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

Zhivar Shafei[1], Saeid Abbasi Maleki[2], Firouz Ghaderi-Pakdel[3]

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 anti-depressant 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.*

مقاله اصیل پژوهشی

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

ژیوار شافعی[1]، سعید عباسی ملکی[2]، فیروز قادری پاکدل[3]

چکیده

زمینه و هدف: در طبّ سنتی، از بنفشه معطر به‌عنوان ضدّ التهاب، خواب‌آور، آرام‌بخش، آنتی‌اکسیدان، ضدّ اضطراب و درمان‌کننده اختلالات عصبی–روانی استفاده می‌شود؛ از این رو، در این مطالعه اثر حاد ضدّ افسردگی عصاره هیدرو الکلی بنفشه معطر در موش سوری بررسی شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، ۱۱۴سر موش سوری نر نژاد آلبینو، به‌شکل تصادفی به گروه‌های دریافت‌کننده نرمال‌سالین (کنترل)(۱۰ml/kg, i.p)، فلوکستین (۲۰ml/kg, i.p)، ایمی‌پرامین (۳۰ml/kg, i.p) و عصاره بنفشه معطر (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ ml/kg, i.p) تقسیم شدند. سنجش میزان افسردگی با آزمون‌های رفتاری شنای اجباری (Forced swimming test)، معلّق‌ماندن دم (Tail suspension test) و جعبه باز (Open field test) انجام گرفت.

یافته‌ها: بنفشه معطر (۱۰۰ mg/kg تا ۴۰۰) سبب کاهش مدّت‌زمان بی‌حرکتی (به‌ترتیب برابر با P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱) در هر دو آزمون شنای اجباری و آزمون معلق‌ماندن دم شد. عصاره این گیاه، زمان شناکردن را (به‌ترتیب P<۰/۰۱ وP<۰/۰۰۱) بدون تغییر معنی‌دار در زمان صعودکردن (P>۰/۰۵) افزایش داد. در آزمون جعبه باز، دوزهای ۲۰۰mg/kg و ۴۰۰mg/kg بنفشه معطر سبب کاهش تعداد عبور از مربع و روی دو پا ایستادن (به‌ترتیب P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱) شد.

نتیجه‌گیری: احتمالاً دوزهای حاد بنفشه معطر، شبیه فلوکستین سبب بروز اثرات ضدّ افسردگی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: عصاره بنفشه معطر؛ افسردگی؛ مدل‌های حیوانی

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

دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۸ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۲۶

[1] گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

[2] **نویسنده مسؤول؛** گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، 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

[3] 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 اشتهاء، 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[1] و دوپامین[2] 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 ضدّ 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 مؤثّر بوده، اما عوارض ناشی از آنها سبب محدودیت و کاهش مصرف آنها می‌شود (۲). بنابراین یافتن داروهای ضدّ افسردگی جدید با کارآیی 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 ضدّ افسردگی عصاره‌ها یا اسانس‌های مختلفی همچون: اسطوخودوس، انیسون، گل ساعتی، نعنا فلفلی و گل رنگ را گزارش نموده‌اند (۹-۵).

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 ضدّ التهاب، آنتی‌باکتریال، آنتی‌اکسیدان، تضعیف‌کننده سیستم عصبی، ضدّ تب، شل‌کننده عضلات، خواب‌آور، ضدّ التهاب، ضدّ سرطان، آرام‌بخش و مقوی اعصاب، مدر (ادرارآور)، مسهل، ضدّ تب، اکسپکتورانت (خلط‌آور)، ضدّ آسم، ضدّ فشار خون، ضدّ اضطراب، درمان بیماری‌های پوست و اختلالات عصبی و روانی بنفشه معطر، استفاده می‌شود (۱۱، ۱۰). 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 ضدّ افسردگی عصاره بنفشه معطر صورت نگرفته است؛ این مطالعه با هدف بررسی اثر ضدّ افسردگی عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر در آزمون‌های رفتاری شنای اجباری[3]، آزمون معلق‌ماندن دم[4] و آزمون جعبه‌باز[5] به‌عنوان مدل‌های حیوانی بررسی افسردگی در موش سوری نر انجام شد.

روش تحقیق

حیوانات:

در این مطالعه تجربی، از ۱۱۴سر 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 ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و سیکل منظم ۱۲ ساعته روشنایی- تاریکی نگهداری شدند. در این مدّت، آب و غذای تجارتی (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

[1] *Noradrenalin (NA)*
[2] *Dopamine (DA)*
[3] *Forced swim test (FST)*
[4] *Tail suspension test (TST)*
[5] *Open field test (OFT)*

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.IAUurmia.REC.1395.03) رعایت گردید.

داروها و عصاره گیاهی:

در این مطالعه، از پودر فلوکستین هیدروکلراید (داروسازی آریا، ایران) و ایمی‌پرامین هیدروکلراید (داروسازی پارس‌دارو، 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[1] و در حجم معین ۱۰میلی‌لیتر 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 ضدّ افسردگی ثبت گردید. موش‌ها بعد از تزریق عصاره یا دارو، به‌طور جداگانه در ظروفی با ابعاد ۸×۱۲×۲۵ سانتی‌متر که حاوی آب با دمای ۱±۲۵ 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 ۶دقیقه به طول انجامید که ۲دقیقه اول برای تطابق حیوان با محیط در نظر گرفته شد و در ۴دقیقه بعد، هر یک از رفتارهای بی‌حرکتی، شناکردن و صعودکردن توسط کورنومتر (سیتی‌زن، ساخت ژاپن) بر حسب ثانیه ثبت گردید (۱۲).

آزمون معلق‌ماندن دم (TST): بدینمنظور از پایه‌های فلزی به ارتفاع ۷۰سانتی‌متر استفاده شد. بین دو پایه فلزی، یک ریسمان ۵۰سانتی‌متری 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 ضدّ افسردگی توسط کورنومتر و بر حسب ثانیه ثبت گردید. در این آزمون نیز کل زمان آزمون، ۶دقیقه بود که ۲دقیقه اول برای تطابق حیوان با محیط در نظر گرفته شد و در ۴دقیقه 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[2] (ساخت چین) ثبت گردید. مدت زمان این آزمون ۵دقیقه بود که یک‌دقیقه از آن برای تطابق موش به جعبه در نظر گرفته شد و در ۴دقیقه باقیمانده، رکورد (داده‌ها) صورت گرفت.

گروه‌بندی حیوانات و آزمایش‌های تجربی:

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

گروه‌های آزمون FST

۱- گروه نرمال کنترل منفی (یا نرمال‌سالین): در این گروه ۶سر موش، نرمال‌سالین را با دوز ۱۰ml/kg دریافت نموده و ۳۰دقیقه بعد از آن، آزمون FST صورت گرفت.

۲-گروه کنترل مثبت: در این گروه، ۱۲سر موش به‌ترتیب: فلوکستین (۲۰mg/kg) و ایمی‌پرامین (۳۰mg/kg)

[1] *Intraperitoneal (i.p)*

[2] *Counter*

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

۳-گروه دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر: در این گروه، ۲۴سر موش به‌ترتیب: دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره را دریافت نموده و ۳۰دقیقه بعد، آزمون FST صورت گرفت.

گروه‌های آزمون TST

۱- گروه نرمال کنترل منفی (یا نرمال‌سالین): در این گروه ۶سر موش، نرمال‌سالین را با دوز ۱۰ml/kg دریافت نموده و ۳۰دقیقه بعد از آن، آزمون TST صورت گرفت.

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

۳-گروه دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر: در این گروه ۲۴سر موش به‌ترتیب: دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره را دریافت نموده و ۳۰ دقیقه بعد، آزمون TST صورت گرفت.

گروه‌های آزمون OFT:

۱-گروه نرمال کنترل منفی (یا نرمال‌سالین): در این گروه ۶سر موش نرمال‌سالین را با دوز ۱۰ml/kg را دریافت نموده و ۳۰دقیقه بعد از آن آزمون OFT صورت گرفت.

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

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

در این مطالعه، اساس انتخاب تمام دوزهای مصرفی و تجویز داروها یا عصاره دقیقاً بر اساس مطالعات قبلی ما و منابع معتبر دیگران بود (۱۵و ۱۴ ،۹- ۵).

تجزیه و تحلیل داده‌ها:

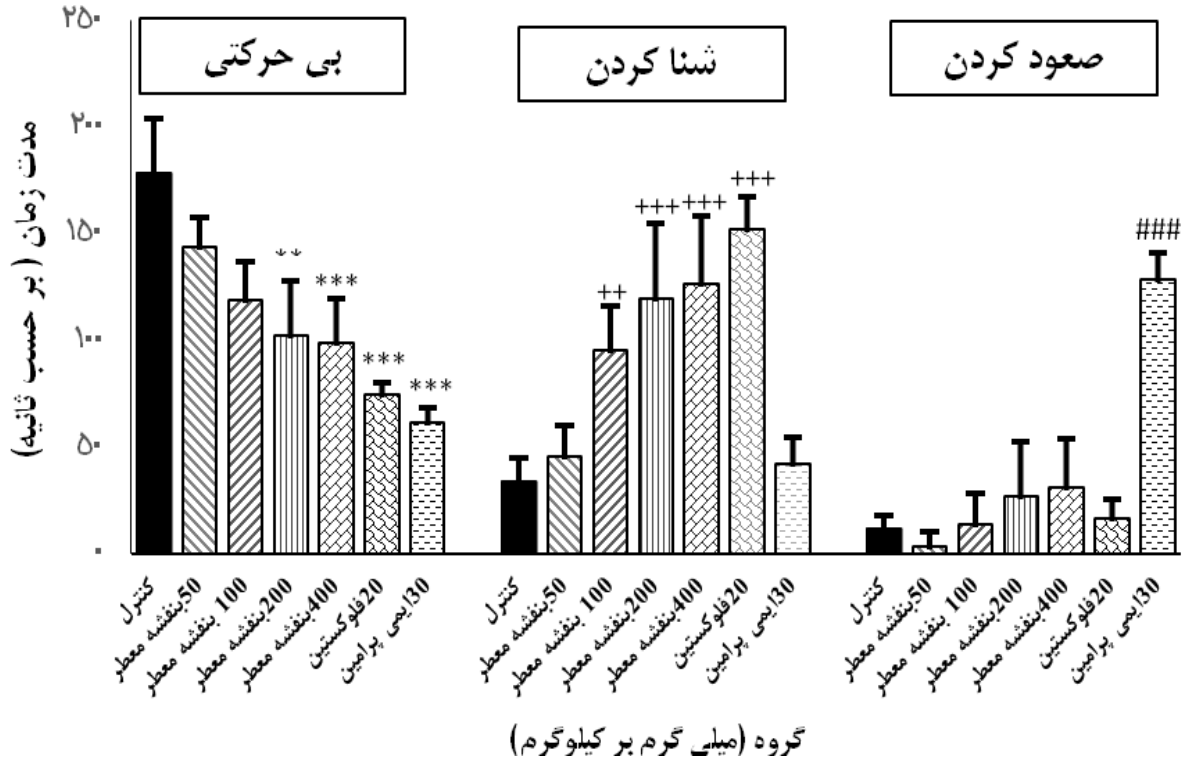
نتایج به‌صورت میانگین±انحراف‌معیار برای ۶سر موش در هر گروه نشان داده شده است. بدین‌منظور از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و به‌دنبال آن تست تعقیبی Newman-Keuls استفاده شد. از برنامه Prism GraphPad (ویرایش ۷) (CA, SanDiego, Inc, USA) برای تجزیه و تحلیل و ترسیم نمودارها استفاده شد و در هر مورد P<۰/۰۵ معنی‌دار تلقّی گردید.

یافته‌ها

نتایج تأثیر فلوکستین، ایمی‌پرامین و دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر بر مدت زمان بی‌حرکتی، شناکردن و صعودکردن در آزمون FST در موش سوری نر:

همان‌طور که در نمودار یک دیده می‌شود، فلوکستین (P<۰/۰۰۱) و ایمی‌پرامین (P<۰/۰۰۱) هر دو در مقایسه با گروه کنترل (نرمال‌سالین) سبب کاهش مدّت‌زمان بی‌حرکتی شدند. در این بین، ایمی‌پرامین بهتر از فلوکستین سبب کاهش مدّت‌زمان بی‌حرکتی گردید؛ البته رابطه معنی‌داری بین آنها دیده نشد (P>۰/۰۵). نتایج همچنین نشان داد که فلوکستین سبب افزایش (P<۰/۰۰۱) مدّت‌زمان شناکردن بدون تغییر معنی‌دار در مدّت‌زمان صعودکردن شد (P>۰/۰۵)؛ برعکس آن، ایمی‌پرامین سبب افزایش (P<۰/۰۰۱) مدّت‌زمان صعودکردن بدون تغییر معنی‌دار در زمان شناکردن شد (P>۰/۰۵).

نتایج نشان داد که دریافت دوزهای مختلف بنفشه معطر (۱۰۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در گروه دریافت‌کننده دوزهای مختلف این گیاه در مقایسه با گروه کنترل، سبب کاهش مدت‌زمان بی‌حرکتی و افزایش مدت‌زمان شناکردن شد. البته دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بنفشه معطر قوی‌تر از دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر

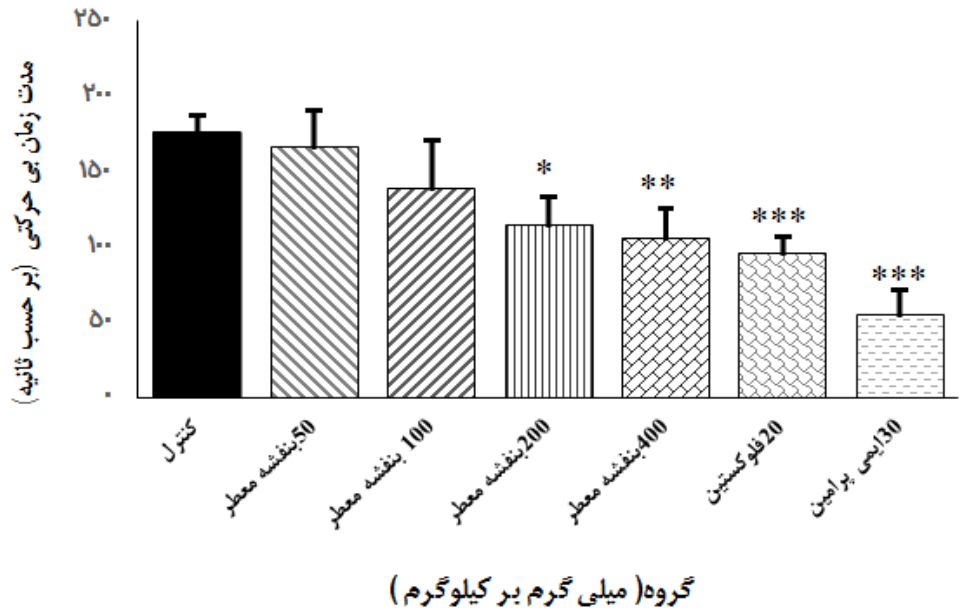


نمودار ۱- مقایسه دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر (VO)، فلوکستین (Flx) و ایمی‌پرامین (IMP) بر زمان بی‌حرکتی، زمان شناکردن و زمان صعود کردن با استفاده از آزمون شنای اجباری در طی ۶دقیقه. ** و ***: به‌ترتیب برابر با P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل برای مدت زمان بی‌حرکتی، ++ و +++ به‌ترتیب برابر با P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل برای مدت‌زمان شناکردن و ### برابر P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل برای مدت زمان صعودکردن. نتایج به شکل Mean±SEM بیان شده است.

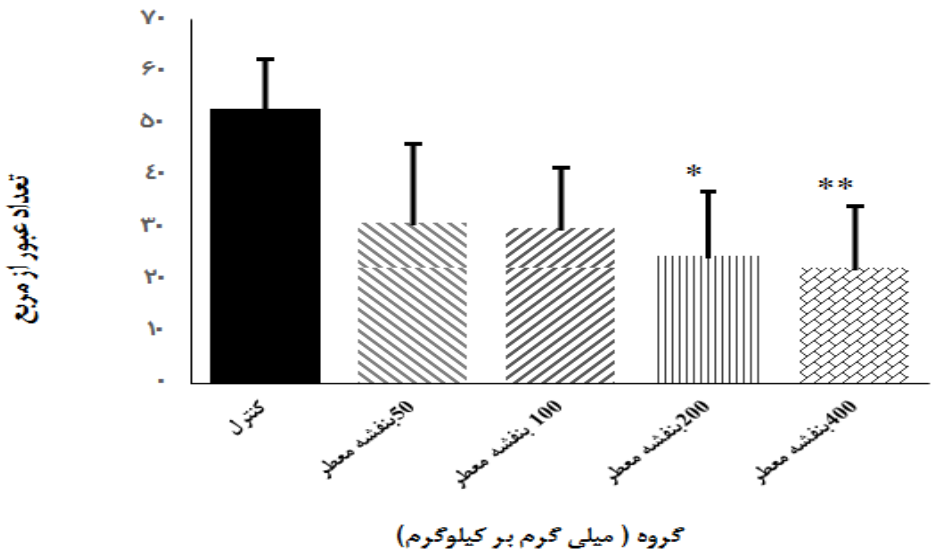
کیلوگرم سبب کاهش مدت‌زمان بی‌حرکتی گردید؛ ولی با این حال تفاوت معنی‌داری بین آنها وجود نداشت (P>۰/۰۵). نتایج نشان داد که هیچ‌کدام از دوزهای بنفشه معطر نتوانستند سبب افزایش معنی‌دار در مدت‌زمان صعودکردن شوند (P>۰/۰۵)(نمودار ۱).

نتایج تأثیر فلوکستین، ایمی‌پرامین و دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر بر مدّت‌زمان بی‌حرکتی در آزمون TST در موش سوری نر:

نتایج نشان داد که همچون آزمون FST، دوزهای مختلف بنفشه معطر (۱۰۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، فلوکستین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ایمی‌پرامین (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش مدت‌زمان بی‌حرکتی شد. در این بین، ایمی‌پرامین قوی‌تر از فلوکستین و دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره قوی‌تر از بقیه دوزها سبب کاهش مدت‌زمان بی‌حرکتی شد؛ ولی با این وجود تفاوت معنی‌داری بین آنها دیده نشد (P>۰/۰۵) (نمودار۲).



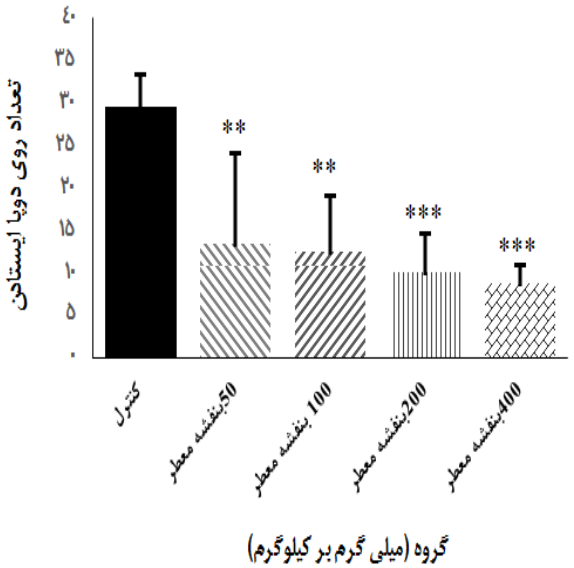
نمودار ۲- مقایسه دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر(VO)، فلوکستین (Flx) و ایمی‌پرامین (IMP) بر زمان بی‌حرکتی با استفاده از آزمون معلق‌ماندن دم در طی ۶دقیقه. ** و *** به‌ترتیب برابر با P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل برای مدت زمان بی‌حرکتی. نتایج به شکل Mean±SEM بیان شده است.



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 ۵دقیقه. * و** به‌ترتیب برابر با P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل برای عبور از مربع. نتایج به شکل Mean±SEM بیان شده است.

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>۰/۰۵)



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 ۵دقیقه. ** و *** به‌ترتیب برابر با P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل برای روی دو پا ایستادن. نتایج به شکل Mean±SEM بیان شده است.

بحث

هدف مطالعه حاضر، مقایسه اثر ضدّ افسردگی عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر در مدل‌های حیوانی افسردگی یا 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 مدّت‌زمان شناکردن می‌شود؛ ولی مدّت‌زمان 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 ضدّ 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 مدّت‌زمان 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 ضدّ 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

(۲۰۱۱) نیز در مطالعه خود گزارش نمودند که عصاره آبی گیاه *Channastriatus fillet* به‌واسطه خاصیت آرام‌بخشی سبب کاهش تعداد عبور از مربع و روی دو پا ایستادن در آزمون جعبه باز می‌شود (۱۷).

بررسی‌های فیتوشیمیایی اخباری و همکاران بر روی بنفشه معطر، وجود ترکیبات متعددی از جمله: سیکلوتیدها[1]، فلاونوئیدها[2]، آلکالوئیدها[3] و تری‌ترپنوئیدها[4] را گزارش نمود (۱۸). یکی از مهمترین ترکیبات موجود در ساختمان این گیاه، Methyl β-D-galactoside می‌باشد که البته تأثیری بر روی افسردگی و یا بروز اثرات ضدّ افسردگی ندارد. لینولئیک‌اسید، 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 ضدّ افسردگی اسیدلینولئیک را مشخص نموده است (۱۹). در تأیید یافته‌های مطالعه حاضر، Su در مطالعه خود نشان داد که لینولئیک‌اسید موجود در امگا ۳ و امگا ۶، با مکانیسم سرتونرژیک اثرات خود را القاء می‌کند (۲۰). یکی دیگر از اسیدهای چرب می‌توان به اسید پالمیتیک[5] اشاره نمود که به‌مقدار زیادی در بنفشه معطر یافت می‌شود. فلاونوئیدهایی همچون روتین[6] و ویولاتین[7] نیز به‌مقدار زیادی در بنفشه معطر یافت می‌شود. مطالعات قبلی اثرات ضدّ افسردگی و آنتی‌اکسیدانی روتین را گزارش نموده‌اند (۲۱). در همین راستا و موافق با یافته‌های مطالعه حاضر، نشان داده‌اند که روتین یکی از اجزای اصلی هوفاریقون یا گل راعی (*Hypericum perforatum*) بوده که از اثر ضدّ افسردگی در آزمون شنای اجباری برخوردار می‌باشد(۲۲). ابراهیم‌زاده و همکاران،در مطالعه خود اثر آنتی‌اکسیدانی ویولاتین را نیز گزارش نموده‌اند (۲۳). گذشته از این یافته‌ها، همسو با نتایج مطالعه حاضر Karim و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه خود اثر ضد افسردگی سه مشتق فلاونوئیدی جداشده از بنفشه معطر را گزارش نمودند. آنها مشخص نمودند که ۵ و ۷ دی‌هیدروکسی-۳و۶- دی‌متوکسی فلاون (5,7-Dihydoxy-3,6-dimethoxyflavone)، ۵ و ۷ و ۴- تری‌اکسی-۳ و ۵ در متوکسی‌فلاون (5,7,4,-trihydoxy-3,5,dimethoxyflavone) و ۵ و ۷ و ۴-تری‌هیدروکسی-۳- فلاون (5,7,4-trihydoxy متوکسی 3-methoxyflavone-)، از اثر ضدّ افسردگی برخوردار می‌باشند. آنها نشان دادند که این سه فلاونوئید جدا شده، با مکانیسم سروتونرژیک اثر ضدّ افسردگی خود را به‌جای می‌گذارند؛ به عبارت برتر، گیرنده‌های سروتونینی (5HT1A,5HT2A و 5HT3) در بروز اثرات ضدّ افسردگی این فلاونوئیدها دخیل هستند. در تأیید این یافته و در بررسی نوروشیمیایی مغز موش‌های تیمارشده با این سه فلاونوئید، مقدار سروتونین در مغز آنها در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته و از سوئی به‌دنبال مصرف توأم آنها با مهارکننده سنتز سروتونین یا pCPA (4-Chloro-DL-phenylalanine) مقدار سروتنین مغز کاهش یافته است (۲۴).

از سویی مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات آنتی‌اکسیدان، از اثرات ضدّ افسردگی برخوردار می‌باشند؛ به عبارتی آنتی‌اکسیدان‌ها سبب مهار بازجذب سروتونین (5HT) می‌شوند (۹). به‌عنوان مثال، مطالعه Scapagnini و همکاران اثر آنتی‌اکسیدانی داروهای ضدّ افسردگی (مثل فلوکستین) را گزارش نمودند (۲۵). در این راستا ابراهیم‌زاده و همکاران نیز خواص آنتی‌اکسیدانی بنفشه معطر را گزارش نمودند (۲۳). این یافته‌ها همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، دال بر تأثیر احتمالی سیستم سروتونرژیک در اثرات ضدّ افسردگی عصاره هیدروالکلی بنفشه معطر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، چنین به نظر می‌رسد 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 ضدّ افسردگی و آرام‌بخشی می‌شود. 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 می‌باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله، برگرفته از پایان‌نامه دکتری حرفه‌ای دامپزشکی آقای ژیوار شافعی با کد ۱۰۳۱۰۵۰۱۹۵۱۰۰۵ بوده که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه در سال ۱۳۹۵ انجام شده است. نویسندگان مقاله از شرکت گیاه اسانس گرگان (دکتر سلیمانی) به‌خاطر تهیه و تحویل عصاره هیدرو الکلی بنفشه معطر، تشکر و قدردانی می‌کنند.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

منابع:

1- Kaplan B, Sadock VA. Mood disorders. 8thed . 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- Jafarpoor 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.