



## تأثیر عصاره گل نارنج در پیشگیری علائم شبه‌افسردگی ناشی از تزریق لیپوپلی ساکراید

### در موش صحرائی

۱، دکتر منطومه شمسی میمندی<sup>۱</sup>، دکتر علیرضا فرومدی<sup>۲</sup>، شاهرخ رفتاری<sup>۳</sup> و مجید اسدی شکاری<sup>۴\*</sup> دکتر مجید محمودی

#### خلاصه

مقدمه: بر اساس مدارک موجود در طب سنتی در مورد اثر درمانی گل درخت نارنج بر سیستم عصبی و استفاده از آن در درمان بیماری‌های عصبی، در این مطالعه تجربی اثر پیش‌درمانی عصاره گل این گیاه در جلوگیری و یا تعدیل روند علائم شبه افسردگی ایجاد شده در اثر تزریق سیستمیک لیپوپلی ساکراید در موش صحرائی مورد بررسی قرار گرفت (LPS).

روش: این مطالعه بر روی موش‌های صحرائی بالغ، نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم و با LPS استفاده از عصاره تهیه شده از گل‌های درخت نارنج به روش پركوله انجام شد. قبل از تزریق حیوانات در گروه‌های مجزا، آب آشامیدنی حاوی عصاره یک درصد دریافت کردند. علائم شبه افسردگی شامل کاهش تمایل به مصرف محلول ساکارز، بی‌اشتهایی، کاهش وزن و ناتوانی از لذت در آزمون‌های مجزا بررسی شد LPS بردن جنسی پس از تزریق.

با عصاره پیش‌درمان شده بودند، مصرف محلول LPS یافته‌ها: در گروهی از حیوانات که قبل از تزریق میزان مصرف ( $P >$  ساکارز نسبت به گروه کنترل افزایش یافت اما این افزایش معنی‌دار نبود ( $0/05$ ). نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌دار LPS غذا در این گروه در روزهای دوم و سوم بعد از تزریق بر میزان لذت بردن حیوان نر از حیوان ماده و اثر LPS در بررسی اثر ( $P <$  افزایش یافت ( $0/05$ ). پیش‌درمانی عصاره، در گروه مورد که با عصاره پیش‌درمان شده بودند، در دو فاصله زمانی ۲ و ۲۴

۱- متخصص ایمونولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان و مرکز تحقیقات سرطان، انستیتو کانسر، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۲- مربی گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۳- دانشیار شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۴- کارشناس، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۵- مربی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

majid\_mahmoodi@yahoo.com آدرس پست الکترونیک: \* نویسنده مسؤول: تهران - مرکز تحقیقات سرطان - انستیتو کانسر، دانشگاه علوم پزشکی \*

دریافت مقاله: ۱۳۸۴/۲/۸ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۴/۱۰/۲۰ پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۱۰/۲۸

میزان این تمایلات به میزان قبل از تزریق رسید در حالی که در گروه LPS ساعت بعد از تزریق کنترل میزان این تمایلات در این فواصل زمانی کاهش معنی داری نسبت به میزان قبل از تزریق داشت. در کاهش میانجی‌های عصبی نظیر نوراپی‌نفرین و سرتونین در بعضی از LPS نتیجه‌گیری: با توجه به اثر قسمت‌های مغز و در نتیجه ایجاد علائم شبه افسردگی در موش صحرایی، ممکن است پیش‌درمانی طولانی مدت عصاره گل نارنج در ممانعت و یا تعدیل علائم شبه افسردگی از طریق جلوگیری از کاهش میزان این میانجی‌های عصبی باشد. تأیید این نظریه مستلزم مطالعات دیگر و بررسی اثرات فارماکولوژیک عصاره گل نارنج می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گل نارنج، شبه افسردگی، لیپوپلی ساکارید

تنها یک منبع اشاره به تعیین درصد فلاونوئیدهای موجود در برگ‌ها و گل‌های این گیاه نموده که نشان‌دهنده بالا بودن این ترکیبات در گل‌ها نسبت به برگ‌هاست. ترکیبات بیوشیمیایی تقریباً (Flavonoids) (۱۰). فلاونوئیدها ضروری برای سلول‌های بدن مهرباران می‌باشند که در بیشتر ترکیبات طبیعی یافت می‌شوند. به عنوان مثال یک نوع فلاونوئید است که به طور وسیعی در Quercetin گیاهان یافت می‌شوند (۱۸). بر اساس تحقیقات انجام و دیگر فلاونوئیدها تأثیرات فارماکولوژیک Quercetin یافته وسیعی، از جمله ممانعت از اکسیداسیون لیپوپروتئین‌های با وزن مولکولی پایین، جلوگیری از تجمع پلاکت‌ها و همچنین پایداری سلول‌های ایمنی را دارا هستند (۳). لذا در درمان ناراحتی‌های روانی نظیر افسردگی، عفونت‌های ویروسی، تورم و آلرژی استفاده می‌شوند (۱۸). در یک مطالعه تجربی که بر روی گیاه دارویی صورت گرفته، نشان داده شده است *perforatum Hypericum* که فلاونوئیدهای جدا شده از عصاره این گیاه در تعدیل و کاهش اثرات افسردگی ایجاد شده در موش صحرایی به طور معنی داری مؤثر است و این اثر کاملاً اختصاصی است (۷). در مطالعه دیگری که روی عصاره گیاه دارویی حاوی انواع فلاونوئیدها، صورت *Apocynum-Venetum* گرفته، نتایج مشابهی به دست آمده است (۸).

با توجه به گزارشات فوق دال بر وجود فلاونوئیدها در گل‌های گیاه نارنج و اثرات ضدافسردگی فلاونوئیدها، مطالعه حاضر صورت گرفت. در این کار تجربی از تزریق (جهت ایجاد علائم شبه افسردگی LPS لیپوپلی ساکارید) استفاده شد (۵). تزریق داخل depressive like symptoms صفاقی این اندوتوکسین که جزء ساختار دیواره سلولی

#### مقدمه

بر اساس آمار گزارش شده حدود ۳۴۰ میلیون نفر از جمعیت دنیا به افسردگی مبتلا هستند و طبق برآورد سازمان جهانی بهداشت تا سال ۲۰۲۰ میلادی این بیماری بعد از نارسایی‌های قلبی به عنوان دومین بیماری جمعیت جهان خواهد بود (۱۷، ۱۹). با وجود پیشرفت‌های علم پزشکی هنوز ۳۰ درصد مبتلایان به این بیماری بهره‌ای از داروهای موجود نمی‌برند (۱۲). یکی از علل عدم درمان این بیماری اجتناب افراد از مصرف داروهای شیمیایی به علت اثرات جانبی این داروها می‌باشد.

گزارشات چندی حاکی از اثرات درمانی گل درخت چه در طب سنتی (*Citrus aurantium L.*) نارنج یا بهار نارنج ایران و چه در منابع کشورهای دیگر ذکر شده است. در طب سنتی ایران گل‌های این گیاه در درمان بیماری‌های عصبی نظیر هیستری، تشنج و ضعف اعصاب استفاده می‌شده است. به علاوه این گیاه به عنوان آرام‌بخش، خواب‌آور، اشتها آور و برطرف کننده طپش قلب خوانده شده است (۱). در مطالعه‌ای که بر روی ۸۰۲ بیمار سرپایی جهت تعیین گرایش آنها به استفاده از گیاهان دارویی صورت گرفته، نشان داده شده است که بیشتر این افراد از سرشاخه‌های جوان گیاه دارویی نارنج جهت درمان ناراحتی‌های مختلف از جمله ناراحتی‌های عصبی و دستگاه گوارش و همین‌طور به عنوان آرام‌بخش استفاده می‌کنند (۱۳). تاکنون در مورد مواد تشکیل دهنده گل‌ها و یا برگ‌های جوان این گیاه مطالعه اساسی صورت نگرفته و

محمودی و همکاران تأثیر عصاره گل نارنج در پیشگیری علائم شبه افسردگی ...

داشته شد. حدود ۷۲ ساعت بعد، محلول عصاره تهیه شده جدا و به کمک دستگاه تقطیر در خلأ در حرارت ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی گراد، تا حد خشک شدن تغلیظ گردید. از این عصاره خشک معطر بر اساس گرم در صد میلی لیتر آب آشامیدنی محلول عصاره تهیه گردید و با انجام مرحله پیش آزمون مشخص گردید، محلول یک گرم در صد میلی لیتر آب آشامیدنی آزمون شده مناسب تر است.

مطالعه در دو مرحله پیش آزمون و آزمون صورت گرفت. مرحله پیش آزمون جهت تعیین دوز مناسب و روش مناسب تجویز عصاره (تزریق داخل صفاقی و یا همراه با آب آشامیدنی) انجام گرفت. بر اساس نتایج حاصل از این مرحله موش های صحرایی در گروه های ۸ تا ۱۰ تایی با عصاره یک درصد در آب آشامیدنی پیش درمان شدند.

آزمون ۱: آزمون ترجیح حیوان به مصرف محلول ساکارز و بر روی این تمایل: این آزمون روی دو گروه ۸ تایی LPS اثر موش صحرایی انجام شد. در هر قفس که متشکل از ۴ سر موش بود دو ظرف مشابه و مدرج که یکی حاوی محلول ساکارز و دیگری حاوی آب معمولی بود قرار داده شد. (۱۰mm) بدین ترتیب همه موش ها به مدت ۴ ساعت طعم هر دو محلول را چشیدند. روز بعد آزمون اصلی انجام گرفت. در روز دوم ۴ ساعت قبل از شروع آزمون، به حیوانات گروه به میزان LPS مورد (۸ سر موش) تزریق داخل صفاقی ۵۰۰ انجام گردید، در حالی که به حیوانات گروه  $\mu\text{g/kg}$  کنترل (۸ سر موش) نرمال سالین تزریق گردید. سپس به مدت ۴ ساعت حیوانات به هیچ گونه محلول آشامیدنی دسترسی نداشتند، تا شروع آزمون که ظروف محلول ساکارز و آب در هر قفس گذاشته می شد. مدت این آزمون ۲۰ دقیقه بود و طی این مدت، مکان ظروف مزبور چندین مرتبه عوض شد تا حیوانات بتوانند طعم هر دو محلول را بچشند. در هر گروه از موش ها روزانه ۶ بار آزمون فوق طی دو روز متوالی صورت گرفت. میزان تمایل به مصرف آب یا محلول ساکارز در ۶ آزمون (روزانه) به صورت زیر محاسبه شد:

میزان محلول ساکارز مصرفی (به میلی لیتر) در هر گروه تقسیم بر مجموع محلول ساکارز و آب آشامیدنی

باکتری های گرام منفی می باشد به موش صحرایی، منجر به ایجاد یک شبه عفونت در حیوان می گردد و علائمی به همراه دارد که مشابه علائم افسردگی است (۲۰). از جمله این علائم ناتوانی از لذت بردن، کاهش وزن، کمی تحرک، عدم تمایل به مصرف محلول ساکارز و بی اشتها می باشد. تمام این علائم با داروهای ضد افسردگی می باشند (۱۱، ۲۰) مانند ایمی پرامین از بین می رود (۴). در این مطالعه که بر روی گروه های مجزای موش های صحرایی انجام گردید، اثر پیش درمانی با عصاره گل های درخت نارنج به صورت حاد و طولانی مدت بر علائم شبه افسردگی ناشی از تزریق ارزیابی شده و با گروه های کنترل مقایسه گردید. LPS

### روش بررسی

حیوانات، شرایط آزمایش و تزریق لیپوپلی ساکارید: در این به وزن wistar مطالعه از موش های صحرایی بالغ، نژاد تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. موش ها (بر اساس نوع آزمایش جنس نر و یا ماده آنها به کار برده شد) در گروه های ۴ تایی در هر قفس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲۱ تا ۲۵ درجه سانتی گراد و دسترسی آزاد به آب و غذای آماده استاندارد نگهداری شدند. جهت ایجاد علائم شبه افسردگی از تزریق استفاده شد (۲۰، ۱۱). LPS داخل صفاقی

عصاره و محلول جمع آوری گل های درخت نارنج و تهیه Citrus عصاره: در این مطالعه فقط از گل های درخت نارنج بدون مخلوط Rutaceae از خانواده مرکبات یا *L. aurantium* شدن با گل های سایر مرکبات استفاده شد. گل های این گیاه از شهرستان بوم و از محل مناسب تهیه گردید. جمع آوری گل های درخت نارنج در این شهرستان از نیمه دوم اسفند ماه لغایت فروردین ماه و معمولاً در اوایل طلوع خورشید صورت می گیرد. روش عصاره گیری به طریق پرکولاسیون انجام گردید (۲). به طور خلاصه در این روش گل های گیاه، با استفاده از هاون، خوب آسیاب شده و سپس به کمک الک مخصوص پودر آن جدا گردید. ۵۰ گرم از پودر تهیه شده داخل بشر بزرگی ریخته شد و به آن متانول ۸۰ درصد اضافه شد. پس از مدت ۲۴ ساعت محلول به درون پرکولاتور منتقل شد. بعد از اضافه نمودن متانول ۸۰ درصد، به عنوان حلال، شیر پرکولاتور تا حدی که سرعت جریان حلال ۲ تا ۳ قطره در دقیقه باشد باز نگه

نارنج (۱٪) و در قفس‌های دو گروه دوم ظرف حاوی آب معمولی گذاشته شد. هر هفته موش‌ها توزین شدند تا LPS میانگین وزن موش مادر هر گروه قبل از تزریق اندازه‌گیری شود. به همین ترتیب میزان مصرف غذای روزانه در هر گروه با توزین غذای مصرف شده در ۲۴ ساعت اندازه‌گیری گردید تا میانگین مصرف غذای روزانه اندازه‌گیری شود. بعد از این LPS هر گروه قبل از تزریق مدت جهت اندازه‌گیری میزان تحرک و لذت بردن حیوان، هر یک از موش‌ها به تنهایی در یک محفظه روشن قرار داده شد. بعد از ۱۵ دقیقه که به محیط عادت نمود، یک موش جوان ماده در داخل محفظه گذاشته شد، مدت زمانی حیوان (تمیز نمودن) که موش نر مشغول بوئیدن و لیسیدن ماده در طول مدت ۳ دقیقه بود اندازه‌گیری شد (۱۳) و محاسبه شد LPS میانگین آن برای هر گروه قبل از تزریق .. سپس به موش‌های یک گروه از دو گروه اول (baseline) LPS به حیوانات یک گروه از دو گروه دوم، و همین‌طور ۱۰۰۰ تزریق گردید و به دو گروه باقیمانده  $\mu\text{g}/\text{kg}$  به میزان نرمال سالیین تزریق شد. مصرف غذای روزانه هر گروه تا ۳ روز بعد از تزریق اندازه‌گیری شد و طرز برخورد هر یک از آنها با جنس ماده با اندازه‌گیری مدت زمان بوئیدن و لیسیدن موش ماده در مقاطع زمانی ۲ ساعت، ۶ ساعت و اندازه‌گیری شد. LPS ۲۴ ساعت بعد از تزریق روش‌های آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار صورت گرفت. هر یک از SPSS (Version:10) متغیرها بر حسب میانگین  $\pm$  اختلاف معیار بیان گردید. independent samples t test مقایسه میانگین‌ها توسط انجام پذیرفت و سطح معنی‌داری در این آزمون کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج

۱. اثر تزریق لیپوپلی ساکارید بر میزان ترجیح موش صحرائی به مصرف ساکارز: آزمون ترجیح در دو مقطع زمانی ۴ و ۱۲ و نرمال سالیین صورت گرفت. ۴ LPS ساعت بعد از تزریق ساعت بعد از تزریق میزان ترجیح حیوانات به مصرف

مصرف شده در آن گروه و سپس این میزان در دو گروه مورد آزمون و کنترل مقایسه گردید.

آزمون ۲: اندازه‌گیری میزان مصرف محلول ساکارز: چهار گروه موش صحرائی انتخاب شد (۸ سر در هر گروه) و به مدت ۴۸ ساعت در قفس‌های دو گروه اول ظرف حاوی محلول ساکارز و در قفس‌های دو گروه دوم ظرف حاوی آب معمولی گذاشته شد. بعد از این مدت به مدت ۴۸ ساعت در قفس‌های همه گروه‌ها ظرف حاوی آب معمولی گذاشته شد. سپس به یک گروه از ۲ گروه اول و به یک (به طریق  $500 \mu\text{g}/\text{kg}$  به میزان LPS گروه از ۲ گروه دوم داخل صفاقی تزریق گردید و به ۲ گروه باقیمانده نرمال سالیین تزریق گردید. ۴ ساعت بعد از تزریق ظرف‌های حاوی ساکارز و یا آب معمولی مطابق ابتدای آزمون در هر قفس گذاشته شد و به مدت ۱۲ ساعت میزان محلول ساکارز و آب مصرف شده اندازه‌گیری شد.

آزمون ۳: اثر پیش‌درمانی حاد و طولانی مدت محلول عصاره بهار نارنج در تمایل موش‌های صحرائی شبه افسرده به محلول ساکارز:

۳۲ سر موش صحرائی نر انتخاب شدند (در چهار گروه ۸ تایی) و به مدت ۲۴ ساعت در قفس‌های ۲ گروه اول ظرف حاوی محلول عصاره بهار نارنج (یک درصد) و در قفس‌های ۲ گروه دوم ظرف حاوی آب معمولی گذاشته شد. بعد از این مدت به یک گروه از ۲ گروه اول و به  $1000 \mu\text{g}/\text{kg}$  به میزان LPS یک گروه از ۲ گروه دوم تزریق شد و به دو گروه باقیمانده نرمال سالیین تزریق گردید. بعد از ۴ ساعت جهت اندازه‌گیری تمایل نوشیدن ساکارز در هر گروه، آزمون ۱ در آنها انجام گردید. سپس به مدت ۲ هفته، طبق ابتدای آزمون در قفس‌های ۲ گروه اول، ظرف حاوی محلول عصاره بهار نارنج (یک درصد) و در قفس‌های ۲ گروه دوم، ظرف حاوی آب معمولی و یا LPS گذاشته شد. بعد از این مدت، تزریق دوم نرمال سالیین در هر گروه انجام شد و پس از ۴ ساعت آزمون ۱ جهت اندازه‌گیری تمایل به نوشیدن محلول ساکارز و یا آب معمولی در هر چهار گروه انجام پذیرفت.

آزمون ۴: ارزیابی عصاره بر روی علائم دیگر شبه افسردگی ناشی از تزریق لیپوپلی ساکارید: ۳۲ سر موش صحرائی نر به چهار گروه ۸ تایی تقسیم شدند. به مدت دو هفته در قفس‌های دو گروه اول ظرف حاوی محلول عصاره بهار

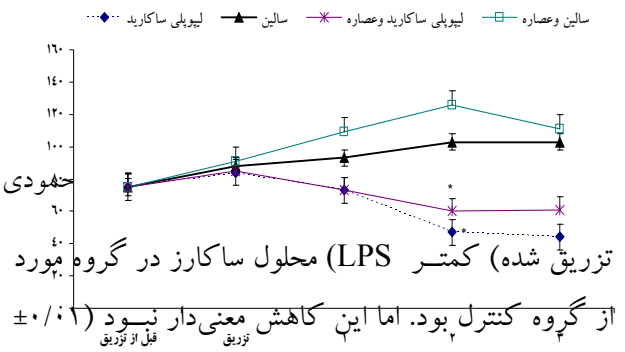
چهودی و همکاران تأثیر عصاره گل نارنج در پیشگیری علائم شبه افسردگی ...

**نمودار ۲.** اثر پیش درمانی طولانی مدت عصاره بهار نارنج در مقایسه با عدم آن بر پیش‌گیری از کاهش وزن بدن موش صحرایی در اثر تزریق لیپوپولی ساکارید

و یا نرمال سالین LPS و بعد از تزریق (Baseline) میانگین وزن بدن حیوانات هر گروه قبل پیش‌درمانی با عصاره موجب کاهش معنی‌داری در وزن حیوان نشد. اندازه‌گیری گردید.

**۳.** اثر پیش‌درمانی حاد و طولانی مدت عصاره بهار نارنج در پیشگیری علائم شبه افسردگی ناشی از تزریق لیپوپولی ساکارید: در این آزمون، ترجیح حیواناتی که به صورت حاد و یا به صورت طولانی مدت، پیش‌درمان گردیدند اندازه‌گیری شد. ترجیح حیوانات به مصرف محلول ساکارز در کلیه گروه‌های پیش‌درمانی شده نسبت به گروه کنترل و همچنین نسبت به گروهی که با عصاره پیش‌درمان نشده قرار گرفته بودند افزایش نشان LPS بودند و مورد تزریق داد، اما این افزایش معنی‌دار نبود (میزان ترجیح در مرحله در مقابل  $0.7 \pm 0.3$   $1.0 \pm 0.87$   $P > 0.05$  پیش‌درمانی حاد:  $0.5$  و میزان ترجیح در مرحله پیش‌درمانی طولانی مدت:  $0.5$   $P > 1.1 \pm 0.76$   $0.65 \pm 0.10$  در مقابل).

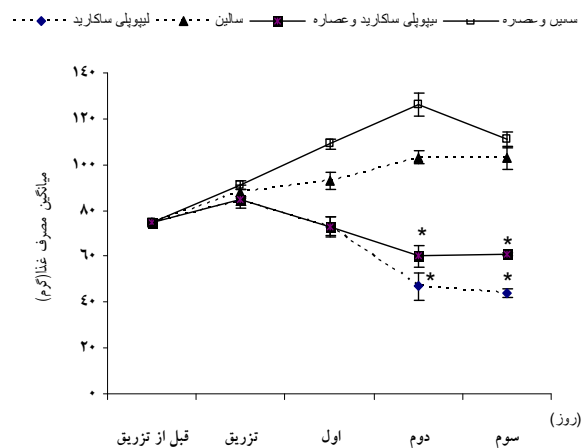
**۴.** اثر عصاره بر روی علائم دیگر شبه افسردگی (بی‌اشتهایی، کاهش وزن، ناتوانی از لذت بردن) ناشی از تزریق لیپوپولی ساکارید: کاهش اشتها حیوانات در اثر تزریق و اثر پیش‌درمانی طولانی مدت عصاره بر این LPS کاهش در نمودار ۱ نشان داده شده است. همان‌طوری که مصرف LPS مشاهده می‌گردد، در گروه کنترل تزریق غذا را در این گروه کاهش داد و این کاهش در روزهای دوم و سوم بعد از تزریق نسبت به قبل از تزریق (baseline)  $0.5$   $P < 1.2 \pm 0.45$  در مقابل  $0.7 \pm 0.5$   $P > 0.05$  پیش‌درمانی با عصاره باعث افزایش



تزریق شده) کمتر LPS) محلول ساکارز در گروه مورد تزریق از گروه کنترل بود. اما این کاهش معنی‌دار نبود ( $0.2$   $P < 0.05$  در مقابل  $0.58 \pm 0.05$ ). در حالی که ۱۲ ساعت بعد از تزریق این کاهش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار شد (در مقابل  $0.1 \pm 0.84$   $0.02 \pm 0.64$   $P < 0.05$ ).

**۲.** اثر تزریق لیپوپولی ساکارید بر میزان مصرف ساکارز در موش صحرایی باعث کاهش LPS صحرایی: تزریق  $0.5$   $P < 4.04 \pm 3.108$  در مقابل  $0.6 \pm 0.74$   $2.15$ ، ولی تأثیر معنی‌داری بر  $0.5$   $P > 4.04 \pm 3.63$  در مصرف آب آشامیدنی نداشت ( $0.5$   $P > 6.5 \pm 4.3$   $3$  در مقابل).

گروه‌های گیرنده:



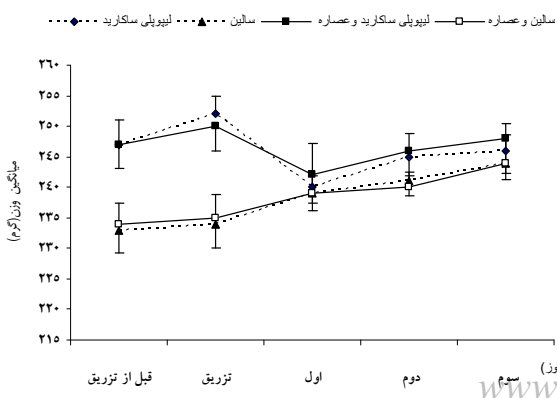
**نمودار ۱.** اثر پیش‌درمانی طولانی مدت عصاره بهار نارنج در

مقایسه با عدم آن بر پیش‌گیری از کاهش اشتها موش صحرایی ناشی از تزریق لیپوپولی ساکارید

یا نرمال سالین LPS میانگین میزان مصرف غذای روزانه هر گروه از حیوانات قبل یا بعد از تزریق به تنهایی و یا با پیش‌درمانی عصاره موجب کاهش مصرف LPS اندازه‌گیری گردید. تزریق غذای روزانه شد.

$P < 0.05$  اختلاف معنی‌دار با قبل از تزریق \*

گروه‌های گیرنده:



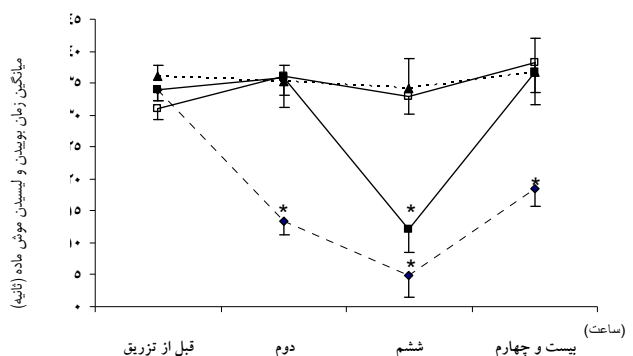
میانگین مصرف غذا گردید که تأثیر آن در روزهای دوم به طور معنی دار نسبت به گروه LPS و سوم بعد از تزریق (در مقابل  $7 \pm 5/60$   $45/5 \pm 2/1$   $P <$ ، کنترل بود  $0/05$ ).

و اثر LPS کاهش وزن حیوانات در اثر تزریق پیش درمانی طولانی مدت عصاره بر این کاهش در نمودار ۲ نشان داده شده است. همان طوری که مشاهده می گردد، در کاهش وزن چه در گروه کنترل LPS اثر تزریق تزریق شده) و چه در گروه مورد (پیش درمان شده LPS) با عصاره) در روزهای بعد از تزریق نسبت به قبل از در مقابل  $7/0 \pm 5/245$   $P >$  تزریق معنی دار نمی باشد  $0/05$   $249/5 \pm 3/5$ ). به علاوه کاهش وزن ایجاد شده در اثر بین گروهی که با عصاره پیش درمان شده LPS تزریق بودند و گروهی که عصاره دریافت نکرده بود اختلاف  $P >$  معنی داری نداشت  $0/05$ ).

بر میزان لذت بردن حیوان نر از حیوان ماده و LPS اثر پیش درمانی عصاره بر این اثر در نمودار ۳ نشان داده شده موجب کاهش LPS است. در گروه کنترل تزریق معنی دار این لذت در هر سه فاصله زمانی ۲، ۶ و ۲۴ ساعت در  $1/2 \pm 5/14$   $P <$  مقایسه با قبل از تزریق شد  $0/05$  مقابل  $35/5 \pm 1/7$ ). در گروهی که با عصاره پیش درمان شده بودند فقط در فاصله زمانی ۶ ساعت این میزان تمایلات کاهش داشت و در دو فاصله زمانی دیگر (۲ و ۲۴ ساعت میزان تمایلات به حد طبیعی رسید (LPS بعد از تزریق

گروه های گیرنده:

سالین و عصاره — لیبوپلی ساکارید و عصاره — سالین — لیبوپلی ساکارید —



**نمودار ۳.** اثر پیش درمانی طولانی مدت عصاره بهار نارنج در مقایسه با عدم آن بر پیش گیری از کاهش میل جنسی ناشی از تزریق ( در موش صحرایی LPS لیپوپلی ساکارید )

میانگین زمان دفعات بوییدن و لیسیدن حیوانات هر گروه در طول مدت سه دقیقه یک روز قبل و یا نر مال سالین اندازه گیری گردید. (LPS) و ۲، ۶ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق Baseline)) در LPS در گروهی که با عصاره پیش درمان شده بودند میل جنسی فقط ۶ ساعت بعد از تزریق در تمامی ساعات مورد آزمون موجب LPS کاهش معنی داری نشان داد. در حالی که تزریق کاهش میل جنسی شد.  $P <$  اختلاف معنی دار با قبل از تزریق  $0/05$ \*

### بحث

افسردگی از ناراحتی های روانی می باشد که در همه جوامع، چه پیشرفته و چه در حال توسعه، از معضلات اجتماعی و اقتصادی به شمار می رود. افسردگی از کودکی و نوجوانی شروع شده و با بالا رفتن سن، میزان آن افزایش می یابد. مطالعه جهت یافتن دارویی مؤثر و بی خطر برای درمان این بیماری نه تنها شامل کشف داروهای شیمیایی جدید می گردد، بلکه داروهای گیاهی را نیز در بر می گیرد. در این مورد آن دسته از داروهای گیاهی که در طب سنتی به کار می رفته بیشتر مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته اند. مطالعه حاضر که به منظور بررسی اثر پیش درمانی عصاره متانولی گل های درخت نارنج در جلوگیری و یا کاهش اثرات شبه افسردگی ناشی از تزریق لیپوپلی ساکارید در LPS موش صحرایی انجام گرفت، نشان داد که: (۱) تزریق به موش صحرایی موجب بروز علائم شبه افسردگی می شود و از جمله این علائم کاهش تمایل حیوان به مصرف ساکارز و یا مواد قندی می باشد. تزریق سیستمیک باعث کاهش میزان آشامیدن حیوان نگردید، اما LPS

محمودی و همکاران تأثیر عصاره گل نارنج در پیشگیری علائم شبه افسردگی ...

پیش‌درمانی حیوانات با ایمی‌پرامین باعث افزایش اشتها و افزایش ترجیح حیوان به مصرف ساکارز گردیده‌است (۲۰)).

همان‌طوری که اشاره شد از جمله ترکیبات مهم یافت شده در عصاره تهیه شده از گل‌های بهار نارنج، فلاونوئیدها می‌باشند که میزان آن در گل نسبت به برگ‌های این گیاه بیشتر است (۱۰) از طرفی در مطالعاتی که روی عصاره صورت گرفته *Hypericum perforatum* گیاه دارویی نشان داده شده است که عصاره تهیه شده از گل‌های و سر شاخه‌های جوان این گیاه اثرات ضد افسردگی مشخص و معنی‌داری را چه در انسان و چه در مدل‌های آزمایشگاهی افسردگی در حیوانات ایجاد کرده است (۶،۷). از جمله ترکیبات یافت‌شده در عصاره این گیاه که اثرات ضد افسردگی داشته‌اند، فلاونوئیدها، هیپرفورین بوده‌اند (۷،۹). با hypericin و هیپرسیسین (hyperforin) این شواهد شاید بتوان گفت اثر ضد افسردگی عصاره بهار نارنج در مدل حیوانی مربوط به فلاونوئیدهای موجود در عصاره است. برای تأیید این نظریه نیاز به مطالعه بیشتر و جدا نمودن فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات مؤثره و بررسی اثرات هر کدام از این ترکیبات می‌باشد.

باعث کاهش میزان نوراپی‌نفرین، دوپامین و LPS تزریق سروتونین در بعضی از قسمت‌های مغز از جمله هیپوتالاموس، هیپوکامپ و لایه قشری مغز می‌گردد (۱۵)، لذا ممکن است پیش‌درمانی طولانی مدت عصاره به نحوی در کاهش میزان نوروترانسمیترهای فوق LPS از اثر جلوگیری نماید.

*Hypericum perforatum* از نقطه نظر مکانیسم اثر، عصاره گیاه، مانع جذب میانجی‌های عصبی از قبیل *Hypericum perforatum* سروتونین، نورآدرنالین و دوپامین توسط استتال‌های

باعث کاهش معنی‌دار اشتها، وزن و تمایلات جنسی گردید. (۲) پیش‌درمانی با عصاره گل نارنج باعث تعدیل و یا کاهش معنی‌دار بعضی از اثرات ناشی از تزریق لیپوپلی‌ساکارید گردید در حالی که در سایر آثار شبه (افسردگی تغییر معنی‌دار مشاهده نشد) (نمودارهای ۱ تا ۳) با توجه به اینکه داروهای موجود ضد افسردگی معمولاً چندین هفته پس از مصرف اثر درمانی خود را نشان می‌دهند و در زمان شروع مصرف تأثیری ندارند، در این مطالعه پیش‌درمانی با عصاره، به دو صورت حاد و طولانی مدت انجام گرفت. نتایج حاصله نشان داد که هر گاه به (LPS عصاره به صورت حاد) یک روز قبل از تزریق حیوانات داده شود، تنها می‌تواند بر کاهش ترجیح حیوان به مصرف ساکارز اثر نماید و آن را افزایش دهد اما بر اثر محسوسی ندارد. زمانی LPS سایر آثار ناشی از تزریق که عصاره به صورت طولانی مدت پیش‌درمانی شود، بر از قبیل کاهش LPS روی بعضی از آثار ناشی از تزریق اشتها، کاهش لذت بردن حیوان نر از حیوان ماده اثر نموده و به‌طور معنی‌دار آنها را افزایش می‌دهد و تغییری در سایر نمی‌دهد هر چند باعث افزایش LPS آثار ناشی از تزریق و یا تعدیل این اثرات می‌گردد. در مجموع گروهی از حیوانات که با عصاره پیش‌درمان شده بودند سریع‌تر از گروه کنترل توانستند از علائم شبه افسردگی ایجاد شده خود را رهایی بخشند. در مطالعه‌ای LPS ناشی از تزریق صورت گرفته، نتایج مشابهی با نتایج Yirmiya که توسط تجربیات حاضر در موش صحرائی به دست آمده‌است. وی جهت پیش‌درمانی حیوانات، داروی ضد افسردگی ایمی‌پرامین و برای ایجاد علائم شبه افسردگی از تزریق استفاده نموده و نتایجی از قبیل تغییر نیافتن میزان LPS تمایلات جنسی و کاهش وزن گزارش نموده، در حالی که

افسردگی در مدل حیوان آزمایشگاهی بود. با توجه به نتایج به دست آمده و با توجه به اینکه استفاده از گیاهان دارویی در مقایسه با داروهای شیمیایی آثار جانبی کمتری دارد، مطالعات فارماکولوژیک بیشتری جهت جداسازی ترکیبات مؤثر در عصاره و احتمالاً بررسی آثار جانبی و سمی آن توصیه می‌گردد، هر چند در این تحقیق حتی دوزهای بالای عصاره آثار سمی مشهودی در موش صحرایی ایجاد نکردند.

نورونی می‌گردد (۱۶)، با توجه به این امر که در بسیاری از موارد افسردگی به علت کمبود و یا حتی عدم تولید خصوصاً نورآدرنالین (catecholamines) کاتکولآمین‌ها می‌باشد (۱۴)، لذا اثر عصاره بهار نارنج ممکن است از طریق جلوگیری از جذب میانجی‌های عصبی نظیر سروتونین و یا نورآدرنالین صورت گیرد و یا به نحوی باعث افزایش فعالیت آنها گردد. مطالعه حاضر یک مطالعه مقدماتی، جهت روشن شدن چگونگی اثر عصاره گیاه نارنج در جلوگیری از علائم شبه



محمودی و همکاران تأثیر عصاره گل نارنج در پیشگیری علائم شبه افسردگی ...

### Summary

#### Antidepressant Effect of Sour Orange flowers Extract on Lipopolysaccharide-induced Depressive-like Behaviors in Rat

Mahmoodi M., Ph.D<sup>1</sup>., Shamsi-Meimandi M., Pharm. D<sup>2</sup>., Foroumadi A.R., Ph.D<sup>3</sup>., Raftari Sh, BSc.<sup>4</sup> and Asadi Shekari M., M.Sc.<sup>5</sup>

1. Immunologist, Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences and Cancer Research Center, Cancer Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran 2. Instructor, Physiology and Pharmacology Department, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. 3. Associate Professor of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran 4. Technologist, Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran 5. Instructor, Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

**Introduction:** Based on the documents in traditional medicine regarding the therapeutic effect of Sour orange flowers (*Citrus aurantium L.*) on the nervous system disorders, this experimental study was conducted to evaluate the pretreatment of Sour orange flowers extract in preventing or reducing depressive-like behaviors induced by systemic injection of lipopolysaccharide (LPS) in rats.

**Method:** To perform this study, percolated extract of sour orange flowers was used. Each experimental group of animals was pretreated with the extract along with drinking water before the injection of LPS. The depressive-like behaviors induced by the injection of LPS consisted of the reduction in the preference for sucrose solutions, food consumption, body weight and inability to pleasure.

**Results:** The LPS-injected rats that were chronically pretreated with the extract improved sucrose preference compared with control group, however this was not significant. Food consumption in extract-pretreated group was significantly increased on day 2 and 3 after the injection of LPS compared with control group ( $P < 0.05$ ). The effect of extract and LPS on social interaction (consisting of body sniffing and grooming) showed that in extract pretreated rats, the time spent for social interaction was equal to that before the injection (baseline). However in control group there was a significant reduction in the time spent for social interaction compared to the baseline.

**Conclusion:** Considering the effect of LPS in reduction of neurotransmitters such as serotonin and norepinephrine, the attenuation of Sour orange flowers extract on the effect of LPS might be the result of the effect of extract in increasing the level of these neurotransmitter at their site of the activity. To confirm this, more studies to evaluate the pharmacological effect of extract are required.

**Key words:** Sour orange flowers, Depressive-like behavior, Lipopolysaccharide

*Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2005; 12(4): 244-251*

### منابع

1. زرگری، علی: گیاهان دارویی. نشر مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۱۳۷۱، ج ۱: ص ۴۸۴.
2. حیدری، محمودرضا؛ اسدپور، علی؛ سپهری، غلامرضا؛ عطاپور، نفیسه و اسمائیل‌زاده، فاطمه: بررسی اثر ضددردی عصاره گیاه انیسون به روش Tail-Flick و فرمالین در موش سوری. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی بابل، ۱۳۷۸، سال اول، شماره ۳، ص ۴۲-۵۱.
3. Ames BN. Micronutrients prevent cancer and delay aging. *Toxicol Lett* 1998; 102-103:5-18.
4. Barden N, Reul JM and Holsboer F. Do antidepressants stabilize mood through actions on the hypothalamic-pituitary adrenocortical system? *Trends Neurosci* 1995; 18(1): 6-11.
5. Bluthé RM, Lestage J, Rees G, Bristow A and Dantzer R. Dual effect of central injection of recombinant rat interleukin-4 on the lipopolysaccharide-induced sickness

- behavior in rats. *Neuropsychopharmacology* 2002; 26(1): 86-93.
6. Bomhardeli E and Morazzoni P. Hyporicum Perforatum. *Fitoterapia* 1995; 66: 43-68.
  7. Butterweck V, Jurgenliemk G, Nahrstedt A and Winterhoff H. Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test. *Planta Med* 2000; 66(1):3-6.
  8. Butterweck V, Nishibe S, Sasaki T and Uchida M. Antidepressant effects of *apocynum venetum* leaves in a forced swimming test. *Biol Pharm Bull* 2001; 24(7): 848-51.
  9. Calapai G, Crupi A, Firenzuoli F, et al. Effects of *Hypericum perforatum* on levels of 5-hydroxytryptamine, noradrenaline and dopamine in the cortex, diencephalon and brainstem of the rat. *J Pharm Pharmacol* 1999; 51(6): 723-8.
  10. Carnat A, Carnat AP, Fraisse D and Lamaison JL. Standardization of the Sour orange flower and Leaf. *Ann pharm Fr* 1999; 57(5): 410-414.
  11. De La Garza R 2nd, Asnis GM, Fabrizio KR and Pedrosa E. Acute diclofenac treatment attenuates lipopolysaccharide-induced alterations to basic reward behavior and HPA axis activation in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2005; 179(2): 356-65.
  12. Doris A, Ebmeier K and Shajahan P. Depressive illness. *Lancet* 1999; 354(9187): 1369-1375.
  13. Hernandez L, Munoz RA, Miro G, Martinez M, Silva-Parra J and Chavez PI. Use of medicinal plants by ambulatory patients in Puerto Rico. *Am J Hosp Pharm* 1994; 41(10): 2060-64.
  14. Laruelle M, Frankle WG, Narendran R, Kegeles LS and Abi-Dargham A. Mechanism of action of antipsychotic drugs: from dopamine D(2) receptor antagonism to glutamate NMDA facilitation. *Clin Ther* 2005; 27 Suppl A:S16-24.
  15. Masana MI, Heyes MP and Mefford IN. Indomethacin prevents increased catecholamine turnover in rat brain following systemic endotoxin challenge. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1990; 14(4): 609-21.
  16. Muller WE, Singer A, Wonnemann M, Hafner U, Rolli M and Schafer C. Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of hypericum extract. *Pharmacopsychiatry* 1998 Suppl 1:16-21.
  17. Murray C and Lopez AD. The Global Burden of Disease. World Health Organisation, Geneva, 2001.
  18. Riedel WJ and Jorissen BL. Nutrients, age and cognitive function. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1998; 1(6):579-585.
  19. Weissman MM, Bland RC, Canino GJ et al. Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *JAMA* 1996; 276(4): 293-299.
  20. Yirmiya R. Endotoxin produces a depressive-like episode in rats. *Brain Res* 1996; 711(1-2): 163-174.