The Effect of Citrus Aurantium Flowers Aqueous Extract on Sleeping Time and the Level of Anxiety in mice

Vahideh Sadat Abbasnia[1]

Background and Aim: In Iranian traditional medicine Citrus Aurantium flower extract is used to treat some neural diseases. Tendency to use medicinal herbs is increasing. The present study was done to determine the effect of Citrus Aurantium flowers on sleeping time and the level of anxiety in mice.

Materials and Methods: In this experimental study, 80 male albino mice (25-30 g) were randomly divided into 8 equal groups. In order to measure the sleeping time of the subjects. Angel's method was applied and the animals were divided into three experimental groups (200, 400 and 600 mg/kg) and one control group. To evaluate their anxiety levels they were randomly divided into three experimental and one control group; and for their evaluation plus maze (EPM) model was used. The evaluation of anxiety indices included number and percent of time spent in open arm.

Different doses of the aqueous extract of Citrus Aurantium flowers (200, 400, 600 mg/kg IP; respectively) were intraperitoneally injected into the treated groups. But, the controls received 10 ml/kg/BW normal saline intraperitoneally in both of the methods. The obtained data was analyzed by means of SPSS software (V:17) using one-way ANOVA and Tukey's test(α=0.05).

Results: The extract of Citrus aurantium flowers (200, 400 and 600 mg/kg) significantly increased sleeping time (12.2±0.53), (14.4±0.37), (15.5±1.22), time-spent of open arm entries (64.4±0.41), (75±3.01), (78±2.01) and arm entries into open arms(5.9±0.21), (6.6±0.41), (6.8±0.72) compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion: The current study showed that the aqueous extract of Citrus Aurantium flowers incerases the sleeping time and decreases level of anxity in mice.

Key Words: Citrus Aurantium flowers, Sleeping time, Anxiety, Mice.

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2016; 23 (4): 307-314.

Received: May 13, 2016 ***Accepted: November 14, 2016***

[1]***Corresponding Author****; Biology Department, Payame Noor University, Tehran, Iran*
Email: abbasnia.vahideh @yahoo.com Tel: 02123322238 Fax: 02123322238
Tehran- Payame Noor University

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی اثر ضدّ اضطرابی و خواب‌آوری عصاره آبی بهار نارنج (Citrus Aurantium) بر موش سوری

وحیده سادات عباس‌نیا[1]

چکیده

زمینه و هدف: در طبّ سنتی ایران، استفاده از بهارنارنج برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌های عصبی پیشنهاد گردیده است. این در حالی است که استفاده از گیاهان دارویی، رو به افزایش می‌باشد. این مطالعه به‌منظور بررسی اثر عصاره آبی بهارنارنج بر دوره خواب و سطح اضطراب موش کوچک آزمایشگاهی انجام گردید.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، از 80 سر موش کوچک آزمایشگاهی استفاده شد. حیوانات در هشت گروه ده‌تایی قرار گرفتند. برای ارزیابی دوره خواب، از روش ارزیابی خواب به روش رفتاری Angel استفاده گردید و حیوانات به سه گروه آزمایشی و یک گروه کنترل تقسیم شدند. برای ارزیابی سطح اضطراب نیز حیوانات به سه گروه آزمایشی و یک گروه کنترل تقسیم شدند. از دستگاه ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع برای ارزیابی سطح اضطراب استفاده گردید و به‌مدت 5دقیقه شاخص‌های استاندارد ارزیابی اضطراب (تعداد ورود و مدت‌زمان سپری‌کردن در بازوی باز) از طریق مشاهده در آنها بررسی و ثبت گردید. به موش‌های گروه‌های آزمایشی، عصاره آبی گیاه بهارنارنج در سه دوز 200، 400 و 600 میلی‌گرم بر کیلوگرم و به موش‌های گروه کنترل، محلول نرمال‌سالین به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS (ویرایش 17) و با کمک آزمون‌های آماری ANOVA و تست تعقیبی توکی انجام شد (α=0/05).

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره آبی گیاه بهارنارنج، در سه دوز 200، 400 و 600 میلی‌گرم بر کیلوگرم، به‌طور قابل توجهی دوره خواب (12/2±0/53، 14/4±0/37، 15/5±1/22)، تعداد ورود به بازوی باز (5/9±0/21، 6/6±0/41، 6/8±0/72) و مدت‌زمان سپری‌شدن در بازوی باز (64/4±4/01، 75±3/01 و 78±2/01) را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌دهد (P<0/05).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که عصاره آبی بهارنارنج می‌تواند باعث افزایش دوره خواب و کاهش سطح اضطراب در موش گردد.

واژه‌های کلیدی: بهارنارنج، خواب، ضدّ اضطراب، موش

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1395؛ 23 (4): 307-314.

دریافت: 1395/02/24 **پذیرش: 1395/08/24**

[1] نویسنده مسؤول؛ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

آدرس:تهران- گروه زیست شناسی -دانشگاه پیام نور

تلفن: 02123322238 نمابر: 02123322238 پست الکترونیکی: abbasnia.vahideh@yahoo.com

مقدمه

اضطراب یک احساس ناراحت‌کننده است که خطری نامعلوم و مبهم را تداعی می‌کند. این حالت ذهنی که همه ما بارها آن را تجربه کرده‌ایم، با علایم جسمی و بدنی مانند: احساس فشردگی در قفسه سینه و گلو، اشکال در تنفس، تپش قلب، گیجی، آشفتگی روانی و تعریق همراه است. سطوح پایین اضطراب می‌تواند موجب تسلّط فرد بر محیط شود و آگاهی او را از تهدید بالقوّه افزایش دهد. اما اضطراب شدید، تداوم رفتاری فرد را بر هم می‌زند و از پاسخ منطقی وی جلوگیری می‌کند (1).

از طرف دیگر بی‌خوابی یکی از مشکلاتی است که بسیاری از مردم به‌طور مزمن به‌دلایل مختلف از آن رنج می‌برند. این مشکل با افزایش سن، افزایش می‌یابد که گاهی به‌خاطر عوارض جانبی داروهایی است که آنها مصرف می‌کنند (2). ترکیبات دارویی مختلفی مانند: باکلوفن، متوکاربامول و دیازپام، برای ایجاد شلی عضلانی و برطرف‌شدن انقباضات عضلانی که اغلب دردناک می‌باشند، استفاده می‌شود. برای ایجاد خواب و القای آن به افراد و کاهش اضطراب اغلب از بنزودیازپین‌ها مانند دیازپام استفاده می‌شود (3، 4).

از آنجا که درمان اضطراب و کم‌خوابی با استفاده از داروهای شیمیایی، زمینه بروز عوارض جانبی را افزایش می‌دهد، بنابراین ضرورت توجّه بیشتر به طبّ سنتی و استفاده از داروهای کم‌خطر و با حداقل عوارض جانبی، آشکارتر می‌شود. تحقیقات حاکی از آن است، گیاهان دارویی یا اجزای آنها که باعث شلی عضلانی و خواب‌آوری می‌شوند، اغلب هر دو اثر را با هم دارند. گیاهانی نظیر: شیرین‌بیان، هسته سنجد و برگ گیاه نوروزک، باعث کاهش افسردگی، اضطراب و فعالیت حرکتی می‌شوند (5- 8).

درخت نارنج (Citrus aurantium) به جنس Citrus و خانواده مرکبات (Rutaceae) تعلق دارد و به‌نظر می‌رسد از دورگه‌گیری بین دو گونه دیگر از مرکبات یعنی دارابی (C.maxima) و نارنگی (C.reticulata) به‌دست می‌آید. درختان همیشه سبز نارنج، به‌طور میانگین حدود 3-9 متر ارتفاع دارند. گل‌های درخت بهارنارنج، یکی از معطّرترین گل‌های مرکبات است که سفید و دوجنسی بوده و هم به‌صورت آپوماتیک و هم با کمک حشرات، گرده‌افشانی می‌شود. از قسمت‌های متفاوت گونه‌های مختلف جنس Citrus نظیر: میوه، پوست، برگ و ریشه، استفاده‌های مختلفی می‌شود؛ چرا که جنس‌های مختلف Citrus حاوی ترکیبات فعالی مثل: کومارین، فلاونوئیدها و مونوترپنوئیدها می‌باشند. نارنج از جمله گیاهان دارویی پرمصرف و بومی کشور ایران است و با عنوان پرتقال ترش شناخته می‌شود (9).

در طب سنتی ایران، از گل‌های گیاه بهارنارنج به‌عنوان آرامش‌بخش، ضدّ تشنج و برطرف‌کننده تپش قلب استفاده می‌شود (10). Leite و همکاران (2008) در مطالعه خود نشان دادند، استفاده از اسانس بهارنارنج به‌صورت استنشاقی در موش سوری، اثرات ضدّ اضطرابی داشت (11)؛ در پژوهشی دیگر Akhlaghi و همکاران (2011) نیز نشان دادند که بهارنارنج می‌تواند به‌عنوان یک پیش‌داروی مؤثّر برای کاهش اضطراب بیمار قبل از عمل جراحی مورد استفاده قرار گیرد (12). با توجه به به‌کارگیری بهارنارنج به‌عنوان آرام‌بخش در طب سنّتی در ایران، این مطالعه به‌منظور بررسی بیشتر آزمایشگاهی اثرات ضدّ اضطرابی و خواب‌آوری عصاره آبی بهارنارنج جمع‌آوری‌شده از باغات شهرستان طبس بر موش‌های کوچک آزمایشگاهی انجام شد.

روش تحقیق

حیوانات:

در این مطالعه تجربی، از 80 سر موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد آلبینو با وزن 25- 30 گرم استفاده گردید (40 موش برای ارزیابی خواب‌آوری و 40 موش برای ارزیابی اضطراب). موش‌ها در قفس‌های مخصوص و تحت شرایط محیطی و درجه حرارت مطلوب تقریباً 22 درجه سانتی‌گراد و 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی نگهداری شدند و در

تمام مدّت به‌طور آزادانه، غذا و آب در اختیار داشتند.

تهیه عصاره گیاهی:

بهارنارنج تازه، از باغات نارنج شهرستان طبس گلشن واقع در استان خراسان جنوبی تهیه شد و توسط کارشناس گیاه‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز بیرجند مورد شناسایی علمی و تأیید قرار گرفت. گل‌های گیاه، خشک و توسط آسیاب پودر شد. پودر به‌دست‌آمده در دستگاه فور قرار داده شد و ماده خشک برای تهیه دارو مورد استفاده قرار گرفت. 500میلی‌گرم مادّه مؤثّره خشک در 50میلی‌لیتر سالین حل شد؛ سپس برای رسوب احتمالی موادی از پودر که حل نشدند، ترکیب مورد آزمایش با 3000دور در 5دقیقه سانتریفوژ گردید و با گذراندن از صافی، مادّه محلول اصلی به‌دست آمد. برای ساخت محلول‌های دیگر با دوزهای 200، 400 و 600 میلی‌گرم بر کیلوگرم، رقیق‌سازی با محلول نرمال‌سالین انجام شد. به علت عدم گزارش استفاده از بهارنارنج برای ارزیابی سطح اضطراب و خواب، دوزهای مورد نظر براساس یک مطالعه آزمایشی (Pilot Study) در چند دوز متفاوت انتخاب شدند.

روش ارزیابی خواب به روش رفتاری Angel:

در این روش، ابتدا حیوان در داخل قفسه مخصوصی که روی آن با سیم‌های نرم و نازک پوشیده شده بود، قرار گرفت. این قفسه بر روی کیسه‌های لاستیکی مخصوص پرشده از آب که توسط رابط به هم راه داشتند و از یک طرف به مبدل متصل بودند، قرار داده شد. مبدل از طرف دیگر به دستگاه فیزیوگراف اتصال داشت. قبل از اینکه آزمایش شروع شود، به حیوان اجازه داده شد تا مدّت نیم‌ساعت در این حالت در داخل قفسه بماند تا ترس و اضطراب حیوان از بین رفته و نسبت به محیط آشنا شود. سپس دستگاه فیزیوگراف روشن و به‌مدت نیم‌ساعت حرکات حیوان ثبت شد و پایان خواب و بیدار شدن حیوان ثبت گردید (13). در این روش، کلّ زمان خواب قابل اندازه‌گیری می‌باشد. لازم به یادآوری است که در تمام مدت آزمایش، شرایط محیطی شامل: نور، دما و غیره ثابت نگه داشته شد. در این آزمایش، سه گروه ده‌تایی از حیوانات بلافاصله قبل از ارزیابی دوره خواب (قبل از قرار دادن حیوان در داخل قفسه مخصوص)، دوزهای مختلف عصاره نارنج (200، 400 و 600 میلی‌گرم بر هر کیلوگرم از وزن بدن) را به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند. به حیوانات گروه چهارم نیز هم حجم آن نرمال‌سالین تزریق شد.

روش ارزیابی اضطراب:

برای ارزیابی میزان اضطراب، از دستگاهی به نام ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع (Elevated Plus Maze, EPM) که مدل استاندارد برای ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه از چوب ساخته شده است و شامل دو بازوی باز (هر یک 5×50 سانتی‌متر) و دو بازوی بسته (هر یک 40×5×50 سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی (5×5 سانتی‌متر) می‌باشد؛ به‌طوری‌که بازوهای باز روبه‌روی هم و بازوهای بسته نیز روبه‌روی یکدیگر قرار دارند و حدود 50سانتی‌متر از کف اتاق بالاتر قرار می‌گیرند. این مدل تجربی سنجش اضطراب، غیرشرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد. در این آزمایش، سه گروه ده‌تایی، دوزهای مختلف عصاره نارنج (200، 400 و 600 میلی‌گرم بر هر کیلوگرم از وزن بدن) را به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند. به حیوانات گروه چهارم (گروه شاهد 10 سر موش) نیز هم حجم آن، نرمال‌سالین تزریق شد.

30 دقیقه پس از تزریق عصاره، هر موش به‌طور جداگانه، 5دقیقه قبل از آزمایش در داخل جعبه‌ای با دیواره‌های مشکی از جنس پلکسی‌گلاس به ابعاد 40×40×30 سانتی‌متر قرار گرفت تا فعالیت جستجوگرانه (Explorative activity) حیوان افزایش یابد. سپس برای سنجش سطح اضطراب، حیوان در دستگاه ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع (در قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار داده شد و به‌مدّت 5دقیقه در طول روز به‌صورت مستقیم فعالیت‌های جستجوگرانه تعداد ورود به بازوهای باز و مدّت‌زمان ماندن در بازوهای باز، ارزیابی و ثبت گردید. شایان ذکر است که افزایش ورود به بازوهای باز و

مدت سپری‌شده در آنها، شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی می‌شود. همچنین قضاوت در مورد اختلاف معنی‌دار سطح اضطراب بدین صورت است که اگر همزمان هر دو شاخص (ورود به بازوی باز و مدت‌زمان سپری‌شده در آنها) در یک راستا کاهش و یا افزایش یابد و حداقل یکی از آنها تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشته باشد، به‌عنوان تغییر معنی‌دار سطح اضطراب تلقّی می‌شود.

روش تحلیل آماری:

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش 17) و با کمک آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری $P\leq0/05$ تعریف شد.

ملاحظات اخلاقی:

در مطالعه حاضر، استفاده از حیوانات آزمایشگاهی، منطبق بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بود. همچنین این مطالعه بر اساس پروتکل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه پیام نور بیرجند انجام شد و دارای کد اخلاق IR.Bums.REC.1395.135 می‌باشد.

یافته‌ها

در هر سه دوز آزمایشی، مدّت‌زمان خوابیدن، تعداد ورود به بازوی باز و درصد مدّت‌زمان ماندن در بازوی باز، به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت؛ به‌گونه‌ای که در دوزهای 200، 400 و 600 میلی‌گرم بر کیلوگرم، میانگین و انحراف‌معیار زمان خوابیدن به‌ترتیب: 12/2±0/53، 14/4±0/37 و 15/5± 1/22، میانگین و انحراف‌معیار تعداد ورود به بازوی باز به‌ترتیب: 5/9±0/21، 6/6±0/41 و 6/8±0/72 و درصد زمان ماندن در بازوی باز ماز به‌علاوه‌ای مرتفع به‌ترتیب: 64/4±4/01، 75± 3/01 و 78±2/01 نشان داده شد. این نتایج در جدول یک قابل مشاهده است ($P\leq0/05$).

جدول 1- مقایسه میانگین مدّت‌زمان خوابیدن، تعداد ورود به بازوی باز و مدّت‌زمان ماندن در بازوی باز، در سه گروه مداخله در مقایسه با گروه کنترل

گروه‌های آزمایشی	مدّت‌زمان خوابیدن (دقیقه)	تعداد ورود به بازوی باز	درصد زمان ماندن در بازوی باز
گروه کنترل	5/21±0/12	2/1± 0/11	41±0/31
گروه یک (دوز 200)	12/2±0/53 p=0/021	5/9±0/21 p=0/035	64±4/01 p=0/021
گروه دو (دوز 400)	14/4±0/37 p=0/016	6/6±0/41 p=0/027	75±3/01 p=0/014
گروه سه (دوز 600)	15/5±1/22 p= 0/013	6/8±0/72 p=0/022	78±2/01 p=0/012

بحث

این مطالعه نشان داد، عصاره آبی مشتق‌شده از بهارنارنج باعث افزایش دوره خواب و افزایش زمان سپری‌شده در بازوی باز مرتفع و همچنین افزایش دفعه‌های ورود به بازوی باز

می‌شود. پیش از این، Pultrini و همکاران (2006) نیز در مطالعه خود در زمینه بررسی تأثیر بهارنارنج بر اضطراب در مدل حیوانی، به ترکیب لیمونن اشاره کردند و نشان دادند این ترکیب اثر مهارکنندگی بر سیستم عصبی مرکزی دارد (14).

مطالعه Carvalho-Freitas و Costa (2002) نشان داد، بهارنارنج با افزایش بابیتورات، موجب کاهش اضطراب در زمان خواب می‌گردد (15). در مطالعه Lehrner و همکاران (2000) نیز مشخص شد، پخش اسانس بهارنارنج در اتاق انتظار دندانپزشکی، باعث کاهش اضطراب بیماران مراجعه‌کننده می‌گردد (16) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. علاوه بر آن در مطالعه عباس‌نژاد و همکاران (1391) مشخص گردید که بهارنارنج اثر پیشگیرانه در بروز حملات تشنجی ناشی از پنتیل‌تترازول (PTZ) در موش صحرایی دارد (17). بنابراین می‌توان گفت، همانطور که در طب سنتی به اثرات آرام‌بخشی و خواب‌آوری بهارنارنج اشاره شده است، ترکیبات موجود در عصاره این گیاه دارای اثرات ضدّ اضطرابی و خواب‌آوری می‌باشند.

تحقیقات نشان داده‌اند که مواد تشکیل‌دهنده بهارنارنج شامل ترکیباتی نظیر: لینانول، لینانیل‌استات، لیمونن، کومارین و انواع فلاوونوئیدها می‌باشند. بسیاری از عصاره‌های گیاهی، با داشتن ترکیبات مشابه، اثرات آرام‌بخشی نشان دادند (18). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که این ترکیبات باعث فعال‌شدن سیستم گاباارژیک می‌گردند (19). گاماآمینوبوتریک‌اسید (گابا) به‌عنوان یک انتقال‌دهنده عصبی مهاری در سیناپس‌های مغزی شناخته شده و بیشتر به‌واسطه پایانه‌های عصبی در نخاع، مخچه و یا عقده‌های قاعده‌ای دیگر در مغز ترشح می‌شوند. گابا یکی از مهمترین واسطه‌های شیمیایی بازدارنده اعصاب است که از طریق افزایش نفوذپذیری غشای عصبی نسبت به یون کلر عمل می‌کند (20). از طرف دیگر نورون‌های گابائرژیک، جزء نورون‌های مغزی مرتبط با خواب تلقی می‌شوند (21)؛ به‌طوری‌که در پژوهش‌های مختلف، القای خواب فیزیولوژی بعد از تزریق GABA در ناحیه تالاموکورتیکال گزارش شده است (22). مطالعه M?hler (2006) نیز حاکی از آن است که اتصال بنزودیازپین‌ها به گیرنده $GABA_A$، منجر به القای خواب می‌گردد (23).

لیمونن که از ترکیبات اصلی عصاره مورد آزمایش است، باعث کاهش فعالیت همزمان و دسته‌جمعی نورون‌های سیستم عصبی مرکزی می‌شود (17). این ترکیب قادر است به گیرنده‌های $GABA_A$ متصل شده و منجر به آزادسازی انتقال‌دهنده‌های عصبی گابا شود. بنابراین شاید بتوان گفت لیمونن با تأثیر بر سیستم گابائرژیکی و از طریق سرکوب سیستم عصبی مرکزی، باعث بروز اثرات ضدّ اضطرابی و خواب‌آوری می‌شود. کومارین نیز قادر است با قرارگرفتن بر روی گیرنده $GABA_A$، باعث افزایش رهاشدن گابا گردد (18) و از آنجا که میانجی عصبی گابا، نقش به‌سزایی در مهار نورون‌های مغز دارد، احتمالاً می‌توان اثرات ضدّ اضطرابی و خواب‌آوری بهارنارنج را به آن نسبت داد.

از طرف دیگر تحقیقات نشان داده‌اند که مشتقات فلاوونوویدی زیادی وجود دارند که لیگاندهایی برای گیرنده $GABA_A$ در سیستم عصبی مرکزی می‌باشند و با اتصال به نقاط اتصال داروهایی مثل بنزودیازپین‌ها، منجر به فعالیت‌های سرکوبی در سیستم عصبی مرکزی موش‌های سوری می‌شوند (24). به همین دلیل فلاوونوئیدها که مانند دیازپام توانایی کنش متقابل با گیرنده‌های $GABA_A$ در سیستم عصبی مرکزی را دارند (25)، به‌عنوان بنزودیازپین‌های گیاهی شناخته شده‌اند (26)؛ علاوه بر آن فلاونوئیدها نیز مانند: کومارین و لیمونن قادرند با اتصال به گیرنده $GABA_A$ و آزادسازی گابا، اثرات ضدّ اضطرابی و خواب‌آوری خود را اعمال کند.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که عصاره آبی بهارنارنج، باعث افزایش دوره خواب و کاهش سطح اضطراب در موش می‌گردد و می‌توان اثرات ضدّ اضطرابی و خواب‌آوری

بهارنارنج را به فعال‌شدن سیستم گابائرژیک نسبت داد.

تقدیر و تشکر

در پایان از کارکنان آزمایشگاه فیزولوژی دانشگاه پیام نور مرکز بیرجند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع:

1- Kaplan HI, Sadock BJ. Synapsis of psichiatery. New York: Williams & Wilkins; 1998.

2- Mora S, Mill?n R, Lungenstrass H, D?az-Véliz G, Mor?n JA, Herrera-Ruiz M, et al. The hydroalcoholic extract of salvia elegans induces anxiolytic- and antidepressant- like effects in rats. J Ethnopharmacol. 2006; 106(1): 76-81.

3- Wortelboer U, Cohrs S, Rodenbeck A, Rüther E. Tolerability of hypnosedatives in older patients. Drugs Aging. 2002; 19(7): 529-39.

4- Balogh A. [Drug for the treatment of sleep disorders--review]. Z Arztl Fortbild Qualitatssich. 2001; 95(1): 11-6. [German]

5- Hosseinzadeh H, Hassanzadeh-Moghaddam AR. Muscle relaxant and hypnotic effects of salvia Leriifolia benth leaves extract in mice. Iran J Basic Med Sci. 2001; 4(3): 130-8.

6- Hosseinzadeh H, Nassiri Asl M. Anticonvulsant, sedative and muscle relaxant effects of carbenoxolone in mice. BMC Pharmacol. 2003; 3: 3.

7- Akanmu MA, Honda K, Inoué S. Hypnotic effects of total aqueous extracts of Vervain hastate (verbenaceae) in rats. Psychiatry Clin Neurosci. 2002; 56(3): 309-10.

8- Krenn L. [Passion Flower (Passiflora incarnata L.)--a reliable herbal sedative]. Wien Med Wochenschr. 2002; 152(15-16): 404-6. [German]

9- L M Lopes C, Gonçalves e S? C, de Almeida AA, da Costa JP, Marques TH, Feitosa CM, et al. Sedative, anxiolytic and antidepressant activities of Citrus limon (Burn) essential oil in mice. Pharmazie. 2011; 66(8): 623-7.

10- Zargari A. Medicine plants. 1st ed. Tehran: Tehran University Publication; 1992. [Persian]

11- Leite MP, Fassin Jr J, Baziloni EM, Almeida RN, Mattei R, Leite JR. Behavioral effects of essential oil of Citrus aurantium L. inhalation in rats. Braz J Pharmacogn. 2008; 18: 661-6.

12- Akhlaghi M, Shabanian G, Rafieian-Kopaei M, Parvin N, Saadat M, Akhlaghi M. Citrus aurantium blossom and preoperative anxiety. Rev Bras Anesthesiol. 2011; 61(6):702-12. [English, Multiple languages]

13- Vafaei AA. Assessing the role of rat's orbitofrontal cortex on sleeping time and duration. J Qazvin University of Med. Sci. 2005; 9(3): 16-21. [Persian]

14- Pultrini Ade M, Galindo LA, Costa M. Effects of the essential oil from Citrus aurantium L. in experimental anxiety models in mice. Life Sci. 2006; 78(15): 1720-5.

15- Carvalho-Freitas MI, Costa M. Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from Citrus aurantium L. Biol Pharm Bull. 2002; 25(12): 1629-33.

16- Lehrner J, Eckersberger C, Walla P, Potsch G, Deecke L. Ambient odor of orange in a dental office reduces anxiety and improves mood in female patients. Physiol Behav. 2000; 71(1-2): 83-6.

17- Abbasnejad M, Keramat B, Esmaili Mahani S, Rezaeezade-Roukerd M. Effect of Hydro-Methanolic Extract of Sour Orange Flowers, Citrus Aurantium, on Pentylentetrazole Induced Seizure in Male Rats. J Babol Univ Med Sci. 2012; 14(5): 20-9. [Persian]

18- Chan YY, Li CH, Shen YC, Wu TS. Anti- inflammatory principles from the stem and root barks of Citrus media. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2010; 58(1): 61-5.

19- Santos MS, Ferreira F, Cunha AP, Carvalho AP, Ribeiro CF, Macedo T. Synaptosomal GABA release as influenced by valerian root extract--involvement of the GABA carrier. Arch Int Pharmacodyn Ther. 1994; 327(2): 220-31.

20- Yuan CS, Mehendale S, Xiao Y, Aung HH, Xie JT, Ang-Lee MK. The gamma-aminobutyric acidergic effects of valerian and valerenic acid on rat brainstem neuronal activity. Anesth Analg. 2004; 98(2): 353-8.

21- Sanders SK, Morzorati SL, Shekhar A. Priming of experimental anxiety by repeated subthreshold GABA blockade in the rat amygdala. Brain Res. 1995; 699(2): 250-9.

22- Rudolph U, M?hler H. GABAA receptor subtypes: Therapeutic potential in Down syndrome, affective disorders, schizophrenia, and autism. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2014; 54: 483-507.

23- M?hler H. GABAA receptors in central nervous system disease: anxiety, epilepsy, and insomnia. J Recept Signal Transduct Res. 2006; 26(5-6): 731-40.

24- Huang X, Liu T, Gu J, Luo X, Ji R, Cao Y, et al. 3D-QSAR Model of flavonoids binding at benzodiazepine site in GABAA receptors. J Med Chem. 2001; 44(12): 1883-91.

25- Shen DW, Higgs MH, Salvay D, Olney JW, Lukasiewicz PD, Romano C. Morphological and electrophysiologicalevidence for an ionotropic GABAA receptor of novel pharmacology. J Neurophysiol 2002; 87: 250-6.

26- Hanrahan JR, Chebib M, Davucheron NL, Hall BJ, Johnston GA. Semisynthetic preparation of amentoflavone: a negative modulator at GABAA receptors. Bioorg Med Chem Lett. 2003; 13(14): 2281-4.