

Evaluation of the antidepressant-like effect of *Viola odorata* hydroalcoholic extract in male mice

Zhivar Shafei¹, Saeid Abbasi Maleki², Firouz Ghaderi-Pakdel³

Background and Aim: In traditional medicine *Viola odorata* (VO) has been used as anti-inflammatory, hypnotic, sedative, antioxidant, anti-anxiety, and therapist for neuropsychiatric disorders; Hence, in the present study, the antidepressant effect of VO hydroalcoholic extract in mice was investigated.

Materials and Methods: In this experimental study, one hundred-fourteen male albino mice were randomly divided into normal saline or control (10ml/kg, i.p), fluoxetine (20mg/kg, i.p), imipramine (30mg/kg, i.p) and, VO extract (50, 100, 200, 400 mg/kg, i.p), respectively. The antidepressant-like activity was performed by behavioral tests as forced swimming test (FST), tail suspension test (TST), and open field test.

Results: The VO extract (100 to 400 mg/kg) reduced immobility time in both FST and TST ($P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively). The extract increased swimming time ($P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively) without significant change of climbing time ($P > 0.05$). In OFT, doses of 200mg / kg and 400mg / kg of VO caused the reduced the number of crossings from the square and on the two feet ($P < 0.05$ and $P < 0.01$ respectively).

Conclusion: Probably; the acute doses of the *Viola odorata*; Similar to fluoxetine; Are likely to cause antidepressant effects.

Key Words: Viola Odorata Extract, Depression, Animal Models.

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2018; 25(4): 286-296.

Received: April 28, 2018

Accepted: September 17, 2018

¹ Department of Pharmacology & Toxicology, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

² **Corresponding author;** Department of Pharmacology & Toxicology, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.
Tel: +984432719900 E-mail: dr.s.a.maleki@gmail.com

³ Department of Physiology, Urmia University of Medical Science, Urmia, Iran.

بررسی اثر ضد افسردگی عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر (*Viola odorata*) در موش سوری نر

ژیوار شافعی^۱، سعید عباسی ملکی^۲، فیروز قادری پاکدل^۳

چکیده

زمینه و هدف: در طب سنتی، از بنفشه معطر به عنوان ضد التهاب، خواب آور، آرام بخش، آنتی اکسیدان، ضد اضطراب و درمان کننده اختلالات عصبی-روانی استفاده می شود؛ از این رو، در این مطالعه اثر حاد ضد افسردگی عصاره هیدرو الکلی بنفشه معطر در موش سوری بررسی شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، ۱۴ سر موش سوری نر نژاد آلبینو، به شکل تصادفی به گروه های دریافت کننده نرمال سالین (کنترل) (۱۰ ml/kg, i.p)، فلوکستین (۲۰ ml/kg, i.p)، ایمی پرامین (۳۰ ml/kg, i.p) و عصاره بنفشه معطر (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ml/kg, i.p) تقسیم شدند. سنجش میزان افسردگی با آزمون های رفتاری شنای اجباری (Forced swimming test)، معلق ماندن دم (Tail suspension test) و جعبه باز (Open field test) انجام گرفت.

یافته ها: بنفشه معطر (۱۰۰ تا ۴۰۰ mg/kg) سبب کاهش مدت زمان بی حرکتی (به ترتیب برابر با $P < 0/01$ و $P < 0/001$) در هر دو آزمون شنای اجباری و آزمون معلق ماندن دم شد. عصاره این گیاه، زمان شنا کردن را (به ترتیب $P < 0/01$ و $P < 0/001$) بدون تغییر معنی دار در زمان صعود کردن ($P > 0/05$) افزایش داد. در آزمون جعبه باز، دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg بنفشه معطر سبب کاهش تعداد عبور از مربع و روی دو پا ایستادن (به ترتیب $P < 0/05$ و $P < 0/01$) شد. **نتیجه گیری:** احتمالاً دوزهای حاد بنفشه معطر، شبیه فلوکستین سبب بروز اثرات ضد افسردگی می شود.

واژه های کلیدی: عصاره بنفشه معطر؛ افسردگی؛ مدل های حیوانی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۷؛ ۲۵(۴): ۲۸۶-۲۹۶.

دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۸ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۲۶

^۱ گروه فارماکولوژی و سم شناسی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

^۲ نویسنده مسؤول؛ گروه فارماکولوژی و سم شناسی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

آدرس: ارومیه- کیلومتر ۲ جاده فرودگاه- دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه- دانشکده علوم دامپزشکی و پیراپزشکی- گروه فارماکولوژی. کد پستی ۶۳۸۹۶-۵۷۱۶۹، صندوق پستی ۹۶۹

تلفن: ۰۴۴۳۲۷۱۹۹۰۰ پست الکترونیکی: dr.s.a.maleki@gmail.com

^۳ گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

مقدمه

افسردگی اساسی یا Major depression (MD)، یکی از اختلالات روانی هتروژن بوده که اخلاق فرد، سلامتی فیزیکی و رفتار او را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از جمله مهمترین علائم MD می‌توان به احساس گناه، از دست دادن خواب، علاقه یا اشتها، درد و خستگی و گرایش به خودکشی (در موارد شدید تر) اشاره نمود (۱). مطالعات قبلی معتقدند که کاهش میزان نوروترانسمیترهای (میانجی‌های) عصبی، مهمترین عامل در پاتوفیزیولوژی MD می‌باشد (۲). از جمله مهمترین این میانجی‌ها که در بروز افسردگی دخیل هستند، می‌توان به سروتونین 5-hydroxytryptamine (5-HT)، نورآدرنالین^۱ و دوپامین^۲ اشاره نمود (۳، ۲). بر این اساس، هر دارویی که باعث افزایش این میانجی‌ها در مغز شود، می‌تواند برای درمان افسردگی مفید و کاربردی باشد (۲). در همین راستا، امروزه از داروهای ضد افسردگی متعددی همچون فلوکستین و ایمی‌پرامین که سبب افزایش سطح سیناپسی این میانجی‌ها در شکاف سیناپسی می‌شوند، استفاده می‌شود (۲). داروهای معمول در درمان افسردگی مؤثر بوده، اما عوارض ناشی از آنها سبب محدودیت و کاهش مصرف آنها می‌شود (۲). بنابراین یافتن داروهای ضد افسردگی جدید با کارایی بیشتر و عوارض جانبی کمتر، ضروری به نظر می‌رسد. در همین راستا، عصاره‌ها یا اسانس‌های دارویی مختلف ممکن است انتخابی مناسب برای درمان اختلالات روانی (همچون MD) باشند؛ چرا که آنها فعالیت روان‌درمانی را در طیف وسیعی از مدل‌های حیوانی نشان داده‌اند (۴). در تأیید این یافته‌ها، مطالعات قبلی خواص ضد افسردگی عصاره‌ها یا اسانس‌های مختلفی همچون: اسطوخودوس، انیسون، گل ساعتی، نعنا فلفلی و گل رنگ را گزارش نموده‌اند (۵-۹).

بنفشه معطر با نام علمی (*Viola odorata* (VO)، گیاهی است علفی و بوته‌ای که پایا و چندساله می‌باشد. گل‌ها

معطر و اغلب بنفش‌رنگ و به‌ندرت سفید و یا گلی هستند. مهمترین ترکیبات گیاه، اسانس و مواد رنگی آن می‌باشد؛ ولی موسیلاژها، آنتوسانین‌ها و غیره نیز در بنفشه معطر وجود دارند. این گیاه مصارف دارویی گسترده‌ای را دارا می‌باشد؛ به‌طوری که در طب سنتی از خواص ضد التهاب، آنتی‌باکتریال، آنتی‌اکسیدان، تضعیف‌کننده سیستم عصبی، ضد تب، شل‌کننده عضلات، خواب‌آور، ضد التهاب، ضد سرطان، آرام‌بخش و مقوی اعصاب، مدر (ادرارآور)، مسهل، ضد تب، اکسپکتورانت (خلط‌آور)، ضد آسم، ضد فشار خون، ضد اضطراب، درمان بیماری‌های پوست و اختلالات عصبی و روانی بنفشه معطر، استفاده می‌شود (۱۰، ۱۱). معمولاً از گل و برگ آن برای مصارف دارویی استفاده می‌شود.

با توجه به مطالب گفته شده و نظر به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در خصوص بررسی خاصیت ضد افسردگی عصاره بنفشه معطر صورت نگرفته است؛ این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد افسردگی عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر در آزمون‌های رفتاری شنای اجباری^۳، آزمون معلق ماندن دم^۴ و آزمون جعبه‌باز^۵ به‌عنوان مدل‌های حیوانی بررسی افسردگی در موش سوری نر انجام شد.

روش تحقیق

حیوانات:

در این مطالعه تجربی، از ۱۱۴ سر موش سوری نر بالغ نژاد آلبینو (تهیه‌شده از دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ایران) در محدوده وزنی ۲۰ تا ۳۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های جداگانه و در دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و سیکل منظم ۱۲ ساعته روشنایی- تاریکی نگهداری شدند. در این مدت، آب و غذای تجارتي (تهیه‌شده از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی) در اختیار آنها قرار گرفته و از هر حیوان یکبار استفاده شد. تمام آزمایش‌ها در طی دوره

³ Forced swim test (FST)

⁴ Tail suspension test (TST)

⁵ Open field test (OFT)

¹ Noradrenalin (NA)

² Dopamine (DA)

روشنایی صورت گرفتند. در بررسی حاضر، تمام اصول اخلاقی برخورد با حیوانات آزمایشگاهی، مطابق قوانین حمایت و نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی و بیانیه‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه (با کد اخلاق IR.IAUrmia.REC.1395.03) رعایت گردید.

داروها و عصاره گیاهی:

در این مطالعه، از پودر فلوکستین هیدروکلراید (داروسازی آریا، ایران) و ایمپیرامین هیدروکلراید (داروسازی پارس دارو، ایران) استفاده شد. همچنین عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر به شکل آماده، از شرکت داروسازی گیاه اسانس دکتر سلیمانی (گرگان، ایران) تهیه گردید. در این بررسی تمام داروها و اسانس به شکل داخل صفاقی^۱ و در حجم معین ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به موش‌ها تزریق شدند.

آزمون شنای اجباری (FST):

در این آزمون زمان بی‌حرکتی (Immobility time) معادل افسردگی و کاهش آن به مانند اثر ضد افسردگی ثبت گردید. موش‌ها بعد از تزریق عصاره یا دارو، به‌طور جداگانه در ظروفی با ابعاد $25 \times 12 \times 8$ سانتی‌متر که حاوی آب با دمای 25 ± 1 درجه سانتیگراد بودند؛ قرار داده شدند. به‌طور قراردادی، قطع حرکات دست و پا به‌عنوان زمان بی‌حرکتی، حرکات دورانی حیوان در دور استوانه به‌عنوان زمان شناکردن (Swimming time) و صعود حیوان از دیواره‌های استوانه به‌عنوان زمان صعودکردن (Climbing time) در نظر گرفته شد. کل آزمون ۶ دقیقه به طول انجامید که ۲ دقیقه اول برای تطابق حیوان با محیط در نظر گرفته شد و در ۴ دقیقه بعد، هر یک از رفتارهای بی‌حرکتی، شناکردن و صعودکردن توسط کورنومتر (سیتی‌زن، ساخت ژاپن) بر حسب ثانیه ثبت گردید (۱۲).

آزمون معلق ماندن دم (TST): بدین‌منظور از پایه‌های فلزی به ارتفاع ۷۰ سانتی‌متر استفاده شد. بین دو پایه فلزی،

یک ریسمان ۵۰ سانتی‌متری در امتداد طولی کشیده شد. دم موش توسط یک بند بسته‌شده تثبیت گردید. سپس آزمون با یک حرکت شدید موش آغاز شد. به‌دنبال آن، موش که از دم آویخته شده بود، کاملاً بی‌حرکت، غیرفعال و بدون عکس‌العمل می‌شد که این زمان، به‌عنوان مدت‌زمان بی‌حرکتی در نظر گرفته شد. در این آزمون نیز همچون آزمون FST، مدت‌زمان بی‌حرکتی معادل افسردگی و کاهش آن به‌مانند اثر ضد افسردگی توسط کورنومتر و بر حسب ثانیه ثبت گردید. در این آزمون نیز کل زمان آزمون، ۶ دقیقه بود که ۲ دقیقه اول برای تطابق حیوان با محیط در نظر گرفته شد و در ۴ دقیقه بعد، مدت‌زمان بی‌حرکتی ثبت گردید (۱۳).

آزمون جعبه‌باز (OFT):

در این آزمایش، برای ارزیابی اثرات عصاره مورد نظر بر رفتار حرکتی، افسردگی و خاصیت آرام‌بخشی؛ موش‌ها در جعبه‌ای به ابعاد ۴۵ در ۴۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر قرار گرفتند و تعداد عبور از مربع (Number of crossing) و ایستادن بر روی پاهای خلفی (Number of rearing) موش‌ها توسط عددشمار^۲ (ساخت چین) ثبت گردید. مدت زمان این آزمون ۵ دقیقه بود که یک دقیقه از آن برای تطابق موش به جعبه در نظر گرفته شد و در ۴ دقیقه باقیمانده، رکورد (داده‌ها) صورت گرفت.

گروه‌بندی حیوانات و آزمایش‌های تجربی:

در این مطالعه، حیوانات به شکل کاملاً تصادفی به ۱۹ گروه ۶ تایی مطابق گروه‌بندی زیر تقسیم‌بندی شدند:

گروه‌های آزمون FST

۱- گروه نرمال کنترل منفی (یا نرمال‌سالین): در این گروه عسر موش، نرمال‌سالین را با دوز 10 ml/kg دریافت نموده و ۳۰ دقیقه بعد از آن، آزمون FST صورت گرفت.

۲- گروه کنترل مثبت: در این گروه، ۱۲ سر موش به‌ترتیب: فلوکستین (20 mg/kg) و ایمپیرامین (30 mg/kg)

¹ Intraperitoneal (i.p)

² Counter

تجویز داروها یا عصاره دقیقاً بر اساس مطالعات قبلی ما و منابع معتبر دیگران بود (۱۵ و ۱۴، ۹-۵).

تجزیه و تحلیل داده‌ها:

نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار برای عسر موش در هر گروه نشان داده شده است. بدین منظور از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن تست تعقیبی Newman-Keuls استفاده شد. از برنامه Prism GraphPad (ویرایش ۷) (CA, San Diego, Inc., USA) برای تجزیه و تحلیل و ترسیم نمودارها استفاده شد و در هر مورد $P < 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

یافته‌ها

نتایج تأثیر فلوکستین، ایمپرامین و دوزهای مختلف عصاره هیدرو الکلی بنفشه معطر بر مدت زمان بی حرکتی، شناکردن و صعود کردن در آزمون FST در موش سوری نر:

همان طور که در نمودار یک دیده می شود، فلوکستین ($P < 0.001$) و ایمپرامین ($P < 0.001$) هر دو در مقایسه با گروه کنترل (نرمال سالین) سبب کاهش مدت زمان بی حرکتی شدند. در این بین، ایمپرامین بهتر از فلوکستین سبب کاهش مدت زمان بی حرکتی گردید؛ البته رابطه معنی داری بین آنها دیده نشد ($P > 0.05$). نتایج همچنین نشان داد که فلوکستین سبب افزایش ($P < 0.001$) مدت زمان شناکردن بدون تغییر معنی دار در مدت زمان صعود کردن شد ($P > 0.05$)؛ برعکس آن، ایمپرامین سبب افزایش ($P < 0.001$) مدت زمان صعود کردن بدون تغییر معنی دار در زمان شناکردن شد ($P > 0.05$).

نتایج نشان داد که دریافت دوزهای مختلف بنفشه معطر (۱۰۰ تا ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در گروه دریافت کننده دوزهای مختلف این گیاه در مقایسه با گروه کنترل؛ سبب کاهش مدت زمان بی حرکتی و افزایش مدت زمان شناکردن شد. البته دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بنفشه معطر قوی تر از دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر

را دریافت نموده و ۳۰ دقیقه بعد از آن آزمون FST انجام گرفت.

۳- گروه دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره هیدرو الکلی بنفشه معطر: در این گروه، ۲۴ سر موش به ترتیب: دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره را دریافت نموده و ۳۰ دقیقه بعد، آزمون FST صورت گرفت.

گروه‌های آزمون TST

۱- گروه نرمال کنترل منفی (یا نرمال سالین): در این گروه عسر موش، نرمال سالین را با دوز ۱۰ ml/kg دریافت نموده و ۳۰ دقیقه بعد از آن، آزمون TST صورت گرفت.

۲- گروه‌های کنترل مثبت: در این گروه ۱۲ سر موش به ترتیب: فلوکستین (۲۰ mg/kg) و ایمپرامین (۳۰ mg/kg) را دریافت نموده و ۳۰ دقیقه بعد از آن، آزمون TST انجام گرفت.

۳- گروه دوزهای مختلف عصاره هیدرو الکلی بنفشه معطر: در این گروه ۲۴ سر موش به ترتیب: دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره را دریافت نموده و ۳۰ دقیقه بعد، آزمون TST صورت گرفت.

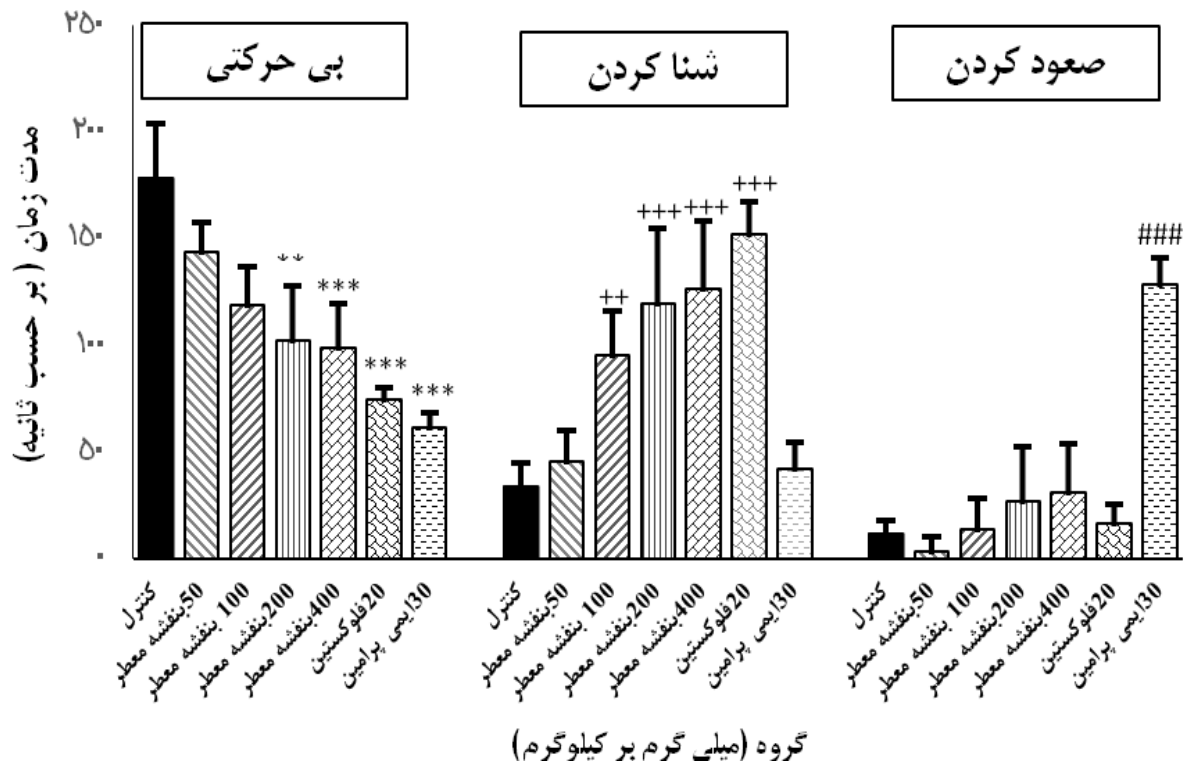
گروه‌های آزمون OFT

۱- گروه نرمال کنترل منفی (یا نرمال سالین): در این گروه عسر موش نرمال سالین را با دوز ۱۰ ml/kg را دریافت نموده و ۳۰ دقیقه بعد از آن آزمون OFT صورت گرفت.

۲- گروه‌های کنترل مثبت: در این گروه ۱۲ سر موش به ترتیب: فلوکستین (۲۰ mg/kg) و ایمپرامین (۳۰ mg/kg) را دریافت نموده و ۳۰ دقیقه بعد از آن آزمون OFT انجام گرفت.

۳- گروه دوزهای مختلف عصاره هیدرو الکلی بنفشه معطر: در این گروه ۲۴ سر موش به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره را دریافت نموده و ۳۰ دقیقه بعد، آزمون OFT صورت گرفت.

در این مطالعه، اساس انتخاب تمام دوزهای مصرفی و



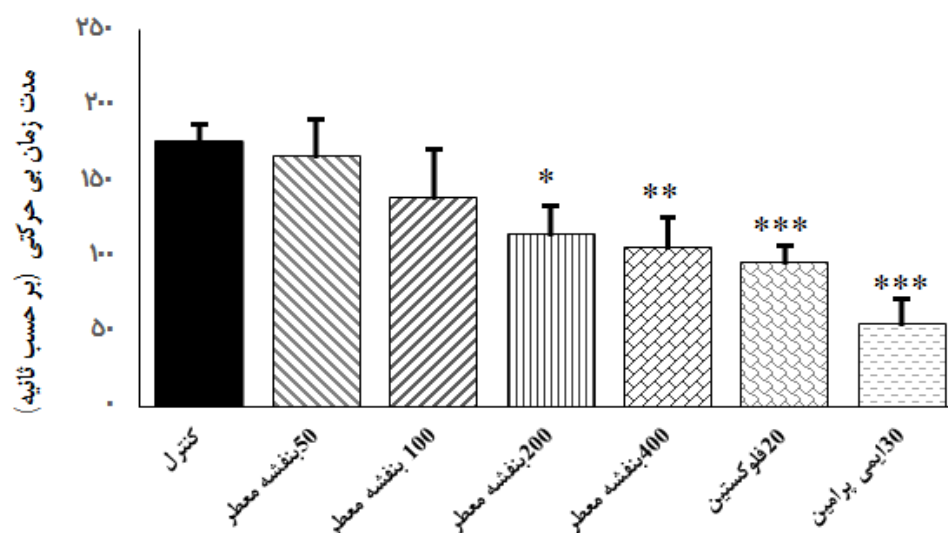
نمودار ۱- مقایسه دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر (VO)، فلوکستین (Flx) و ایمی پرامین (IMP) بر زمان بی حرکتی، زمان شناکردن و زمان صعود کردن با استفاده از آزمون شنای اجباری در طی ۶ دقیقه. ** و ***: به ترتیب برابر با $P < 0.01$ و $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل برای مدت زمان بی حرکتی، ++ و +++ به ترتیب برابر با $P < 0.01$ و $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل برای مدت زمان شناکردن و ### برابر $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل برای مدت زمان صعود کردن. نتایج به شکل $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ بیان شده است.

مختلف بنفشه معطر (۱۰۰ تا ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، فلوکستین (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و ایمی پرامین (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش مدت زمان بی حرکتی شد. در این بین، ایمی پرامین قوی تر از فلوکستین و دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره قوی تر از بقیه دوزها سبب کاهش مدت زمان بی حرکتی شد؛ ولی با این وجود تفاوت معنی داری بین آنها دیده نشد ($P > 0.05$) (نمودار ۲).

کیلوگرم سبب کاهش مدت زمان بی حرکتی گردید؛ ولی با این حال تفاوت معنی داری بین آنها وجود نداشت ($P > 0.05$). نتایج نشان داد که هیچ کدام از دوزهای بنفشه معطر نتوانستند سبب افزایش معنی دار در مدت زمان صعود کردن شوند ($P > 0.05$) (نمودار ۱).

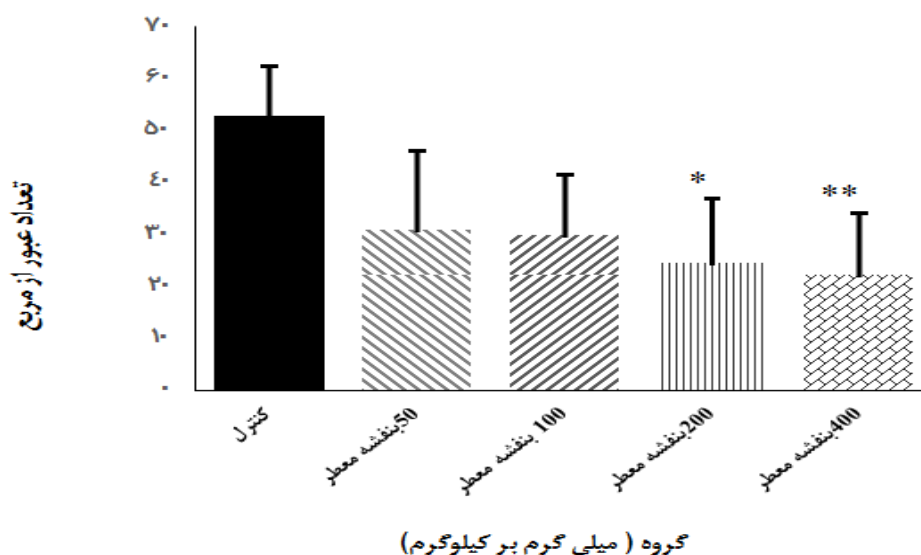
نتایج تأثیر فلوکستین، ایمی پرامین و دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر بر مدت زمان بی حرکتی در آزمون TST در موش سوری نر:

نتایج نشان داد که همچون آزمون FST، دوزهای



گروه (میلی گرم بر کیلوگرم)

نمودار ۲- مقایسه دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر (VO)، فلوکستین (Flx) و ایمی پرامین (IMP) بر زمان بی حرکتی با استفاده از آزمون معلق ماندن دم در طی ۶ دقیقه. * و *** به ترتیب برابر با $P < 0.01$ و $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل برای مدت زمان بی حرکتی. نتایج به شکل $Mean \pm SEM$ بیان شده است.



گروه (میلی گرم بر کیلوگرم)

نمودار ۳- مقایسه دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر (VO: *Viola odorata*) بر تعداد عبور از مربع با استفاده از آزمون جعبه باز در طی ۵ دقیقه. * و *** به ترتیب برابر با $P < 0.05$ و $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل برای عبور از مربع. نتایج به شکل $Mean \pm SEM$ بیان شده است.

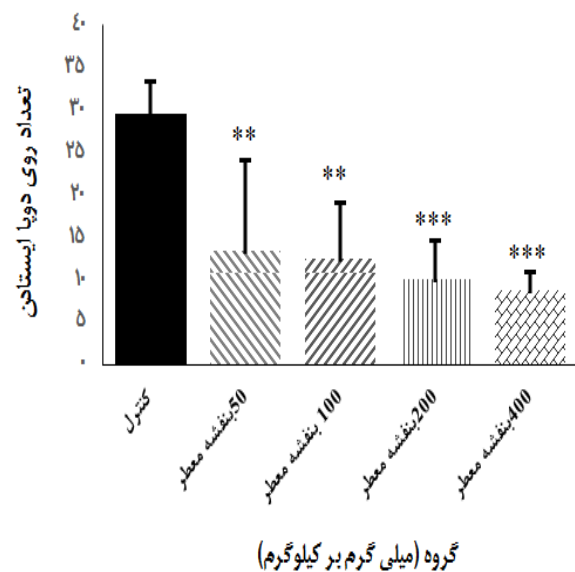
همان آزمون‌های FST، TST و OFT در موش سوری نر بود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر در مقایسه با گروه شاهد، سبب کاهش بی‌حرکتی در هر دو آزمون FST و TST می‌شود؛ از طرفی دوزهای ۱۰۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این عصاره به‌صورت معنی‌داری سبب افزایش مدت‌زمان شناکردن می‌شود؛ ولی مدت‌زمان شناکردن توسط هیچ‌کدام از دوزهای این عصاره به‌طور معنی‌داری افزایش نیافتند. فلوکستین نیز به‌عنوان یک داروی رفرانس و مشابه سایر یافته‌ها سبب کاهش بی‌حرکتی، افزایش شناکردن و افزایش غیر معنی‌دار در صعودکردن می‌شود. ایمی‌پرامین نیز مشابه سایر یافته‌ها سبب کاهش بی‌حرکتی، افزایش صعودکردن و افزایش غیرمعنی‌دار در شناکردن می‌شود (۱۶). در همین راستا مطالعات مختلف نشان داده‌اند که داروهای ضد افسردگی که به‌طور انتخابی سبب مهار بازجذب نوراپی‌نفرین می‌شوند (مثل ایمی‌پرامین)، باعث کاهش مدت‌زمان بی‌حرکتی و افزایش مدت‌زمان صعودکردن می‌شوند که با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد. از طرفی داروهای مهارکننده انتخابی سروتونین (مثل فلوکستین)، سبب کاهش مدت‌زمان بی‌حرکتی و افزایش معنی‌دار شناکردن بدون افزایش زمان صعودکردن می‌شوند (۱۶). نتایج مطالعه حاضر نیز اثراتی شبیه فلوکستین را نشان داد؛ به‌طوری که در مطالعه حاضر به‌دنبال مصرف دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر؛ بی‌حرکتی کاهش و شناکردن و صعودکردن افزایش غیر معنی‌داری داشت.

نتایج همچنین نشان داد که بنفشه معطر سبب کاهش تعداد عبور از مربع و روی دو پا ایستادن در آزمون جعبه باز می‌شود. البته این اثر دال بر اثرات ضد اضطرابی و آرام‌بخشی این عصاره می‌باشد. همسو با این یافته‌ها، مطالعه منادی و رضایی نیز اثر آرام‌بخشی بنفشه معطر را گزارش نمود (۱۴). همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، Saleem و همکاران

تأثیر دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر بر تعداد عبور از مربع (Number of crossing) و روی دو پا ایستادن (Number of rearing) در آزمون جعبه باز:

نتایج نشان داد که تنها دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بنفشه معطر سبب کاهش تعداد عبور از مربع (نمودار ۳) و تعداد روی دو پا ایستادن (نمودار ۴) در مقایسه با گروه کنترل شدند. در این بین، دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بنفشه معطر همچون آزمون‌های قبلی، قوی‌تر از همه (دوزها) سبب کاهش تعداد عبور از مربع و تعداد روی دو پا ایستادن در آزمون جعبه باز گردید؛ با این وجود تفاوت معنی‌داری بین آنها دیده نشد ($P>0.05$)



نمودار ۴- مقایسه دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر (VO: Viola odorata) بر تعداد روی دو پا ایستادن با استفاده از آزمون جعبه باز در طی ۵ دقیقه. ** و *** به ترتیب برابر با $P<0.01$ و $P<0.001$ در مقایسه با گروه کنترل برای روی دو پا ایستادن. نتایج به شکل $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ بیان شده است.

بحث

هدف مطالعه حاضر، مقایسه اثر ضد افسردگی عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر در مدل‌های حیوانی افسردگی یا

(۲۰۱۱) نیز در مطالعه خود گزارش نمودند که عصاره آبی گیاه *Channastriatus fillet* به واسطه خاصیت آرام بخشی سبب کاهش تعداد عبور از مربع و روی دو پا ایستادن در آزمون جعبه باز می شود (۱۷).

بررسی های فیتوشیمیایی اخباری و همکاران بر روی بنفشه معطر، وجود ترکیبات متعددی از جمله: سیکلوتیدها^۱، فلاونوئیدها^۲، آلکالوئیدها^۳ و تری ترپنوئیدها^۴ را گزارش نمود (۱۸). یکی از مهمترین ترکیبات موجود در ساختمان این گیاه، Methyl β-D-galactoside می باشد که البته تأثیری بر روی افسردگی و یا بروز اثرات ضد افسردگی ندارد. لینولئیک اسید، از جمله ترکیبات دیگر مهم گیاه بنفشه معطر است که به میزان بالایی در این گیاه وجود دارد. مطالعه Blondeau و همکاران در سال ۲۰۰۹، خواص ضد افسردگی اسیدلینولئیک را مشخص نموده است (۱۹). در تأیید یافته های مطالعه حاضر، Su در مطالعه خود نشان داد که لینولئیک اسید موجود در امگا ۳ و امگا ۶ با مکانیسم سروتونرژیک اثرات خود را القاء می کند (۲۰). یکی دیگر از اسیدهای چرب می توان به اسید پالمیتیک^۵ اشاره نمود که به مقدار زیادی در بنفشه معطر یافت می شود. فلاونوئیدهایی همچون روتین^۶ و ویولاتین^۷ نیز به مقدار زیادی در بنفشه معطر یافت می شود. مطالعات قبلی اثرات ضد افسردگی و آنتی اکسیدانی روتین را گزارش نموده اند (۲۱). در همین راستا و موافق با یافته های مطالعه حاضر، نشان داده اند که روتین یکی از اجزای اصلی هوفاریقون یا گل راعی (*Hypericum perforatum*) بوده که از اثر ضد افسردگی در آزمون شنای اجباری برخوردار می باشد (۲۲). ابراهیم زاده و همکاران، در مطالعه خود اثر آنتی اکسیدانی ویولاتین را نیز گزارش نموده اند (۲۳). گذشته

از این یافته ها، همسو با نتایج مطالعه حاضر Karim و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه خود اثر ضد افسردگی سه مشتق فلاونوئیدی جدا شده از بنفشه معطر را گزارش نمودند. آنها مشخص نمودند که ۵ و ۷ دی هیدروکسی-۳-۶-دی متوکسی فلاون (5,7-Dihydroxy-3,6-dimethoxyflavone)، ۵ و ۷ و ۴-تری اکسی-۳ و ۵ در متوکسی فلاون (5,7,4-trihydroxy-3,5-dimethoxyflavone) و ۵ و ۷ و ۴-تری هیدروکسی-۳- فلاون (5,7,4-trihydroxy-3-methoxyflavone)، از اثر ضد افسردگی برخوردار می باشند. آنها نشان دادند که این سه فلاونوئید جدا شده، با مکانیسم سروتونرژیک اثر ضد افسردگی خود را به جای می گذارند؛ به عبارت برتر، گیرنده های سروتونینی (5HT3 و 5HT1A, 5HT2A) در بروز اثرات ضد افسردگی این فلاونوئیدها دخیل هستند. در تأیید این یافته و در بررسی نوروشیمیایی مغز موش های تیمار شده با این سه فلاونوئید، مقدار سروتونین در مغز آنها در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته و از سوئی به دنبال مصرف توأم آنها با مهارکننده سنتز سروتونین یا pCPA (4-Chloro-DL-phenylalanine) مقدار سروتونین مغز کاهش یافته است (۲۴).

از سویی مطالعات نشان داده اند که ترکیبات آنتی اکسیدان، از اثرات ضد افسردگی برخوردار می باشند؛ به عبارتی آنتی اکسیدان ها سبب مهار بازجذب سروتونین (5HT) می شوند (۹). به عنوان مثال، مطالعه Scapagnini و همکاران اثر آنتی اکسیدانی داروهای ضد افسردگی (مثل فلوکستین) را گزارش نمودند (۲۵). در این راستا ابراهیم زاده و همکاران نیز خواص آنتی اکسیدانی بنفشه معطر را گزارش نمودند (۲۳). این یافته ها همسو با یافته های مطالعه حاضر، دال بر تأثیر احتمالی سیستم سروتونرژیک در اثرات ضد افسردگی عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر می باشد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، چنین به نظر می رسد که

¹ Cyclotides

² Flavonoids

³ Alkaloids

⁴ Triterpenoids

⁵ Palmitic acid

⁶ Rutin

⁷ Violatin

احتمالاً ترکیبات موجود در عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر با مکانیسم سروتونرژیک سبب بروز اثر ضد افسردگی و آرام بخشی می شود. البته با این حال جهت تعیین مکانیسم دقیق نیاز به مطالعات بیشتر و جداسازی اجزای گیاه و بررسی تاثیر هر یک از آنها بر روی افسردگی می باشد.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافی در

پژوهش حاضر وجود ندارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله، برگرفته از پایان نامه دکتری حرفه ای دامپزشکی آقای ژيوار شافعی با کد ۱۰۳۱۰۵۰۱۹۵۱۰۰۵ بوده

منابع:

- 1- Kaplan B, Sadock VA. Mood disorders. 8th ed. Lippincott: Williams & Wilkins; 1998.
- 2- Brigitta B. Pathophysiology of depression and mechanisms of treatment. *Dialogues Clin Neurosci*. 2002; 4(1): 7-20.
- 3- Elhwuegi AS. Central monoamines and their role in major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2004; 28(3): 435-51.
- 4- Zhang ZJ. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. *Life Sci*. 2004; 75(14): 1659-99.
- 5- Jafarpour N, Abbasi-Maleki S, Asadi-Samani M, Khayatnouri MH. Evaluation of antidepressant-like effect of hydroalcoholic extract of *Passiflora incarnata* in animal models of depression in male mice. *J HerbMed Pharmacol*. 2014; 3(1): 41-5.
- 6- Abbasi-Maleki S, Bekhradi R, Asgharpanah J, Abbasi Maleki F, Maleki Ahanghari N. Antidepressant effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Lavandula officinalis* in forced swim test and tail suspension test in male mice. *Arak Med Uni J*. 2013; 16(78): 65-75. [Persian]
- 7- Shahamat Z, Abbasi-Maleki S, Mohammadi Motamed S. Evaluation of antidepressant-like effects of aqueous and ethanolic extracts of *Pimpinella anisum* fruit in mice. *Avicenna J Phytomed*. 2016; 6(3): 322-8.
- 8- Abbasi-Maleki S, Mousavi Z. Hydroethanolic extract of *Carthamus tinctorius* induces antidepressant-like effects: modulation by dopaminergic and serotonergic systems in tail suspension test in mice. *Iran J Basic Med Sci*. 2017; 20(9):1063-73.
- 9- Abbasi-Maleki S, Bakhtiarian A, Nikoui V. Involvement of the monoaminergic system in the antidepressant-like effect of the crude extract of *Mentha piperita* (Lamiaceae) in the forced swimming test in mice. *Synergy*. 2017; 5(Pt 1): 21-8.
- 10- Vishal A, Parveen K, Pooja S, Kannappan N, Kumar S. Diuretic, laxative and toxicity studies of *Viola odorata* aerial parts. *Pharmacologyonline*. 2009; 1: 739-48.
- 11- Siddiqi HS, Mehmood MH, Rehman NU, Gilani AH. Studies on the antihypertensive and antidyslipidemic activities of *Viola odorata* leaves extract. *Lipids Health Dis*. 2012; 11: 6.
- 12- Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 1977; 229(2): 327-36.
- 13- Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology*. 1985; 85(3): 367-70.

- 14- Monadi A, Rezaie A. Evaluation of Sedative and Pre-Anesthetic Effects of *Viola odorata* Linn. Extract Compared With Diazepam in Rats. *Bull Env Pharmacol Life Sci*. 2013; 2(7): 125-31.
- 15- Antil V, Kumar P, Kannappan N, Diwan A, Saini P, Singh S. Evaluation of the analgesic activity of *Viola odorata* aerial parts in rats. *J Nat Pharm*. 2011; 2(1): 24-5.
- 16- Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)*. 1995; 121(1): 66-72.
- 17- Saleem AM, Taufik Hidayat M, Mat Jais AM, Fakurazi S, Moklas M, Sulaiman MR, et al. Antidepressant-like effect of aqueous extract of *Channa striatus* fillet in mice models of depression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011; 15(7): 795-802.
- 18- Akhbari M, Batooli H, Kashi FJ. Composition of essential oil and biological activity of extracts of *Viola odorata* L. from central Iran. *Nat Prod Res*. 2012; 26(9): 802-9.
- 19- Blondeau N, Nguemeni C, Debruyne DN, Piens M, Wu X, Pan H, et al. Subchronic alpha-linolenic acid treatment enhances brain plasticity and exerts an antidepressant effect: a versatile potential therapy for stroke. *Neuropsychopharmacol*. 2009; 34(12): 2548-59.
- 20- Su KP. Biological mechanism of antidepressant effect of omega-3 fatty acids: how does fish oil act as a 'mind-body interface'?. *Neurosignals*. 2009; 17(2): 144-52.
- 21- Vukics V, Kery A, Bonn GK, Guttman A. Major flavonoid components of heartsease (*Viola tricolor* L.) and their antioxidant activities. *Anal Bioanal Chem*. 2008; 390(7): 1917-25.
- 22- Nöldner M, Schötz K. Rutin is essential for the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* extracts in the forced swimming test. *Planta Med*. 2002; 68(7): 577-80.
- 23- Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Bahramian F, Bekhradnia AR. Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. officinalis* L. var. *angustifolius*, *V. odorata*, *B. hyrcana* and *C. speciosum*. *Pak J Pharm Sci*. 2010; 23(1): 29-34.
- 24- Karim N, Khan I, Abdelhalim A, Khan A, Halim SA. Antidepressant potential of novel flavonoids derivatives from sweet violet (*Viola odorata* L.): Pharmacological, biochemical and computational evidences for possible involvement of serotonergic mechanism. *Fitoterapia*. 2018; 128: 148-61.
- 25- Scapagnini G, Davinelli S, Drago F, De Lorenzo A, Oriani G. Antioxidants as antidepressants: fact or fiction?. *CNS Drugs* 2012; 26(6): 477-90.