایج

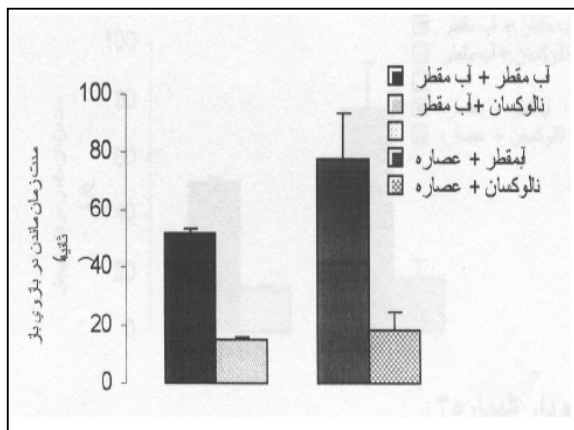
در این تجربه تعداد ورود به بازوی باز و مدت زمان سپری شده در بازوی باز به عنوان معیارهای ضد اضطراب مورد ارزیابی قرار گرفتند و میانگین حاصل در گروه‌های آزمایش و کنترل محاسبه شد و مورد مقایسه آماری قرار گرفت و نتایج حاصل شده به صورت نمودارهایی ارائه گردید. لازم به ذکر است که در مصرف دوزهای ۱۰ میلی‌گرم

۲ میلی‌گرم از نالوکسان بلافاصله پس از تزریق جوشانده موجب کاهش مدت زمان سپری شده در بازوی باز در این گروه (دریافت کننده عصاره) گردید. بدین ترتیب اختلاف آماری معنی‌دار با گروه کنترل وجود داشته است ($p=0/003$).



نمودار شماره ۳- مقایسه تاثیر مصرف ۵ میلی‌گرم از جوشانده سرشاخه‌های بادرنجبویه و ۲ میلی‌گرم از نالوکسان بر تعداد ورود به بازوی باز

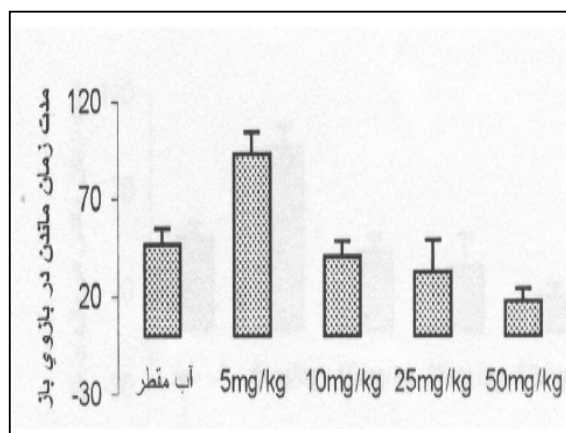
اثرات مصرف نالوکسان با $p=0/008$ و دوز ۵ میلی‌گرم از جوشانده با $p=0/02$ با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشت. نتایج به صورت میانگین \pm میانگین انحراف معیار برای ۷ سر موش در هر گروه بیان شده است.



نمودار شماره ۴- مقایسه تاثیر مصرف ۵ میلی‌گرم از جوشانده سرشاخه‌های بادرنجبویه و ۲ میلی‌گرم از نالوکسان بر مدت زمان سپری شده در بازوی باز

اثرات مصرف نالوکسان با $p=0/008$ و دوز ۵ میلی‌گرم از جوشانده با $p=0/02$ با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشت. نتایج به صورت میانگین \pm میانگین انحراف معیار برای ۷ سر موش در هر گروه بیان شده است.

باز گردید، در حالی که افزایش دوز مصرفی موجب کاهش مدت زمان سپری شده در بازوی باز گردید، بدین ترتیب اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل وجود داشته است.



نمودار شماره ۲- مقایسه تاثیر دوزهای مختلف جوشانده

سرشاخه‌های بادرنجبویه بر مدت زمان سپری شده در بازوی باز اثرات مصرف دوز ۵ میلی‌گرم از جوشانده با $p=0/027$ با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشت.

زمان برحسب ثانیه می‌باشد. نتایج به صورت میانگین \pm میانگین انحراف معیار برای ۱۰ سر موش در هر گروه بیان شده است.

در نمودار شماره ۳ مشاهده می‌شود که اثرات مصرف نالوکسان به میزان ۲ میلی‌گرم از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشته به گونه‌ای که مصرف این دوز موجب کاهش تعداد ورود به بازوی باز گردید، همچنین مصرف ۵ میلی‌گرم از عصاره دارویی موجب افزایش تعداد ورود به بازوی باز گردید و مصرف نالوکسان به میزان ۲ میلی‌گرم بلافاصله پس از تزریق جوشانده موجب کاهش تعداد ورود به بازوی باز در این گروه (دریافت کننده جوشانده) گردید بدین ترتیب اختلاف آماری معنی‌دار با گروه کنترل وجود داشته است ($p=0/007$).

در نمودار شماره ۴ مشاهده می‌شود که اثرات مصرف نالوکسان با دوز ۲ میلی‌گرم از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشته به گونه‌ای که مصرف این دوز موجب کاهش مدت زمان سپری شده در بازوی باز گردید. همچنین مصرف ۵ میلی‌گرم از عصاره دارویی موجب افزایش مدت زمان سپری شده در بازوی باز گردید در حالی که مصرف

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که کم‌ترین دوز جوشانده گیاه (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) موجب کاهش محسوسی در میزان اضطراب موش‌ها گردید ولی هر چه میزان دوزهای مصرفی افزایش یافت، کاهش بیش‌تری در تعداد ورود و مدت زمان ماندن در بازوی باز مشاهده شد به عبارت دیگر مصرف دوزهای بالاتر اثرات خواب‌آوری داشت. نتایج این مطالعه مشابه برخی گزارشات دیگر می‌باشد. در گزارشی به اثر ضد اضطرابی عصاره آبی بادرنجبویه در مقایسه با چند نوع عصاره گیاهی دیگر اشاره گردید.^(۴)

در مطالعه‌ای دیگر خواص آرام‌بخشی جوشانده بادرنجبویه در دوزهای پایین ثابت شده است، همچنین فعالیت ضد درد محیطی و تقویت اثرات خواب‌آوری در دوزهای پایین فنوباریتال در دوزهای بالای این جوشانده در موش سوری ثابت گردید.^(۸) فعالیت ضد دردی و ضد التهابی آن را در موش به اسید رزمارینیک و نیز احتمالاً به اوژنول نسبت داده‌اند.^(۱۰)

در مطالعات مختلف مشاهده شد که عصاره حاصله از روش پرکوله، اثرات ضد تشنجی به دنبال PTZ (پنتیلن تترازول) داشته است، که این اثر را به اسید کافیک موجود در آن نسبت داده‌اند. از طرفی با توجه به نقش گیرنده‌های (N-Methyl-D-Asparat)NMDA در ایجاد تشنجات صرعی و همین‌طور با در نظر گرفتن نقش پنتیلن تترازول و مکانیسم اثر آن (افزایش انتقال میانجی‌های عصبی در این گیرنده‌ها)، احتمال دارد که مولکول‌های شیمیایی موجود در عصاره در این انتقال تداخل نموده و باعث کاهش انتقال این میانجی‌ها شوند و در نتیجه منجر به تضعیف تشنجات صرعی ناشی از PTZ گردند که البته اثبات این فرضیه نیاز به مطالعه دقیق‌تری دارد.^(۹)

در مطالعه دیگری که به منظور بررسی تاثیر داروهای گیاهی سنتی بر اختلالات عصبی شامل آلزایمر، صرع و افسردگی انجام گردید نشان داده شد که بادرنجبویه هیچ فعالیتی در انتقال سروتونین نداشت ولی در فعالیت استیل کولین استراز دخالت داشته و نیز عصاره اتانولی آن فعالیت

متوسطی در اتصال به گیرنده گاما آمینوبوتیریک اسید A (Gama Amino Botric Acid-A) داشته است.^(۱۱) بنابراین از نتایج این مطالعه چنین بر می‌آید که اثر ضد اضطرابی بادرنجبویه شاید به خاطر اتصال به گیرنده گابای نوع A باشد.

در گزارشی آمده است که در آلمان این گیاه به عنوان تسکین دهنده و آرام بخش استفاده می‌شود به خصوص هنگامی که در فاز اول خواب (به دلیل عوامل ناخوشایند و اضطراب‌آور) اختلال ایجاد شده باشد.^(۸) همچنین در مطالعه‌ای که به منظور درمان بیماران مبتلا به آلزایمر انجام شد عصاره الکلی این گیاه موجب کاهش آژیتاسیون (بی‌قراری) بیماران مبتلا به آلزایمر نسبت به گروه شاهد گردید.^(۴) در یک مطالعه به ۲۲ فرد سالم و ۳۰ نفر بیمار مبتلا به اختلالات عصبی یا خواب ماده مؤثر موجود در عصاره این گیاه یعنی سیترونل تجویز نمودند که موجب خواب راحت و کاهش تون عضلانی گردید. این اثرات وابسته به دوز بود و در هر دو گروه مشاهده شد.^(۱۰) در گزارشی دیگر عصاره این گیاه موجب بهبودی قابل توجهی در بی‌خوابی، تحریک‌پذیری و طپش قلب و سردرد در بیماران روانی گردید.^(۷)

در مطالعه دیگری نیز اشاره شد که اسانس این گیاه دارای خاصیت ضد تشنجی و آرام کننده با اثر قاطع است مشروط بر آن که با مقادیر کم و درمانی مصرف گردد.^(۱) در مطالعه حاضر نیز مشخص شد که دوز کم آن اثر ضد اضطرابی داشت.

با توجه به این که در اکثر مطالعات برای بررسی اثرات مختلف از عصاره هیدروالکلی آن استفاده شد و در مطالعه حاضر اثرات ضد اضطرابی با جوشانده آن مشاهده گردید، بنابراین ماده مؤثر احتمالی آن که موجب بروز اثر ضد اضطرابی می‌شود در اثر جوشاندن از بین نمی‌رود. همچنین در این مطالعه مشاهده گردید که نالوکسان موجب کاهش اثر ضد اضطرابی دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از عصاره فوق می‌گردد، بنابراین عصاره فوق (با توجه به اثرات دیگر آن که قبلاً ذکر گردید) احتمالاً از طریق گیرنده

تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی استان سمنان و تأیید معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی سمنان در قالب طرح تحقیقاتی (سال ۱۳۸۳) انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین آن مراکز و همکاران محترم در بخش فیزیولوژی، آقایان صفاخواه و رجبی ابراز می‌دارند.

منابع

1- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Principles of neural science. 4th ed. NewYork: McGraw-hill; 2000. P. 1209-1225.

۲- ربانی - م، سجادی - س، جعفریان دهکردی - ع، زارعی - ح.ر. بررسی اثر ضد اضطرابی عصاره گیاه چای کوهی در مدل اضطراب EPM در موش سوری، کتابچه خلاصه مقالات هشتمین همایش علوم دارویی ایران، شیراز، ۷-۵ شهریور، سال ۱۳۸۱؛ صفحه: ۲۹۴.

۳- امید بیگی - ر. تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد سوم، چاپ دوم، مشهد، انتشارات آستان قدس رضوی، سال ۱۳۷۹؛ صفحه: ۷۸-۸۱.

۴- آخوندزاده - ش، نوروزیان - م، محمدی - م.ر، اوحدی‌نیا - س، جمشیدی - ا.ح، خانی - م. مطالعه بالینی عصاره بادرنجبویه در درمان دمانس نوع آلزایمر خفیف تا متوسط: یک مطالعه تصادفی دوسو بی‌خبر در مقایسه با دارونما، فصلنامه گیاهان دارویی، سال ۱۳۸۱؛ سال اول، شماره ۴؛ صفحه: ۵۷-۴۷.

۵- حیدری - م.ر، دربان - م. ارزیابی اثر ضد دردی عصاره متانولی گیاه بادرنجبویه با آزمایش Tail-Flick در موش سوری، مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، سال ۱۳۷۷؛ جلد ۳، شماره ۱، صفحه: ۸۱-۸۷.

۶- زرگری - ع. گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ ششم، انتشارات دانشگاه تهران، سال ۱۳۷۶؛ صفحه: ۷۷-۸۱.

7- Buechner KH, Hellings H, Huber M, Peukert E, Spath L, Deininger R. Double blind Study as evidence of the therapeutic effect of Melissengeist on Psycho-negative syndromes. Med Klin; 1974. 69(23): 1032-6.

اوپیویدی و با تاثیر بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی می‌تواند اثر ضد اضطرابی خود را اعمال نماید.

لازم به ذکر است که در بررسی‌های به عمل آمده در رابطه با نقش گیرنده‌های اوپیویدی بر اثرات ضد اضطرابی بادرنجبویه گزارشی مشاهده نگردیده است.

نتایج پژوهش دیگری نشان داد که مصرف مورفین، مدت زمان ماندن در بازوی باز به دنبال مصرف داروی موسیمول (آگونست گابا) را افزایش داد که این اثر مورفین به وسیله نالوکسان بلوک گردید. نتایج اوتورادیوگرافی در این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز مورفین اتصال موسیمول به سطح قاعده‌ای تالاموس خلفی، تالاموس خلفی میانی و نواحی آمیگدال را افزایش داد. در مقابل آن تجویز مورفین هیچ تغییری در اتصال موسیمول در موش‌هایی که فاقد گیرنده اوپیویدی از نوع μ بودند ایجاد نکرد. بنابراین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که گیرنده اوپیویدی از نوع μ ممکن است در اثر ضد اضطرابی ایجاد شده به دنبال انتقال عصبی گابانرژیک نقش داشته باشد.^(۱۷)

در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که نالوکسان اثرات تحریکی بنزودیازپین‌ها را بر فعالیت حرکتی موش‌ها متوقف کرد.^(۱۸) مطالعه‌ای دیگر نشان داد که اثرات ضد اضطرابی مورفین می‌تواند به وسیله سیستم نیتریک اکساید (Nitric oxide=NO) تعدیل شود، همچنان که در این مطالعه نشان داده شد که داروی L-Name (مهارکننده سنتز NO) موجب افزایش اثرات ضد اضطرابی مورفین می‌گردد.^(۱۹)

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که جوشانده سرشاخه‌های بادرنجبویه اثر ضد اضطرابی داشته و این اثر وابسته به دوز است. اثر ضد اضطرابی فقط با دوز پایین بادرنجبویه (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) مشاهده گردید و با دوزهای بالاتر اثر خواب‌آوری مشاهده شد. احتمالاً اثر ضد اضطرابی این گیاه به علت مواد مؤثر موجود در آن و تاثیر بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی و گیرنده‌های اوپیویدی می‌باشد.

- 18- Belzung C, Agmo A. Naloxone blocks anxiolytic-like effects of benzodiazepines in swiss but not in balb/c mice. *Psychopharmacology*; 1997. 132(2): 195-201.
- 19- Shin IC, Kim HC, Swanson J, Hong JT, Oh KW. Anxiolytic effects of acute morphine can be modulated by nitric oxide systems. *Pharmacology*; 2003. 68(4): 183-9.
- 8- Soulimani R, Fleurentin J, Mortijer F, Misslin R, Derrieu G, Pelt JM. Neurotropic action of the hydroalcoholic extract of melissa officinalis in the mouse. *Planta Med*; 1991. 25: 105-9.
- ۹- محمودی - م، حیدری - م، ر، ظهور - ع. بررسی اثر عصاره گیاه بادرنجبویه بر تشنجات صرعی ناشی از تزریق پنتیلین تترازول در موش صحرایی، مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۸۰؛ دوره هشتم، شماره ۲، صفحه: ۸۸-۹۴.
- 10- Coleta M, Campos MG, Cotrim MD, Propenca DA, Cunha A. Comparative evaluation of Melissa officinalis, Tilia europaea L, Passiflora edulis Sims, And Hypericum perforatum L, in the elevated plus maze anxiety test. *Pharmacopsychiatry*; 2001. 34(1): 220-1.
- ۱۱- خاکساری - م، رضوانی - م، سجادی - س.م. ع، سلیمانی - ع. بررسی اثر مصرف موضعی عصاره آبی *Rhazya Stricta* بر ترمیم زخم پوستی موش سفید بزرگ آزمایشگاهی، مجله علمی کومش دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سال ۱۳۷۹؛ جلد ۱، شماره ۳، صفحه: ۱۰-۱.
- ۱۲- صمصام شریعت - ه، معطر - ف. عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش شناسایی و ارزشیابی آن، چاپ اول، اصفهان، انتشارات مانی، سال ۱۳۷۳؛ صفحه: ۲۰-۱۰.
- ۱۳- صوفی آبادی - م، صادقی‌پور - ح.ر، شعبان‌زاده - ع، زرین‌دست - م.ر، دهپور - ا.ر. بررسی نقش واسطه‌ای نیتریک اکساید در تاثیر هورمونهای استروژن و پروژسترون بر اضطراب در موش صحرایی ماده، مجله علمی پژوهشی کومش دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سال ۱۳۸۰؛ جلد ۲، شماره ۳ و ۴، صفحه: ۱۸۵-۱۷۷.
- 14- Peake PW, Pussell BA, Martyn P. The inhibitory effect of rosmarinic acid on complement involves the C5 convertase. *Int. J. Immunopharmacol*; 1991. 13: 853-7.
- 15- Pischel B. A double-blind controlled study on the efficacy of citronellol bath additives on healthy subjects and on patients with a nervous or sleep. Disturbance proceedings from 6th phytotherapy conference; 1995 Oct5-7; Berlin, Germany; 1995. p. 25-6.
- 16- Salah SM, Jager AK. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *J Ethnopharmacol*; 2005. 97(1): 145-9.
- 17- Sasaki K, Fan LW, tien LT, Ma T, Loh HH, Ho TK. The intraction of morphine and GABA ergic system in anxiolytic behavior: Using mu-opioid receptor knockout mice. *Brain Res Bull*; 2002. 57(5): 689-94.

The Role of Opioid Receptors on Anxiolytic Effects of the Aqueous Extract of *Melissa Officinalis* in Mice

I
*H. Miladi Gorgi, MSc
IV
A.A. Taherian, MD
II
A.A. Vafae, PhD
V
M. Jarrahi, MSc
III
A. RashidiPoor, PhD
VI
M. Emami Abarghooe, PhD
VII
H. Sadeghi, BS

Abstract

Background & Objective: *Melissa officinalis* (MO) is a herb which grows in different parts of Iran. In previous studies, it was reported that 10% ethanolic extract of the aerial parts of MO, i.e. leaf and stem, could bring about antinociceptive, anticonvulsive, and sedative effects on rats. This study was designed to evaluate anxiolytic effects of different doses of the aqueous decoction extract of MO and also the role of opioid receptors.

Method: The subjects of this study were ninety-three male mice whose weights ranged from 25-30gr. Different doses of the extract (5, 10, 25, 50mg/kg-IP) were injected to four separated groups of ten (case groups) and water (10ml/kg-IP) was injected to the control group including 10 mice. A pilot study was also carried out on 15 mice. In order to evaluate the role of opioid receptors on anxiolytic effects of the aqueous decoction extract of MO, the rest of the subjects were divided into 4 groups including seven each. Then Naloxone (2mg/kg) and the extract of MO (5 mg/kg) were injected to them. To increase their activity and curiosity, animals were put inside a box with black walls for 5 min. Then animals were transferred to the elevated plus maze at adjusted intervals and their anxiety reactions including entrance numbers and time spent in open arm were recorded in 5 min.

Results: Results indicated that injection of 5mg of the extract reduced anxiety reactions. In comparison to control group, case group animals had both more numbers of entrance and more time spent in open arm ($P < 0.01$). However, higher doses of MO reduced entrance numbers and also time spent in open arm, that is, they had hypnotic effects. Naloxone reduced anxiolytic effects of low doses of *Melissa officinalis* extract (5mg/kg).

Conclusion: It is concluded that the aqueous extract of MO plays an important role in fear, anxiety and drowsiness so that the lowest dose (5mg/kg) produces anxiolytic effects and higher doses exert hypnotic ones. It is also probable that it works through opioid receptors.

Key Words: 1) Aqueous Decoction Extract 2) *Melissa Officinalis* (MO) 3) Naloxone
4) Anxiolytic 5) EPM (Elevated Plus Maze)

I) MSc in Physiology. Instructor. Physiology Research Center. Faculty of Medicine. Damghan Road, Semnan University of Medical Sciences and Health Services. Semnan, Iran. (*Corresponding Author)

II) Assistant Professor of Physiology. Physiology Research Center. Faculty of Medicine. Damghan Road, Semnan University of Medical Sciences and Health Services. Semnan, Iran.

III) Professor of Physiology. Physiology Research Center. Faculty of Medicine. Damghan Road, Semnan University of Medical Sciences and Health Services. Semnan, Iran.

IV) General Practitioner. Instructor. Physiology Research Center. Faculty of Medicine. Damghan Road, Semnan University of Medical Sciences and Health Services. Semnan, Iran.

V) MSc in Physiology. Instructor. Physiology Research Center. Faculty of Medicine. Damghan Road, Semnan University of Medical Sciences and Health Services. Semnan, Iran.

VI) PhD in Pharmacology. Instructor. Physiology Research Center. Faculty of Medicine. Damghan Road, Semnan University of Medical Sciences and Health Services. Semnan, Iran.

VII) BS in Veterinary Laboratory Sciences. Physiology Research Center. Faculty of Medicine. Damghan Road, Semnan University of Medical Sciences and Health Services. Semnan, Iran.