

# بررسی اثر ضدافسردگی عصاره‌های آبی و الکلی برگ

## گیاه به‌لیمو بر افسردگی پس از زایمان در موش

دکتر حسین حسین‌زاده<sup>۱،۲</sup>، سپیده علیمرادی<sup>۳</sup>، دکتر بی بی مرجان

رضوی<sup>۴،۵\*</sup>

۱. استاد ممتاز فارماکولوژی، گروه فارماکودینامی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده فناوری‌های نوین دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. دکتری عمومی داروسازی، گروه فارماکودینامی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۴. استاد گروه فارماکودینامی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۵. مرکز تحقیقات سامانه‌های دارورسانی هدفمند، پژوهشکده فناوری‌های نوین دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۷

### خلاصه

**مقدمه:** افسردگی پس از زایمان اثرات مخربی بر مادر و کودک دارد. با توجه به استفاده از دم‌کرده گیاه به‌لیمو در طب سنتی به‌عنوان آرام‌بخش، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره‌های آبی و الکلی برگ به‌لیمو بر افسردگی پس از زایمان انجام گرفت.

**روش کار:** این مطالعه حیوانی در سال ۱۳۹۷ بر روی موش ماده در دانشکده داروسازی مشهد انجام شد. ابتدا افسردگی پس از زایمان با تزریق پروژسترون به‌صورت IP (داخل صفاقی) صورت گرفت (۵ روز تزریق پروژسترون با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۳ روز قطع، سپس در روز هشتم تزریق نرمال سالیین). پس از اطمینان از ایجاد افسردگی (مقایسه با گروه کنترل منفی و انجام تست‌های رفتاری آویزان کردن از دم (TST) و شنای اجباری (FST)، عصاره‌های آبی و اتانولی برگ به‌لیمو با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های افسرده در گروه‌های مختلف به‌صورت داخل صفاقی تزریق شده و یک ساعت بعد، به‌ترتیب آزمون‌های TST و FST انجام گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از پریسم و آزمون‌های آماری تی دو جامعه مستقل و واریانس یک‌طرفه انجام شد. میزان  $p$  کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** عصاره آبی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره الکلی با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌دار مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون‌های FST و TST شدند ( $p < ۰/۰۰۰۱$ ).

**نتیجه‌گیری:** عصاره‌های آبی و الکلی برگ به‌لیمو دارای اثر ضدافسردگی پس از زایمان می‌باشند. علت کارایی بیشتر عصاره الکلی احتمالاً به‌دلیل میزان بیشتر ماده مؤثره به‌لیمو یعنی ورباسکوزید می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** آزمون شنای اجباری، افسردگی، افسردگی پس از زایمان، به‌لیمو

\* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر بی بی مرجان رضوی؛ دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. تلفن: ۰۵۱-۳۱۸۰۱۱۹۴؛ پست الکترونیک: razavimr@mums.ac.ir

## مقدمه

افسردگی یک اختلال خلقی است که با تغییر در شناخت، رفتار و اعمال فیزیکی مشخص می‌شود. شیوع اختلال افسردگی اساسی در طول دوره زندگی بین ۱۷-۵٪ تخمین زده می‌شود. اگرچه امروزه تقریباً ۹۰-۸۰٪ افراد مبتلا به‌طور مؤثر درمان می‌شوند، ولی فقط یک سوم بیماران به‌دنبال درمان هستند. تقریباً دو سوم افراد افسرده افکار خودکشی را تجربه می‌کنند و ۱۵-۱۰٪ واقعا خودکشی می‌کنند. گفته می‌شود شیوع افسردگی در طول دوره زندگی زنان (۲۶-۵٪) بیش از مردان (۱۲-۲٪) است. علاوه بر این افسردگی در زنان در سنین ۴۴-۲۵ سالگی در مقایسه با مردان در همین سن ۲ بار شایع‌تر است (۱).

وجود هم‌زمان ۵ مورد از عدم تعادلات فیزیولوژیک و مشخصه افسردگی (اشکال در تمرکز، احساس بی‌ارزشی، پرخواهی یا بی‌خواهی، تغییر در وزن و اشتها، احساس خستگی، نداشتن علاقه در کارها، افکار مکرر در مورد خودکشی و مرگ، کندی حرکات) که بیش از ۲ هفته تداوم داشته و حداکثر ظرف ۶ ماه پس از زایمان آغاز شود، افسردگی پس از زایمان توصیف می‌شود. افسردگی پس از زایمان بسیار معمول است و حدود ۱۵-۱۰٪ زنانی که وضع حمل می‌کنند، این وضعیت را تجربه می‌کنند (۲). مطالعات به‌طور فزاینده‌ای نشان می‌دهد که افسردگی پس از زایمان و اختلالات خلقی دوران بارداری می‌تواند اثرات مخربی بر مادر و کودک داشته باشد و در صورتی که درمان نشود، اثرات طولانی‌مدت بر دیگر فرزندان و خانواده کاملاً مشهود خواهد بود. علت افسردگی پس از زایمان شناخته نشده است، با این حال عوامل بیولوژیک نظیر افت ناگهانی استروژن بعد از زایمان، افت پروژسترون، افزایش دفع ادراری کورتیزول، وجود پرولاکتین، اکسی‌توسین و بتاندروفین‌ها نقش دارند (۳).

به‌لیمو با نام‌های علمی *Aloysia citrodora*, *Lippia citriodora* و نام انگلیسی *Lemon verbena* درختچه‌ای سبز از خانواده شاهپسند (*Verbenacea*) و دارای حداقل ۰/۵٪ روغن فرار است. برگ‌ها بخش اصلی این گیاه و دارای بویی شبیه به‌لیمو هستند، ولی

در برخی مواقع از اندام‌های هوایی آن مانند گل‌های بالایی نیز استفاده می‌شود (۴). فنیل پروپانویید جدا شده از این گیاه وریاسکوزاید نام دارد که عامل اصلی بروز خواص آنتی‌اکسیدانی به لیمو به شمار می‌رود و شامل ۷۹٪ کل پروپانوییدهای گیاه می‌شود (۴).

از به‌لیمو در طب سنتی در درمان سوءهاضمه، نفخ، دردهای عصبی، سردردهای یک‌طرفه، سرگیجه و علائم سرماخوردگی استفاده می‌گردد. برگ‌های تازه و خشک شده این گیاه به‌عنوان ضد تب، ضد درد، آرام‌بخش، ضد کم‌خونی، ضد نفخ و غیره استفاده می‌شود. همچنین به‌عنوان تسکین‌دهنده قلب و ضد میگرن استفاده می‌شود. این گیاه به‌عنوان کاهنده قندخون، ضدخونریزی بینی و روده استفاده می‌شود. برگ‌های این گیاه همچنین برای درد معده، افزایش ضربان قلب، احساس صداهای مشکوک در گوش و اختلالات روانی مفید می‌باشد. علاوه بر این دم‌کرده به‌لیمو فوق‌العاده آرام‌بخش است. اسانس این گیاه در تومور و در سرطان به‌ویژه سرطان پاراتیروئید، فتق، شکم و پولیپ‌ها استفاده می‌شود (۷-۵).

اثرات فارماکولوژیک این گیاه مشتمل بر اثرات ضد سرطان، اثرات محافظتی معده، اثرات ضد درد و ضدالتهاب، اثرات محافظتی روی سیستم عصبی، اثرات آنتی‌اکسیدانی، اثرات ضد میکروبی و ... می‌باشد (۱۶-۸). مشخص شده است که تجویز داخل صفاقی عصاره آبی گیاه به‌لیمو تا دوزهای ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای دوره درمانی ۲۱ روز در حیوان به‌خوبی تحمل شده و هیچ‌گونه عارضه سمی از خود نشان نداده است (۱۷). همچنین وریاسکوزید به‌عنوان ترکیب اصلی گیاه در تجویز حاد و مزمن اثر سمی یا مرگ‌ومیر در حیوانات نشان نداده است (۱۸).

با توجه به شیوع بالای افسردگی در ایران، اقبال عمومی نسبت به استفاده از فرآورده‌های گیاهی در برابر فرآورده‌های شیمیایی و عدم وجود تحقیقات کافی در مورد اثر گیاه به‌لیمو بر افسردگی پس از زایمان و با توجه به خاصیت آرام‌بخشی این گیاه، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره‌های آبی و الکلی برگ به‌لیمو بر افسردگی پس از زایمان انجام شد.

## روش کار

این مطالعه حیوانی در سال ۱۳۷۷ بر روی موش‌های ماده در دانشکده داروسازی مشهد انجام شد.

### حیوان

موش‌های سوری نژاد رازی جنس ماده که دارای وزنی بین ۲۰-۲۵ گرم بودند، از اتاق حیوانات دانشکده داروسازی مشهد تهیه شدند و در شرایط دوره‌ای ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی و رژیم غذایی عادی نگهداری شدند. این مطالعه توسط انستیتوی ملی توسعه تحقیقات پزشکی و کمیته مراقبت و استفاده از حیوانات دانشگاه علوم پزشکی مشهد (۹۴۱۲۰۷) تأیید و طبق اصول پذیرفته شده بین‌المللی استفاده و مراقبت از حیوانات هدایت شده است. تمام تزریق‌ها در محدوده زمانی ۸ صبح تا ۱۲ ظهر صورت گرفت.

### تهیه عصاره‌های آبی و اتانولی برگ گیاه به‌لیمو

عصاره‌گیری از برگ گیاه *L. citriodora* (برگ گیاه به‌لیمو از کرج جمع‌آوری شد و توسط هرباریوم دانشگاه فردوسی شناسایی صورت گرفت) به‌روش جوشاندن و خیساندن انجام گرفت.

### تهیه عصاره آبی به‌روش جوشاندن

ابتدا در یک بشر ۲ لیتری، ۱ لیتر آب تا حد جوشیدن حرارت داده شد، بعد از به جوش آمدن آب، مقدار ۲۰۰ گرم برگ خشک گیاه به‌لیمو که قبلاً ساییده شده بود، به آب جوشیده اضافه شد. مخلوط آب و گیاه به‌مدت ۱۵ دقیقه روی حرارت قرار گرفت و در این مدت توسط همزن شیشه‌ای هم زده شد. پس از پایان ۱۵ دقیقه و قطع حرارت، این مخلوط یک‌بار توسط گاز و پنبه و بار دیگر توسط کاغذ صافی معمولی صاف شد. مایع صاف شده به یک بالن شیشه‌ای منتقل شده تا انجماد کامل در فریزر ۲۰- نگه‌داری شد. پس از آن بالن به دستگاه فریز درایر متصل شد و با فرآیند فریز درآینگ عصاره خشک‌شده به‌صورت پودری به رنگ سبز مایل به قهوه‌ای در بالن باقی ماند. عصاره خشک شده به ویال‌های تمیز منتقل کرده و در آنها کاملاً بسته شد. سپس با فویل آلومینیومی پوشانده شده و تا پایان مراحل کار در فریزر ۲۰- نگهداری شد (۱۹). بازده فرآیند عصاره‌گیری ۷٪ بود.

### تهیه عصاره اتانولی به‌روش خیساندن

پودر برگ خشک شده گیاه به‌لیمو به یک ارلن ۲ لیتری منتقل شده و ۱/۲ لیتر اتانول ۹۶ درجه به آن اضافه شد. سر ارلن با پارافیلیم بسته و به‌مدت ۲۸ ساعت روی شیکر قرار داده و هم زده شد. بعد از آن عصاره سبز رنگ حاصله یک بار توسط گاز و پنبه و بار دیگر توسط کاغذ صافی معمولی صاف شد. محلول صاف شده برای اتصال به دستگاه روتاری به یک بالن ته گرد منتقل شد. استفاده از دستگاه روتاری به‌منظور حذف کامل اتانول بود. پس از حذف اتانول، بالن را به فریزر ۲۰- برای انجماد کامل منتقل کرده و سپس عصاره منجمد شده جهت فرآیند فریز درآینگ به دستگاه متصل شد؛ پودر حاصل از این فرآیند به رنگ سبز بود. عصاره حاصله را به ویال‌های تمیز منتقل کرده، پس از بستن در و پوشاندن ویال توسط فویل آلومینیومی تا پایان مراحل کار به فریزر ۲۰- منتقل شد (۱۱). بازده فرآیند عصاره‌گیری ۵/۵٪ بود.

### انجام مطالعات بر روی موش‌های ماده دارای

#### افسردگی پس از زایمان

این مطالعه شامل گروه‌های: الف: موش‌های دریافت‌کننده نرمال سالیین (کنترل منفی)، ب: موش‌های دریافت‌کننده ایمی‌پرامین با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هر روز (کنترل مثبت)، ج: موش‌های دریافت‌کننده عصاره آبی برگ گیاه به‌لیمو با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و د: موش‌های دریافت‌کننده عصاره الکلی برگ گیاه به‌لیمو با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (۲۰، ۲۱).

برای بررسی ایجاد افسردگی پس از زایمان ابتدا از دو گروه از موش‌های ماده استفاده شد. گروه اول به‌مدت ۵ روز پروژسترون با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم هر روز و گروه دوم به‌مدت ۵ روز نرمال سالیین به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در هر دو گروه پس از ۵ روز داروی دریافتی قطع شد (۲۲). ۳ روز بعد در روز هشتم هر دو گروه نرمال سالیین دریافت کردند و پس از یک ساعت آزمون‌های آویزان کردن از دم (TST)<sup>۱</sup>، آزمون

<sup>1</sup> Tail Suspension Test

شنای اجباری (FST)<sup>۱</sup> و آزمون حرکت در جعبه باز انجام شد. پس از اطمینان از ایجاد افسردگی، عصاره‌های آبی و اتانولی برگ گیاه به‌لیمو با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم و گروه کنترل مثبت ایمی پرامین با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در گروه‌های مختلف به موش‌های افسرده تزریق شده و یک ساعت بعد، به‌ترتیب آزمون‌های زیر انجام گردید:

### آزمون بارفیکس

روشی مناسب برای بررسی داروهای ضدافسردگی می‌باشد. در این روش فرض بر این است که عدم حرکت موش وقتی که یک فشار غیرقابل اجتناب به او وارد می‌شود، نشان‌دهنده یک حالت مشابه افسردگی در انسان است. داروهای ضدافسردگی مؤثر باید این دوره عدم حرکت را که بعد از فعالیت و عدم موفقیت فرار در موش آویخته شده ایجاد می‌شود را کاهش بدهند. این روش به‌صورتی انجام می‌شود که موش از ناحیه انتهایی دم به‌وسیله نوار چسب آویزان می‌شود و کل زمان‌های عدم حرکت موش طی ۵ دقیقه توسط کرنومتر ثبت می‌شود (۲۳).

### آزمون حرکت در جعبه باز

این آزمون برای بررسی وضعیت حرکتی حیوان انجام می‌شود. جعبه آزمون حرکت یک جعبه ۶۰×۶۰ سانتی‌متر می‌باشد که به‌وسیله خطوط عمود برهم به ۲۵ خانه یک اندازه تقسیم می‌شود، ارتفاع دیواره جعبه ۳۰ سانتی‌متر و دیواره‌ها کاملاً سیاه‌رنگ و کف جعبه سفید است (۲۴). برای شروع، موش را در خانه مرکزی قرار داده و به‌مدت ۵ دقیقه تعداد عبور موش از کل خانه‌ها (total locomotions) بررسی می‌شود.

### آزمون شنای اجباری

آزمون بر پایه این مشاهده استوار است که وقتی رت یا موش مجبور به شنا کردن در یک فضای محدود و غیرقابل فرار می‌شود، بعد از حرکات اولیه فرار، رفتار بی‌حرکتی ایجاد می‌کند. بی‌حرکتی یا منعکس‌کننده شکست پافشاری در رفتار فرار است (یاس رفتاری) یا منعکس‌کننده توسعه رفتار غیر فعال، که حیوان را از قید رفتارهای فعال برخوردار با محرک استرس‌زا، رها می‌سازد.

رفتار بی‌حرکتی توسط درمان‌های مؤثر در افسردگی کاهش می‌یابد. این آزمون برای موش به این صورت انجام می‌شود که موش را داخل استوانه پر آب انداخته (حدود دو سوم آن از آب پر باشد) و به‌مدت ۲ دقیقه موش به حال خود می‌ماند؛ شنا می‌کند تا به شرایط عادت کند. سپس حرکات موش را به‌مدت ۴ دقیقه زیر نظر گرفته و مجموع زمان بی‌حرکتی توسط کرنومتر ثبت می‌شود (۲۵).

پس از ثبت نتایج و داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism (نسخه ۶) انجام شد. جهت توصیف داده‌ها از شاخص میانگین ± انحراف معیار و جهت بررسی اختلاف میانگین بیش از دو گروه از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی مربوطه (توکی کرامر) استفاده شد. همچنین جهت بررسی اختلاف آماری بین دو گروه از آزمون تی دو جامعه مستقل<sup>۲</sup> استفاده شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

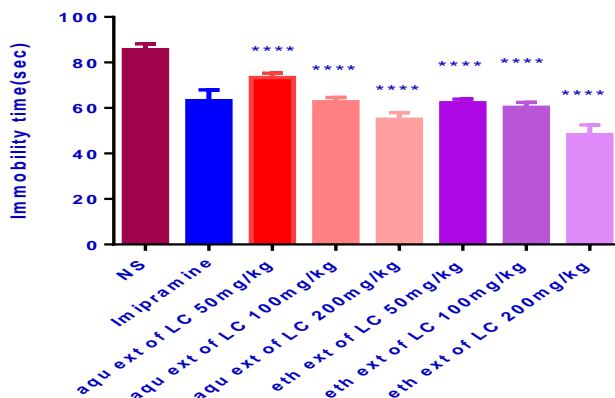
نتایج مربوط به تأثیر قطع ناگهانی پروژسترون بر روی مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون آویزان کردن دم نشان داد که در گروه دریافت‌کننده پروژسترون مدت زمان بی‌حرکتی (۸۹/۵۶±۵/۶۰ ثانیه) در موش سوری ماده در مقایسه با گروه کنترل (۶۳/۱۷±۶/۸۰ ثانیه) افزایش یافت (p<۰/۰۵). همچنین در بررسی تأثیر قطع ناگهانی پروژسترون بر روی مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری نتایج نشان داد که پروژسترون مدت زمان بی‌حرکتی (۱۲۸/۸۰±۵/۲۷ ثانیه) در موش ماده را در مقایسه با گروه کنترل (۷۲/۱۷±۴/۹۰ ثانیه) افزایش داده است (p<۰/۰۰۰۱). هیچ تفاوت معناداری در بین حرکات موش‌های دریافت‌کننده پروژسترون و گروه کنترل مشاهده نشد (p>۰/۰۵). نتایج مربوط به بررسی اثر ضدافسردگی عصاره‌های آبی و الکی برگ به‌لیمو نشان دادند که در آزمون آویزان کردن دم، با توجه به شکل ۱، عصاره آبی به‌لیمو در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره الکی به‌لیمو در هر سه

<sup>2</sup> unpaired T test

<sup>1</sup> Forced Swim Test

دریافت‌کننده ایمی‌پرامین (کنترل مثبت) هم مدت زمان بی‌حرکتی کمتری نسبت به گروه کنترل منفی داشت که از نظر آماری معنی‌دار نبود.

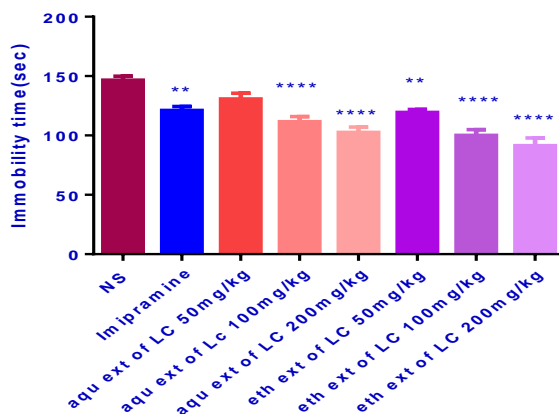
دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مدت زمان بی‌حرکتی را در موش‌های دارای افسردگی پس از زایمان نسبت به گروه کنترل کاهش داد ( $p < 0.0001$ ). گروه



شکل ۱- تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی برگ به‌لیمو بر روی مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون آویزان کردن دم. موش‌های ماده به مدت ۵ روز پروژسترون دریافت کردند، پس از ۳ روز محرومیت از پروژسترون در روز هشتم از آغاز تزریق یک ساعت پس از تجویز تک‌دوز داخل صفاقی از ماده مورد نظر آزمون آویزان کردن دم انجام شد. گروه کنترل در روز انجام آزمون نرمال سالیب دریافت کردند. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار از ۶ موش است. جهت بررسی اختلاف آماری از آزمون توکی کرامر استفاده شد.  $p < 0.0001$  در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. LC: به‌لیمو، aqu: آبی، ext: عصاره، eth: اتانولی

معنادار مدت زمان بی‌حرکتی در موش‌های دارای افسردگی پس از زایمان نسبت به گروه کنترل در آزمون شنای اجباری شدند. در عصاره آبی با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معناداری در مدت زمان بی‌حرکتی نسبت به گروه کنترل منفی ایجاد نشد ( $p > 0.05$ ).

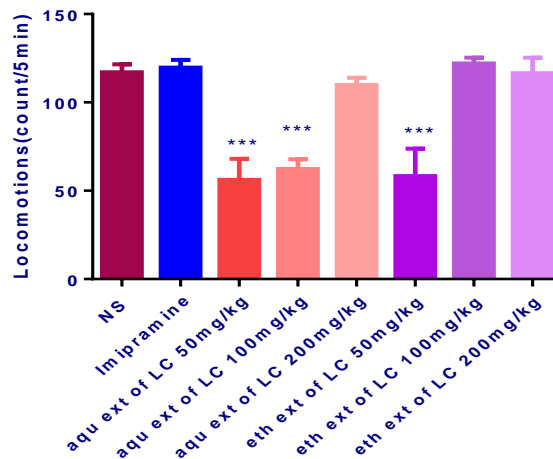
همچنین، همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، عصاره الکلی به‌لیمو در هر سه دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $p < 0.01$ )، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $p < 0.0001$ )، عصاره آبی با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ( $p < 0.0001$ ) و ایمی‌پرامین ( $p < 0.01$ ) باعث کاهش



شکل ۲- تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی برگ به‌لیمو بر روی مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری. موش‌های ماده به مدت ۵ روز پروژسترون دریافت کردند، پس از سه روز محرومیت از پروژسترون در روز هشتم از آغاز تزریق یک ساعت پس از تجویز تک‌دوز داخل صفاقی از ماده مورد نظر آزمون شنای اجباری انجام شد. گروه کنترل در روز انجام آزمون نرمال سالیب دریافت کردند. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار از ۶ موش است. جهت بررسی اختلاف آماری از آزمون توکی کرامر استفاده شد.  $p < 0.0001$  و  $p < 0.01$  در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. LC: به‌لیمو، aqu: آبی، ext: عصاره، eth: اتانولی

شدند. در سایر گروه‌ها تفاوت معناداری در تعداد کل حرکات نسبت به گروه کنترل منفی مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، عصاره آبی برگ به‌لیمو با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره الکلی با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش تعداد کل حرکات در جعبه باز ( $p < 0.001$ )



شکل ۳- تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی برگ به‌لیمو بر روی حرکات موش سوری در آزمون جعبه‌باز. موش‌های ماده به مدت ۵ روز پروژسترون دریافت کردند، پس از ۳ روز محرومیت از پروژسترون، در روز ۸ از آغاز تزریق یک ساعت پس از تجویز تک دوز داخل صفاقی از ماده مورد نظر آزمون جعبه باز انجام شد. گروه کنترل در روز انجام آزمون نرمال سالیب دریافت کردند. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار از ۶ موش است. جهت بررسی اختلاف آماری از آزمون توکی کرامر استفاده شد.  $p < 0.001$  \*\*\* در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. LC: به‌لیمو، aqu: آبی، ext: عصاره، eth: اتانولی

## بحث

افسردگی پس از زایمان، نوعی افسردگی ماژور و یکی از شایع‌ترین عوارض پس از زایمان می‌باشد که حدود ۱۵-۱۰٪ از زنان را مبتلا می‌کند. افسردگی پس از زایمان در ایران در مقایسه با سایر کشورها شیوع بیشتری دارد (۲۸/۷٪ در برابر ۱۴/۵٪). افسردگی پس از زایمان اثرات جدی روی کیفیت زندگی تمام اعضای خانواده دارد. بسیاری از داروهایی که در حال حاضر در درمان افسردگی مصرف می‌شوند، دارای اثرات جانبی هستند و به همین دلیل بسیاری درمان دارویی را نمی‌پذیرند. همچنین مادرانی که به نوزاد خود شیر می‌دهند در مقایسه با آنهایی که نوزاد خود را با شیر خود تغذیه نمی‌کنند، کمتر دارودرمانی می‌کنند که شاید علت آن نگرانی از عوارض داروها بر روی نوزاد باشد. بنابراین درمان‌های گیاهی می‌تواند در این موارد حائز اهمیت باشد (۲۷). مطالعات صورت گرفته در ارتباط با اثرات ترانوژنیک عصاره آبی به‌لیمو و وریاسکوزید نشان داده شده است که خطری برای جنین در طول دوره ارگانوژنز نداشته‌اند (۲۸، ۲۹)، از این رو گیاه به‌لیمو از جمله

افسردگی، یکی از اصلی‌ترین و شایع‌ترین مشکلات بیماری‌های روانی است که نه تنها در زندگی خود فرد، بلکه روی کل جامعه اثر می‌گذارد. افسردگی اساسی، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های تشخیص داده شده در جوامع غربی است که شیوع آن در بین زنان بین ۲۵-۱۰٪ و در مردان بین ۱۲-۵٪ است (۲۶). گیاه به‌لیمو گیاهی است که از دم کرده آن در طب سنتی به‌عنوان آرام‌بخش، استفاده می‌شده است. در مطالعه حاضر که اثر ضدافسردگی عصاره‌های آبی و الکلی برگ به‌لیمو در مدل افسردگی پس از زایمان در موش‌های سوری مورد مطالعه قرار گرفت، عصاره آبی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره الکلی با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنادار مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون‌های شنای اجباری و آویزان کردن از دم شدند، ولی تأثیری روی فعالیت حرکتی در جعبه باز نداشتند.

۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره الکلی با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش تعداد کل حرکات در جعبه باز شدند و با توجه به احتمال کاذب بودن پاسخ این دوزها در آزمون‌های آویزان کردم از دم و شنای اجباری، پاسخ‌های مربوط به دو دوز ذکر شده مؤثر در نظر گرفته نشد.

ایجاد افسردگی پس از زایمان با روش بالا مدلی است که در مطالعات از آن استفاده شده است. برای مثال: محرومیت از یک سطح بالا از پروژسترون باعث ایجاد مدل‌های افسردگی پس از زایمان یا پیش قاعدگی می‌شود. در مطالعه بکلی و همکار (۲۰۰۷)، تزریق ۵ دوز متوالی از پروژسترون به موش‌های ماده و انجام آزمون شنای اجباری در ۳ روز متوالی پس از قطع پروژسترون بر روی این موش‌ها، باعث افزایش مدت زمان بی‌حرکتی شد (۲۲). قرار گرفتن در معرض پروژسترون بالا و به‌صورت مزمن در دوران بارداری و سپس محرومیت از آن بعد از زایمان، باعث ایجاد افسردگی و اضطراب می‌شود (۳۳). در مطالعه نیک سرشت و همکاران (۲۰۱۲) به موش‌های دارای افسردگی پس از زایمان، روی، منیزیم و ویتامین B1 (تیامین) تجویز شد. تجویز خوراکی، حاد و همزمان این سه ویتامین به‌صورت قابل توجهی باعث کاهش مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری نسبت به گروه کنترل شد و همچنین موش‌ها مدت زمان بیشتری در قسمت بازوهای باز ماز بعلاوه‌ای شکل (plus maze elevated) سپری نمودند که کاهش اضطراب را نتیجه می‌دهد (۳۳).

در مطالعه حاضر از ایمی‌پرامین به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد که یک داروی ضدافسردگی سه‌حلقه‌ای است. این دارو در بدن با افزایش سطح مونوآمین‌های موجود در مغز علائم افسردگی را برطرف می‌کند. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی به‌لیمو با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره الکلی برگ به‌لیمو با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشابه ایمی‌پرامین مدت زمان بی‌حرکتی را در آزمون‌های شنای اجباری و آویزان کردن از دم کاهش داده است و به‌همین خاطر می‌توان پیش‌بینی کرد که مکانیسم اثر عصاره آبی و الکلی به‌لیمو مشابه ایمی‌پرامین از طریق اثر

گیاهانی است که به‌دلیل نداشتن عارضه سوء در دوران بارداری می‌تواند گزینه مناسبی برای استفاده در افسردگی بعد از زایمان هم باشد.

در این مطالعه، ابتدا در موش‌های ماده مدل افسردگی پس از زایمان ایجاد شد. برای این منظور ابتدا به موش‌های ماده به‌مدت ۵ روز پروژسترون به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد و پس از ۳ روز فاصله در روز هشتم آزمون‌ها انجام گرفت. با توجه به نتایج حاصله، این روش کارآمد بود و موش‌ها پس از ۸ روز دچار افسردگی شدند. در موش‌های دریافت‌کننده پروژسترون مدت زمان بی‌حرکتی در هر دو آزمون شنای اجباری و جعبه باز افزایش یافت، در صورتی که تغییری در تعداد کل حرکات در جعبه باز ایجاد نشد. برای بررسی اثر ضدافسردگی عصاره‌های آبی و الکلی برگ به‌لیمو در روز هشتم، دوزهای مختلف از این عصاره‌ها از طریق داخل صفاقی به موش‌ها تزریق و یک ساعت بعد آزمون‌های شنای اجباری، آویزان کردن از دم و جعبه باز انجام گرفت. در روش شنای اجباری، موش را در یک فضای محدود و غیرقابل فرار وادار به شنا می‌کنند. شنا در چنین فضایی رفتار مشخص بی‌حرکتی را ایجاد می‌کند. این رفتار، منعکس‌کننده حالت یأس و ناامیدی است که می‌تواند با عوامل متعددی که در درمان افسردگی در انسان مؤثرند، کاهش یابد (۳۰).

آزمون آویزان کردن از دم نیز یک آزمون رفتاری برای موش‌ها و آزمونی کارآمد و ابزاری ارزشمند با بازدهی بالا جهت غربالگری و بررسی پتانسیل داروهای ضدافسردگی می‌باشد. موش به‌وسیله یک نوار چسب از ناحیه انتهایی دم آویزان می‌شود؛ به‌گونه‌ای که نه توانایی فرار داشته باشد و نه خیلی نزدیک به سطح زیرین باشد. مدت زمانی که موش حالت سکون دارد، به‌عنوان شاخص برای رفتار افسردگی و ناامیدی ثبت می‌شود (۳۱).

در این مطالعه، برای بررسی رفتار حرکتی موش از آزمون جعبه باز استفاده شد. از آنجایی که افزایش یا کاهش در فعالیت حرکتی ممکن است سبب ایجاد پاسخ‌های احتمالی مثبت یا منفی کاذب در آزمون FST شود، این آزمون هم صورت گرفت (۳۲). در مطالعات مربوط به مدل افسردگی پس از زایمان عصاره آبی با دوزهای ۵۰ و

اتانولی اثربخشی بیشتری نسبت به عصاره آبی از خود نشان داده است، اندازه‌گیری میزان این ماده مؤثر در عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه به‌لیمو توصیه می‌گردد.

### نتیجه‌گیری

عصاره‌های آبی و الکلی برگ به‌لیمو دارای اثر ضدافسردگی پس از زایمان هستند. عصاره الکلی برگ به‌لیمو اثربخشی بیشتری روی کاهش مدت زمان بی‌حرکتی نشان داد که احتمالاً به‌دلیل بیشتر بودن میزان ورباسکوزید در این عصاره می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به‌خاطر تأمین امکانات لازم برای انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

بر سطح مونوآمین‌ها می‌باشد. همچنین با توجه به نتایج مطالعات مشابه که اثربخشی ترکیبات آنتی‌اکسیدان برگ به‌لیمو را در ایجاد اثرات خواب‌آوری و آرام‌بخشی مورد تأیید قرار داده‌اند (۲۱)، به‌نظر می‌رسد که اثرات ضدافسردگی عصاره‌های آبی و الکلی برگ به‌لیمو هم مربوط به ماده مؤثره ورباسکوزید، اصلی‌ترین و فراوان‌ترین فنیل پروپانئید گیاه می‌باشد (۸). نتایج آزمون‌های انجام شده نماینگر این است که عصاره الکلی برگ به‌لیمو اثربخشی بیشتری روی کاهش مدت زمان بی‌حرکتی دارد و انتظار می‌رود غلظت ماده مؤثره ورباسکوزید در عصاره الکلی برگ گیاه به‌لیمو بیشتر باشد. در این تحقیق برای اولین بار تأثیر عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه به‌لیمو بر روی افسردگی بعد از زایمان بررسی شد. با توجه به این که ورباسکوزید از اجزای مؤثر فعال این عصاره‌ها می‌باشد و با توجه به اینکه عصاره

### منابع

1. Arcangelo WP, Poterson AM. *Pharmacotherapeutics for advanced practice. A Practical Approach*. New York: Lippincott; 2001.
2. Tannous L, Gigante LP, Fuchs SC, Busnelo ED. Postnatal depression in Southern Brazil: prevalence and demographic and socioeconomic determinants. *BMC psychiatry* 2008; 8(1):1-8.
3. McCoy SJ, Beal JM, Shipman SB, Payton ME, Watson GH. Risk factors for postpartum depression: a retrospective investigation at 4-weeks postnatal and a review of the literature. *Journal of Osteopathic Medicine* 2006; 106(4):193-8.
4. Quirantes-Piné R, Herranz-López M, Funes L, Borrás-Linares I, Micol V, Segura-Carretero A, et al. Phenylpropanoids and their metabolites are the major compounds responsible for blood-cell protection against oxidative stress after administration of *Lippia citriodora* in rats. *Phytomedicine* 2013; 20(12):1112-8.
5. Yousefzadeh N, Meshkatsadat MH. Quantitative and qualitative study of bioactive compounds of essential oils of plant *Lippia citriodora* by use of GC-MS technique. *Journal of Novel Applied Sciences* 2013; 2(2S):964-8.
6. Valentao P, Fernandes E, Carvalho F, Andrade PB, Seabra RM, de Lourdes Bastos M. Studies on the antioxidant activity of *Lippia citriodora* infusion: scavenging effect on superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 2002; 25(10):1324-7.
7. Pascual ME, Slowing K, Carretero E, Mata DS, Villar A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *Journal of ethnopharmacology* 2001; 76(3):201-14.
8. Sheng GQ, Zhang JR, Pu XP, Ma J, Li CL. Protective effect of verbascoside on 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced neurotoxicity in PC12 cells. *European journal of pharmacology* 2002; 451(2):119-24.
9. Sanchez PM, Villarreal ML, Herrera-Ruiz M, Zamilpa A, Jiménez-Ferrer E, Trejo-Tapia G. In vivo anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities of extracts from wild growing and in vitro plants of *Castilleja tenuiflora* Benth. (Orobanchaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 2013; 150(3):1032-7.
10. Honarmand MM, Arzi A, Aghal N, Goodarzi S. Anti-nociceptive effect of hydroalcoholic extract of *Lippia citriodora* kunth in rat using formalin test. *Toxicology Letters* 2011; 205:9.
11. Amin B, Noorani R, Razavi BM, Hosseinzadeh H. The effect of ethanolic extract of *Lippia citriodora* on rats with chronic constriction injury of neuropathic pain. *Cell Journal (Yakhteh)* 2018; 19(4):528-36.
12. Amin B, Poureshagh E, Hosseinzadeh H. The effect of verbascoside in neuropathic pain induced by chronic constriction injury in rats. *Phytotherapy Research* 2016; 30(1):128-35.
13. Lenoir L, Rossary A, Joubert-Zakeyh J, Vergnaud-Gauduchon J, Farges MC, Fraisse D, et al. Lemon verbena infusion consumption attenuates oxidative stress in dextran sulfate sodium-induced colitis in the rat. *Digestive diseases and sciences* 2011; 56(12):3534-45.
14. Sartoratto A, Machado AL, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MC, Rehder VL. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 2004; 35:275-80.





15. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews* 1999; 12(4):564-82.
16. Bazzaz BS, Khameneh B, Ostad MR, Hosseinzadeh H. In vitro evaluation of antibacterial activity of verbascoside, lemon verbena extract and caffeine in combination with gentamicin against drug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* clinical isolates. *Avicenna journal of phytomedicine* 2018; 8(3):246-53.
17. Etemad L, Oskouei Shirvan Z, Vahdati-Mashhadian N, Adel Moallem S, Zafari R, Hosseinzadeh H. Acute, subacute, and cell toxicity of the aqueous extract of *Lippia citriodora*. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 2016; 11(3).
18. Etemad L, Zafari R, Vahdati-Mashhadian N, Adel Moallem S, Shirvan ZO, Hosseinzadeh H. Acute, sub-acute and cell toxicity of verbascoside. *Research Journal of Medicinal Plant* 2015; 9(7):354-60.
19. Portmann E, Nigro MM, Reides CG, Llesuy S, Ricco RA, Wagner ML, et al. Aqueous extracts of *Lippia turbinata* and *Aloysia citriodora* (Verbenaceae): assessment of antioxidant capacity and DNA damage. *International journal of toxicology* 2012; 31(2):192-202.
20. Hassani FV, Naseri V, Razavi BM, Mehri S, Abnous K, Hosseinzadeh H. Antidepressant effects of crocin and its effects on transcript and protein levels of CREB, BDNF, and VGF in rat hippocampus. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 2014; 22(1):1-9.
21. Razavi BM, Zargarani N, Hosseinzadeh H. Anti-anxiety and hypnotic effects of ethanolic and aqueous extracts of *Lippia citriodora* leaves and verbascoside in mice. *Avicenna journal of phytomedicine* 2017; 7(4):353-65.
22. Beckley EH, Finn DA. Inhibition of progesterone metabolism mimics the effect of progesterone withdrawal on forced swim test immobility. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2007; 87(4):412-9.
23. 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.
24. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural brain research* 2002; 134(1-2):49-57.
25. Cryan JF, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends in pharmacological sciences* 2002; 23(5):238-45.
26. Sylvén SM. Biological and Psychosocial Aspects of Postpartum Depression (Doctoral dissertation, Acta Universitatis Upsaliensis); 2012.
27. Weier KM, Beal MW. Complementary therapies as adjuncts in the treatment of postpartum depression. *Journal of midwifery & women's health* 2004; 49(2):96-104.
28. Etemad L, Zafari R, Moallem SA, Vahdati-Mashhadian N, Shirvan ZS, Hosseinzadeh H. Teratogenic effect of verbascoside, main constituent of *Lippia citriodora* leaves, in mice. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR* 2016; 15(2):521-5.
29. Shirvan ZO, Etemad L, Zafari R, Moallem SA, Vahdati-Mashhadian N, Hosseinzadeh H. Teratogenic effect of *Lippia citriodora* leaves aqueous extract in mice. *Avicenna journal of phytomedicine* 2016; 6(2):175.
30. Vogel HG, Vogel WH. Drug discovery and evaluation. Berlin Heidelberg 1997: 302-7.
31. Can A, Dao DT, Terrillion CE, Piantadosi SC, Bhat S, Gould TD. The tail suspension test. *Journal of visualized experiments: JoVE* 2012;(59).
32. Boyko M, Kutz R, Grinshpun J, Zvenigorodsky V, Gruenbaum SE, Gruenbaum BF, et al. Establishment of an animal model of depression contagion. *Behavioural brain research* 2015; 281:358-63.
33. Nikseresht S, Etebary S, Karimian M, Nabavizadeh F, Zarrindast MR, Sadeghipour HR. Acute administration of Zn, Mg, and thiamine improves postpartum depression conditions in mice. *Archives of Iranian medicine* 2012; 15(5):306-11.