

مقاله پژوهشی

بررسی ترکیبات شیمیایی و اثرات اسانس بومادران *Achillea wilhelmsii* L. بر سطح آنتی اکسیدانی و مالون دی آلدئید سرم و مغز موش سوری رزپینه شده

زهرا لری گوئینی، زهرا ربیعی، بتول فرهادی، الهام بیجا، الهه آزمون، محمود رفیعان کوپائی*

مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد

پذیرش: ۲۹ شهریور ۹۶

دریافت: ۱ آبان ۹۵

چکیده

زمینه و هدف: گیاه بومادران دارای خواص آنتی اکسیدانی است و در طب سنتی برای افسردگی توصیه شده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس اندام هوایی گیاه بومادران با نام علمی *Achillea wilhelmsii* L. و اثر ضدافسردگی آن در موش‌های سوری نر به روش آزمون شنای اجباری و معلق ماندن دم بوده است.

روش‌ها: در این مطالعه، ۶۰ موش سوری در ۶ گروه ۱۰ تایی شامل گروه شاهد نرمال سالین، گروه شاهد منفی رزپین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه شاهد مثبت رزپین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و ۱۸ ساعت بعد آمی‌تریپتیلین (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه مداخله رزپین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) و ۱۸ ساعت بعد اسانس گیاه (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بررسی شدند. جهت سنجش افسردگی از آزمون شنای اجباری و معلق ماندن دم استفاده شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات شیمیایی اسانس، محتوای آنتی اکسیدانی و میزان مالون دی آلدئید سرم و مغز نیز تعیین شد.

یافته‌ها: تزریق رزپین سبب افزایش معنی‌دار زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری و معلق ماندن دم شد. تزریق اسانس گیاه در غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و آمی‌تریپتیلین مدت زمان بی‌حرکتی را کاهش دادند. تزریق رزپین و آمی‌تریپتیلین سبب افزایش معنی‌دار مالون دی آلدئید مغز و سرم و کاهش معنی‌دار ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم و مغز شد. اسانس گیاه ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز و سرم را افزایش و میزان مالون دی آلدئید را کاهش داد. قدرت آنتی اکسیدانی اسانس برابر ۲/۳۳ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد. ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس به ترتیب: کربزانتنون (۱۴/۳۱٪)، کامفر (۱۳/۹۵٪)، ۸-۱ سینئول (۱۰/۰۱٪) و ترانس پینوکاروئول (۹/۵۰٪) بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به قدرت آنتی اکسیدانی اسانس بومادران در کاهش میزان مالون دی آلدئید سرم و مغز به نظر می‌رسد گیاه بومادران با کاهش استرس اکسیداتیو علائم افسردگی در موش را کاهش داده که احتمالاً به دلیل ترکیبات فعال ترپنی موجود در اسانس می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس بومادران، افسردگی، ترکیبات شیمیایی

مقدمه

به افسردگی برای همه افراد جامعه وجود دارد [۱]. درمان‌های دارویی افسردگی علاوه بر همکاری ضعیف بیماران، عوارض جانبی مختلف دارند. همچنین درمان‌های غیردارویی مانند روان‌درمانی وقت‌گیر و پرهزینه بوده که بسیاری از بیماران امکان استفاده از آن را ندارند. با توجه به گرایش مردم به استفاده از داروهای گیاهی و کم‌عارضه بودن آن‌ها، می‌توان گیاهان دارویی را به‌عنوان یک مکمل درمانی برای بهبود نتایج

افسردگی یک بیماری روانی بسیار شایع در سراسر جهان می‌باشد که شیوع آن در حال افزایش است. امکان ابتلا

rafieian@yahoo.com

http://ijpp.phypha.ir

ijpp@phypha.ir

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

پست الکترونیکی:

داروئی استفاده کرد [۱،۲].

بومادران یا *Achillea wilhelmsii* دارای نام محلی گل برنجاسف است و تاکنون ۸۵ گونه از جنس *Achillea* شناسایی شده است که ۷ گونه آن منحصراً در ایران یافت می‌شود. گونه‌های بومی گیاه بومادران با پراکندگی نسبتاً وسیعی در استان‌های مختلف کشورمان به صورت خودرو می‌رویند. گیاه *Achillea wilhelmsii* سرشار از فلاونوئیدها، سزکویی ترپن لاکتون و مونوترپنوئیدها (monoterpenoids) می‌باشد که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند [۳]. اثرات بیولوژیکی متعددی نظیر آنتی‌اسپاسمودیک، آنتی‌اکسیدان، آنتی‌هایپرلیپیدمی، ضد فشارخون و ضد میکروبی از این گیاه گزارش شده‌است [۴-۶]. در مطالعه‌ای ترکیبات عمده موجود در اسانس برگ کامفر (Camphor) (۱/۲۴٪)، ۱-۸-سینئول (1,8-Cineole) (۳/۲۲٪) و بورنتول (Borneol) (۱/۱۱٪) و در اسانس گل گیاه کامفر (Camphor) (۲/۲۱٪)، میرنتول (Myrtenol) (۴/۱۴٪) و میرتنیل استات (Myrtenyl acetate) (۹/۸٪) گزارش گردیده است [۷]. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه و توصیه آن در طب سنتی ایران در افسردگی و از آنجایی که تاکنون اثرات دارویی اسانس گیاه بر افسردگی مورد بررسی قرار نگرفته بود، این تحقیق با هدف بررسی ترکیبات شیمیایی و اثر ضدافسردگی اسانس گیاه بومادران با استفاده از مدل حیوانی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه و اسانس گیری

سرشاخه‌های گل‌دار گیاه بومادران در فصل بهار جمع‌آوری و بعد از تایید گیاه‌شناس با شماره هرباریومی ۱۸۶ در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد ثبت شد. تهیه اسانس به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت انجام شد [۸].

تعیین ترکیبات شیمیایی اسانس به روش

گروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی (GC/MS)

بعد از تزریق اسانس به دستگاه GC/MS، کروماتوگرام حاصله و طیف‌های جرمی ترکیبات مختلف به کمک بانک

اطلاعات جرمی، زمان بازداری (Rt) و مقایسه با طیف‌های جرمی استاندارد و استفاده از منابع معتبر و اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS تحلیل گردید [۹].

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس به روش دی

فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)

ابتدا غلظت‌های مختلف از اسانس تهیه، سپس دو سی‌سی از DPPH ۰/۱ میلی‌مول به هر یک از غلظت‌های مختلف اسانس اضافه و بعد از ۱۵ دقیقه جذب نمونه‌ها توسط اسپکتروفوتومتر (Shimadzu USA) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. غلظتی که در آن ۵۰٪ DPPH خنثی شده به عنوان IC₅₀ به صورت میلی گرم اسانس بر میلی لیتر گزارش شد [۱۰].

حیوانات آزمایشگاهی

۶۰ موش سوری نر بالغ در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۵ گرم انتخاب شدند. حیوانات در شرایط دمایی مناسب 21 ± 2 درجه سانتی گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت خاموشی با دسترسی آزاد به آب و غذای یکسان نگهداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. موش‌های گروه شاهد نرمال سالین و یک قطره اسید استیک (۱ میلی‌لیتر/کیلوگرم) را دریافت کردند. گروه شاهد منفی رزپین (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) و ۱۸ ساعت قبل از تست‌های رفتاری دریافت کردند. گروه شاهد مثبت که رزپین (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) دریافت و ۱۸ ساعت بعد آمی‌تریپتیلین (۲ میلی‌گرم/کیلوگرم) را دریافت کردند. گروه‌های مداخله که که رزپین (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) [۱۱] دریافت و ۱۸ ساعت بعد به ترتیب اسانس بومادران (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) دریافت کردند. کلیه تزریق‌ها بصورت تزریق داخل صفاقی و تک دوز انجام گردید. آزمون‌های اجباری یکساعت بعد از تزریق‌ها انجام شد. تست‌های بیوشیمیایی بعد از بیهوشی و خونگیری انجام گردید [۱۱]. تمامی مراحل کار با حیوانات مطابق با دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شد.

آزمون‌های اجباری

این آزمون از معتبرترین و رایج‌ترین آزمون‌های حیوانی

اضافه شد و ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. سپس جذب نوری در طول موج ۵۹۳ ثبت شد [۱۲].

اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) مغز

۱ گرم از بافت مغز در کلرید پتاسیم ۲/۵ درصد سرد با نسبت ۱۰٪ (وزنی-حجمی) هموژنیزه شد و بعد از ۱ ساعت انکوباسیون در دمای 37 ± 1 درجه، ۱ میلی‌لیتر تتراکلرواستیک اسید ۵٪ و ۱ میلی‌لیتر از TBA ۶۷٪ به آن اضافه شد. بعد از مخلوط کردن و سانتریفیوژ، محلول رویی در لوله دیگری در حمام آب جوش ۱۰ دقیقه قرار گرفت و در نهایت جذب هر بخش در ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۲].

اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدهید سرم

۰/۵ گرم تیوباریتوریک اسید (TBA) با ۸۰ میلی‌لیتر اسیداستیک ۲۰٪ مخلوط و pH آن در حد ۳/۵ تنظیم شد. حجم این محلول با اسید استیک ۲۰٪ به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه سرم با ۱۰۰ میکرو لیتر محلول SDS (Sodium dodecyl sulfate) ۸/۱٪ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول کار مخلوط و ۱ ساعت در بن ماری آب جوش قرارگرفته، سپس در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ شدند. جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۲۳ نانومتر ثبت شد [۱۲].

آنالیز آماری

اطلاعات حاصل به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ آنالیز شد، ابتدا نرمال بودن داده‌ها بررسی شد. جهت تعیین اختلاف معنی داری بین تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey استفاده گردید. در تمام محاسبات $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ترکیبات شیمیایی اسانس بومادران

طیف کروماتوگرام اسانس بومادران در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس این طیف ترکیبات شناسایی شده از اسانس گیاه در جدول ۱ گزارش شده است. ۵۸ ترکیب در اسانس بومادران شناسایی شده است که ۹۷/۳۶٪ از کل ترکیبات اسانس را

برای افسردگی می‌باشد. برای اندازه‌گیری مدت زمان بی‌حرکتی مجموعه زمان‌هایی که جانور بی حرکت می ماند را طی یک دوره زمانی مشخص ثبت می نمایند و افزایش آن به معنای افسردگی و کاهش آن به معنای اثربخشی ماده مورد بررسی می باشد. کل آزمایش شنای اجباری ۷ دقیقه است که ۲ دقیقه نخست جهت تطابق حیوان و ۵ دقیقه بعدی برای اندازه‌گیری زمان بی‌حرکتی در نظر گرفته می‌شود. در مطالعه حاضر رزیرین ۱۸ ساعت قبل از آزمون شنای اجباری به حیوانات تزریق شد تا در این مدت پایانه‌های عصبی آمینوژیک را از آمین‌ها تخلیه کند [۱۱].

آزمون معلق ماندن دم

در آزمون معلق ماندن دم که برای سنجش سطوح افسردگی به کار می‌رود، از پایه‌های فلزی به ارتفاع ۷۰ سانتی‌متر استفاده می‌شود و بین دو پایه فلزی یک ریسمان ۵۰ سانتی‌متری در امتداد طولی کشیده می‌شود. دم موش‌ها توسط یک بند بسته شده و حیوان از دم آویخته می‌شود. سپس آزمون با یک حرکت شدید موش آغاز می‌شود. زمانی که حیوان کاملاً بی‌حرکت، غیرفعال و بدون عکس العمل باشد به عنوان مدت زمان بی‌حرکتی در نظر گرفته می‌شود. کل زمان معلق بودن دم ۶ دقیقه است که ۲ دقیقه اول جهت تطابق حیوان با محیط در نظر گرفته می‌شود و در ۴ دقیقه بعد مدت زمان بی‌حرکتی توسط کورنومتر و بر حسب ثانیه ثبت می‌گردد [۱۱].

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز به روش FRAP

از سه محلول به شماره های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب شامل بافر (۱/۵۵) میلی‌لیتر استات سدیم و ۸ میلی‌لیتر اسید استیک غلیظ که با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده شدند، محلول کلرید آهن (۲۷۰ میلی‌گرم $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) که با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و محلول تری آذین (۴۷ میلی‌گرم triazine-۱،۲،۴ که در ۴۰ میلی‌لیتر HCl ۴۰ میلی‌مولار حل شد) استفاده شد. محلول کار با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر محلول شماره ۱، ۱ میلی‌لیتر محلول شماره ۲ و ۱ میلی‌لیتر محلول شماره ۳ تهیه شد. برای نمونه سرم ۲۵ میکرولیتر و برای نمونه مغز هموژنه ۱/۵ میلی‌لیتر محلول کار

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی شناسایی شده از اسانس یومادران توسط دستگاه GC/MS

شماره	زمان بازداری	درصد	نام ترکیب
۱	۳/۲	۰/۰۵۷۳	Isoamyl acetate
۲	۳/۲۲	۰/۰۹۹۶	2-Methylbutyl acetate
۳	۳/۹	۰/۳۲۹۶	Tricyclene
۴	۴/۰.۸	۷/۲۸۱۴	α -Pinene
۵	۴/۳۴	۲/۷۷۴۹	Camphene
۶	۴/۷۵	۱/۸۶۲۸	Sabinene
۷	۴/۸۳	۱/۱۱۲۳	β -Pinene
۸	۵/۵	۰/۱۴۸۸	2-Methylbutyl isobutyrate
۹	۵/۷۵	۴/۷۱۸	p-Cymene
۱۰	۵/۹۱	۱/۰۱۶۶	1,8-Cineole
۱۱	۶/۲۴	۱/۵۶۹۳	Mentha-3,8-diene<para->
۱۲	۷/۱۸	۰/۶۰۸۷	Unknown
۱۳	۷/۴۴	۱/۸۶۷۷	Linalool
۱۴	۷/۵۴	۰/۱۰۸۴	filifolone
۱۵	۷/۶۸	۰/۰۴۱۷	Unknown
۱۶	۸/۰۹	۱۴/۳۱۸۷	chrysanthenone
۱۷	۸/۴۸	۹/۵۰۸۱	Pinocarveol<trans->
۱۸	۸/۶	۱۳/۹۵	Camphor
۱۹	۸/۶۵	۱/۱۶	Menth-3-en-8-ol<para->
۲۰	۸/۸۳	۰/۸۴۰۴	Unknown
۲۱	۸/۹۶	۰/۰۲۵۷	cis-chrysanthemol
۲۲	۹/۱۴	۶/۰۱۵۷	Borneol
۲۳	۹/۳۱	ناچیز	Isopinocampheol
۲۴	۹/۳۸	۰/۰۳۶۷	4-Terpineol
۲۵	۹/۶۱	۰/۰۱۱۵	p-Cymen-8-ol
۲۶	۹/۷۳	۴/۰۲۵۹	α -Terpineol
۲۷	۹/۸۵	۰/۱۴۰۳	cis-Piperitol
۲۸	۹/۹۱	ناچیز	Myrtenol
۲۹	۱۰/۱۷	۷/۵۴۵۴	trans-Piperitol
۳۰	۱۰/۴۸	۰/۱۶۱۹	Carveol<trans->
۳۱	۱۰/۸۲	۰/۱۸۹۴	Carveol<cis->
۳۲	۱۱	ناچیز	Pulegone
۳۳	۱۱/۴۹	۰/۶۹۸۱	Chrysanthenyl acetate<cis->
۳۴	۱۱/۸۱	۰/۸۲۸۳	Isopiperitenone
۳۵	۱۲/۰۴	۰/۲۰۴۷	Necrodol acetate<trans-alpha->
۳۶	۱۲/۱	۰/۰۲۵۸	Bornyl acetate
۳۷	۱۲/۴۴	۰/۵۱۱۸	Thymol
۳۸	۱۲/۷	۰/۱۵۸۸	Carvacrol
۳۹	۱۳/۴۳	۰/۴۴۰۷	Carvyl acetate<trans->
۴۰	۱۳/۶۴	۰/۰۵۰۵	piperitenone
۴۱	۱۴/۰۶	۰/۰۱۲۴	Carvyl acetate<cis->
۴۲	۱۴/۳۱	۰/۲۳۵۴	Carvacrol acetate
۴۳	۱۴/۹۴	ناچیز	Verbenone
۴۴	۱۵/۵۱	۰/۵۷۲۳	trans-Caryophyllene
۴۵	۱۵/۶	۰/۳۷۱۱	Unknown

شماره	زمان بازداری	درصد	نام ترکیب
۴۶	۱۷/۰۲	۰/۳۳۹۱	Germacrene D
۴۷	۱۷/۴	۰/۳۵۸۱	Bicyclogermacrene
۴۸	۱۷/۴۸	۰/۶۰۳۵	Mintfuranone
۴۹	۱۷/۷۸	ناچیز	Sesquicineole
۵۰	۱۸/۹۴	۰/۳۳۸۳	Nerolidol<E->
۵۱	۱۹/۲۷	۰/۲۷۵۹	Unknown
۵۲	۱۹/۳۴	۰/۱۸۱۶	Spathulenol
۵۳	۱۹/۴۴	۱/۱۶۰۷	Caryophyllene oxide
۵۴	۲۰/۷	۰/۱۴۹۸	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alpha-ol
۵۵	۲۰/۷۵	۰/۲۸۱۲	α -Cadinol
۵۶	۲۰/۹۸	۰/۴۳۹۳	β -Eudesmol
۵۷	۲۵/۱۷	۰/۳۹۹۱	Unknown
۵۸	۳۳/۳۵	۰/۰۶۳۲	Tridecane
۵۹	۳۴/۹۹	۰/۰۳۸۹	n-alkane
۶۰	۳۶/۵۶	۰/۱۲۳۳	n-alkane
۶۱	۳۷/۳۸	ناچیز	Bis(2-ethylhexyl) phthalate
۶۲	۳۸/۰۸	ناچیز	n-alkane

تشکیل می‌دهند. ترکیبات عمده تشکیل‌دهنده‌ی اسانس به ترتیب کریزنثونن chrysanthenone (۱۴/۳۱٪)، کامفور (۱۳/۹۵٪)، ۸-۱۰ سینوئل ۱۰/۰۱٪ و پینوکاروئول ترانس Pinocarveol trans (۹/۵۰٪) بودند.

قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس بومادران

اسانس بومادران فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکال‌های DPPH نشان داد و غلظتی از اسانس که ۵۰٪ رادیکال‌های DPPH (IC₅₀) را مهار نمود ۲/۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

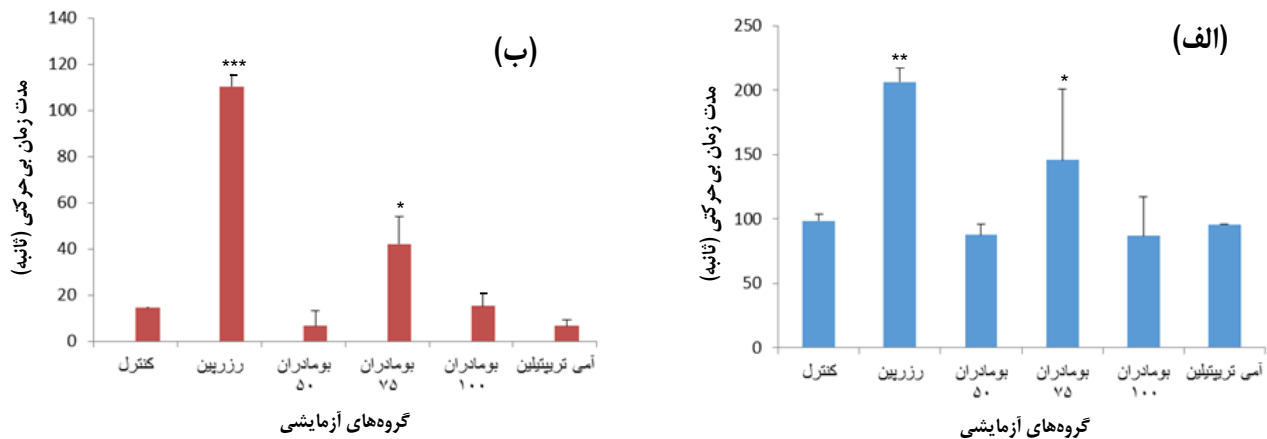
اثر اسانس بومادران بر زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری و آزمون معلق ماندن دم

طبق نمودار ۱ (الف) تزریق درون صفاقی آمی‌تریپتیلین و اسانس بومادران در غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، مدت‌زمان بی‌حرکتی را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده رزپین کاهش داد ($p < ۰/۰۵$). تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل، دریافت‌کننده آمی‌تریپتیلین و اسانس با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نظر مدت‌زمان بی‌حرکتی وجود نداشت ($p > ۰/۰۵$). تزریق اسانس با غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان بی‌حرکتی را نسبت به گروه رزپین کاهش و نسبت به گروه کنترل افزایش داد.

($p < ۰/۰۵$). با توجه به نمودار ۱ (ب) تزریق رزپین در تست معلق ماندن دم، مدت‌زمان بی‌حرکتی را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش داد ($p < ۰/۰۵$). تزریق درون صفاقی آمی‌تریپتیلین و اسانس بومادران دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در آزمون معلق ماندن دم مدت‌زمان بی‌حرکتی (نمودار ۱ب) را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده رزپین کاهش داد ($p < ۰/۰۵$). تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل، دریافت‌کننده آمی‌تریپتیلین و اسانس با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نظر مدت‌زمان بی‌حرکتی وجود نداشت. تزریق اسانس با غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان بی‌حرکتی را نسبت به گروه کنترل افزایش داد ($p < ۰/۰۵$).

اثر اسانس بومادران بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان مالون دی‌آلدهید سرم و مغز

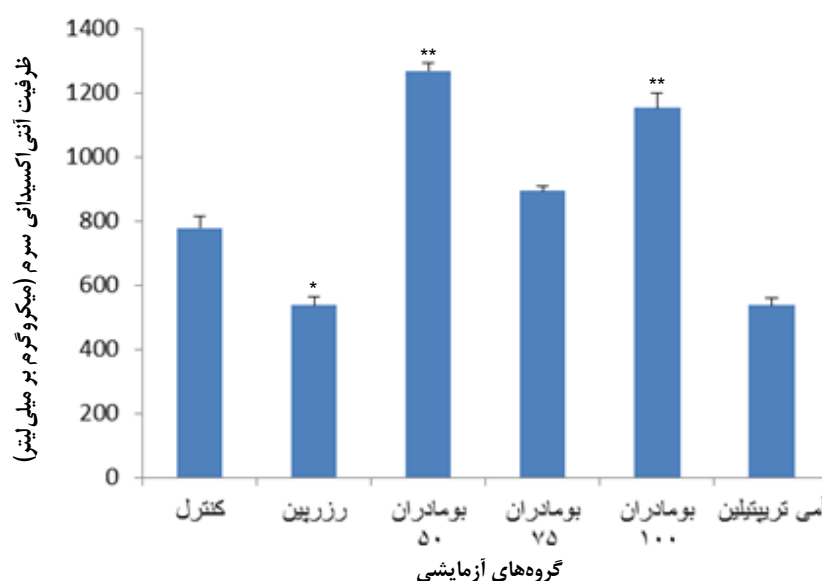
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم (نمودار ۲) و مغز (نمودار ۳) در موش‌های دریافت‌کننده رزپین به‌طور معنی‌داری کمتر از کنترل بود ($p < ۰/۰۵$). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز در موش‌های دریافت‌کننده اسانس ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه رزپین بود ($p < ۰/۰۵$). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز در موش‌های



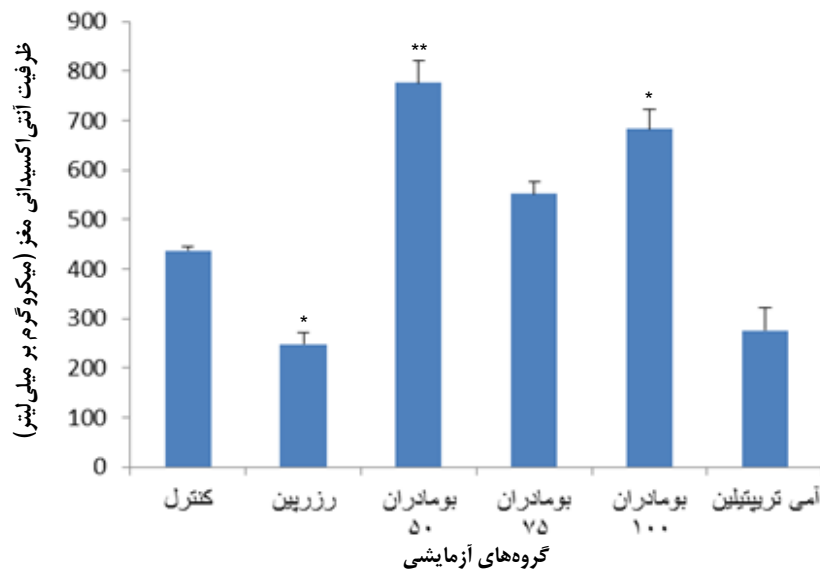
نمودار ۱- تأثیر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف اسانس گیاه بومادران بر مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری (الف) و در آزمون معلق ماندن دم (ب). *: اختلاف معنی‌دار با $p < 0.05$; **: اختلاف معنی‌دار با $p < 0.01$; ***: اختلاف معنی‌دار با $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل.

دریافت‌کننده آمی‌تریپتیلین تفاوت معنی‌داری با گروه رزپین نداشت. گروه دریافت‌کننده اسانس با دوز ۵۰ و ۱۰۰ باهم تفاوت معنی‌داری از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز نداشتند اما ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز این گروه‌ها در مقایسه با گروه‌های کنترل، رزپین، آمی‌تریپتیلین و اسانس با غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش‌یافته بود ($p < 0.05$). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز گروه‌های کنترل و مغز گروه‌های دریافت‌کننده رزپین به‌طور معنی‌داری بیشتر از کنترل بود ($p < 0.05$). سطح مالون دی‌آلدهید سرم و مغز (نمودارهای ۴ و ۵) در موش‌های دریافت‌کننده اسانس با دوز ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم

دریافت‌کننده آمی‌تریپتیلین تفاوت معنی‌داری با گروه رزپین نداشت. گروه دریافت‌کننده اسانس با دوز ۵۰ و ۱۰۰ باهم تفاوت معنی‌داری از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز نداشتند اما ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز این گروه‌ها در مقایسه با گروه‌های کنترل، رزپین، آمی‌تریپتیلین و اسانس با غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش‌یافته بود ($p < 0.05$). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم در موش‌های دریافت‌کننده اسانس با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت، ولی در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده رزپین و آمی‌تریپتیلین افزایش و نسبت به گروه‌های اسانس



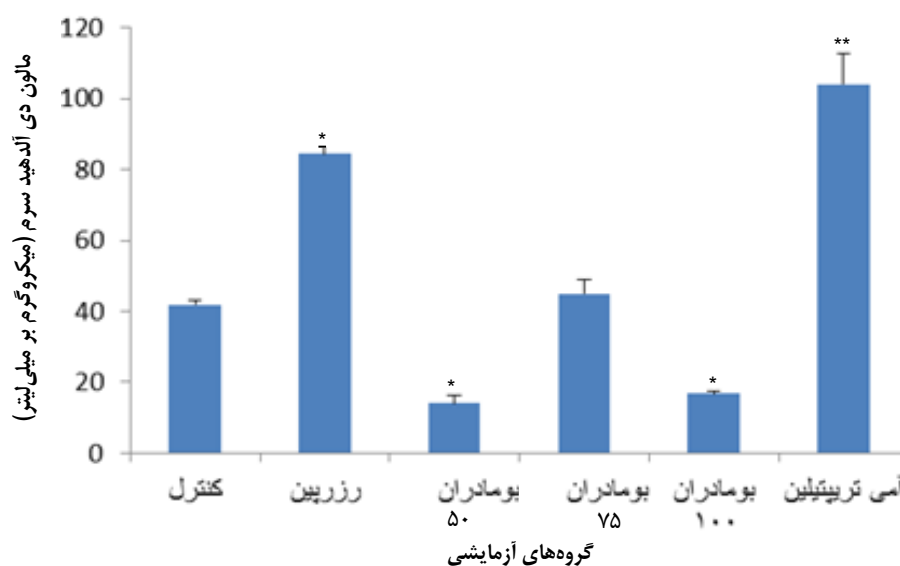
نمودار ۲- تأثیر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف اسانس گیاه بومادران بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم. *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$.



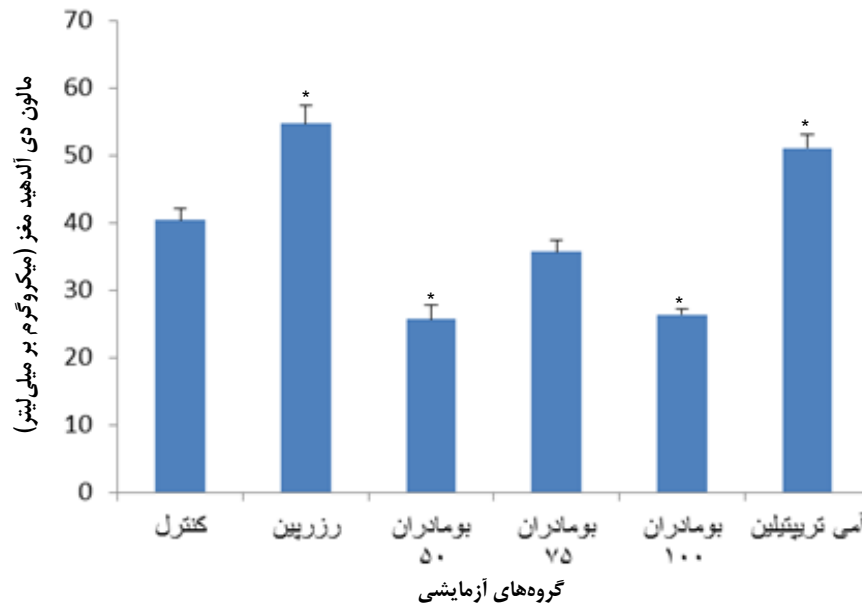
نمودار ۳- تأثیر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف اسانس گیاه بومادران بر ظرفیت آنزیم اکسیدانی مغز. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل.

در موش‌های دریافت‌کننده اسانس با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت ولی در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده رزپین و آمی‌تریپتیلین کاهش و نسبت به گروه‌های اسانس با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته بود ($p < 0.05$). سطح مالون دی‌آلدهید سرم و مغز گروه دریافت‌کننده آمی‌تریپتیلین نسبت به گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده اسانس به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته بود ($p < 0.05$).

بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه رزپین بود ($p < 0.05$). سطح مالون دی‌آلدهید سرم و مغز در موش‌های دریافت‌کننده آمی‌تریپتیلین تفاوت معنی‌داری با گروه رزپین نداشت. گروه دریافت‌کننده اسانس با دوز ۵۰ و ۱۰۰ باهم تفاوت معنی‌داری از نظر سطح مالون دی‌آلدهید سرم و مغز نداشتند اما سطح مالون دی‌آلدهید سرم و مغز این گروه‌ها در مقایسه با گروه‌های کنترل، رزپین، آمی‌تریپتیلین و اسانس با غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش‌یافته بود ($p < 0.05$). سطح مالون دی‌آلدهید سرم و مغز



نمودار ۴- تأثیر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف اسانس گیاه بومادران بر میزان مالون دی‌آلدهید سرم. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل.



نمودار ۵- تأثیر تزریق درون صفاقی دوزهای مختلف اسانس گیاه بومادران بر میزان مالون دی آلدئید مغز. *: $p < 0.05$ ، در مقایسه با گروه کنترل.

بحث

با توجه به نتایج آزمون شنای اجباری و تست معلق ماندن دم در تحقیق حاضر، تزریق رزپین به موش‌های سوری سبب القاء رفتارهای افسردگی شده و به‌طور معنی‌داری مدت‌زمان بی‌حرکتی را در این دو آزمون نسبت به گروه کنترل افزایش داد که با مطالعات پیشین صورت گرفته در ارتباط با اثرات القای افسردگی رزپین هم‌راستا است و همگی دلیل ایجاد مدل افسردگی حاصل از رزپین می‌باشد [۱۱]. عمده علائم افسردگی ماژور در اثر کاهش عملکرد ناقل‌های عصبی مونوآمین شامل دوپامین، سروتونین و نوراپی نفرین در مغز ایجاد می‌شود. رزپین با تخلیه ناقل‌های مونوآمین مانند سروتونین و نوراپی نفرین در پایانه‌های عصبی سبب ایجاد حالت افسردگی می‌گردد. مکانیسم‌های دیگری همانند افزایش سطوح فاکتورهای التهابی و پارامترهای استرس اکسیداتیو و نیتراتیو نیز در ایجاد افسردگی توسط رزپین دخیل می‌باشند [۱۳]. در مطالعه حاضر تزریق آمی‌تریپتیلین به موش‌های دریافت‌کننده رزپین مدت‌زمان بی‌حرکتی را به‌طور معنی‌دار کاهش داد. عمل اصلی داروهای این گروه در مغز مهار باز جذب سروتونین و نوراپی نفرین با بلوک نمودن عملکرد انتقال‌دهنده‌های سروتونین و نوراپی نفرین است [۲]. درجات مختلفی از آسیب اکسیداتیو و کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در افراد مبتلا به افسردگی ماژور گزارش شده

است و استرس اکسیداتیو یکی دیگر از مکانیسم‌های مرتبط با افسردگی است. مهم‌ترین گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شامل یون‌های سوپر اکسید، هیدروژن پراکسید و هیپوکلریک اسید می‌باشند. افزایش رادیکال‌های آزاد باعث افزایش تولید MDA می‌شود. به‌طور معمول سطح MDA به‌عنوان یک مارکر از استرس اکسیداتیو و وضعیت آنتی‌اکسیدانی است [۱۴]. نتایج نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدان‌ها جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری افسردگی دارند. ازجمله منابع بالقوه برای آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توان به گیاهان به‌ویژه گیاه بومادران اشاره کرد. نتایج قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس بومادران در این مطالعه پتانسیل بالقوه آنتی‌اکسیدانی این گیاه را نشان داد. اسانس‌های گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن مواد آنتی‌اکسیدانی مختلف قادر هستند از استرس‌های اکسیداتیو و پیامدهای منفی آن جلوگیری کنند [۱۵]. همچنین نتایج ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و سطح MDA سرم و مغز در مدل حیوانی به‌کاررفته در مطالعه حاضر نیز نشان از توانایی آنتی‌اکسیدانی گیاه در جaro کردن رادیکال‌های آزاد در سطح سرم و مغز می‌باشد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در هر سه دوز نسبت به گروه رزپین افزایش یافت و دارای اختلاف معنی‌دار با این گروه بود. با توجه به این که MDA یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع در سلول است و به‌طور معمول سطح MDA به‌عنوان یک مارکر از استرس

مربوط باشد. ترپن ها بر روی رسپتورها و نوروترانسمیترها عمل می کنند. آن ها به عنوان مهارکننده بازجذب سرتونین عمل می کنند. فعالیت نور اپی نفرین و دوپامین را افزایش می دهند [۱۵].

نتیجه گیری

اثر ضدافسردگی گیاه بومادران در مدل حیوانی از مواد موثره موجود در گیاه که موجب تغییر در نوروترانسمیترها میشود و اثر آنتی اکسیدانی گیاه ناشی می شود. جهت تعیین مکانیسم دقیق اثر ضدافسردگی بومادران مطالعات بیشتری می بایست انجام شود.

سپاسگزاری

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بدلیل حمایت مالی از این تحقیق تشکر به عمل می آید.

ملاحظات مالی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد (شماره طرح ۲۱۷۲) انجام شده است.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارد.

سهم نویسندگان

ز.ل.گ: انجام مطالعه؛ ز.ر: نگارش مقاله؛ ب.ف: انجام مطالعه؛ ۱.ب: انجام مطالعه؛ ۱.آ: انجام مطالعه؛ م.ر.ک: ایده، طراحی و نظارت بر حسن انجام مطالعه.

فهرست منابع

[1] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV [Internet]. 4th ed. Washington DC: American

اکسیداتیو و وضعیت آنتی اکسیدانی است نتایج این مطالعه نیز نشان داد که میزان MDA سرم و مغز در گروه های دریافت کننده اسانس به طور معنی داری نسبت به گروه رزربین کاهش یافته بود که مرتبط با قدرت آنتی اکسیدانی بالای گیاه است. از نتایج غیر منتظره این تحقیق اثر کمتر دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس نسبت به دوز ۵۰ بود. دلیل این مسئله مشخص نیست. تکرار قسمتی از کار و اخذ نتایج مشابه قبل، احتمال اشتباه را کم کرد ولی کمک زیادی به کشف دلایل آن نکرد. آنتی اکسیدان ها در شرایط خاصی ممکن است بصورت پرواکسیدان عمل کرده و خود باعث تشدید استرس اکسیداتیو شوند [۱۶]. اینکه چقدر این احتمال در اینجا قابل تعمیم است نیاز به تحقیقات بیشتر دارد.

اگرچه استرس اکسیداتیو باعث افسردگی و آنتی اکسیدان ها باعث کاهش افسردگی می شوند ولی عدم تغییر ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم و مغز در موش های دریافت کننده آمی ترپیتیلین خود نشان دهنده این حقیقت است که عوامل دیگر نیز در تاثیر این دارو و احتمالاً گیاه بومادران موثر است. البته سطح مالون دی آلدئید سرم و مغز گروه دریافت کننده آمی ترپیتیلین نسبت به گروه های کنترل و دریافت کننده اسانس به طور معنی داری افزایش یافته بود و در مطالعات قبلی سطح لیپید پراکسیداسیون نیز افزایش یافته بود که بیان کننده افزایش استرس اکسیداتیو است [۱۳].

بر اساس نتایج این پژوه ترکیبات عمده تشکیل دهنده ی اسانس به روش GC/MS تعیین گردید. در تحقیق آزاد بخت و همکاران کامفر (۲۴/۱٪)، ۱، ۸-سینئول (۲۲/۳٪) و بورنئول (۱۱/۱٪) ترکیبات عمده موجود در اسانس برگ، و کامفر (۲۱/۲٪)، میرتنول (۱۴/۴٪) و میرتنیل استات (۸/۹٪) ترکیبات عمده موجود در اسانس گل گیاه را تشکیل می دادند [۷]. اختلاف ترکیبات شیمیایی اسانس در بین نتایج این مطالعه و گزارش های سایر مقالات می تواند به شرایط جغرافیایی متفاوت رویش گیاه ناشی از تفاوت در فصل برداشت، شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی رویش و قسمت های مختلف گیاه

Psychiatric Association, 1994: 866. [cited 2010 Mar 8]. p. Available from: <http://www.psychiatryonline.com/DSMPDF/dsm-iv.pdf>

[2] Murphy JM, Sobol AM, Neff RK, Olivier DC, Leighton AH, Stability of prevalence: depression and anxiety disorders. *Arch Gen Psychiatry* 41 (1984) 990-997.

- [3] Asgary S, Naderi G, Sarrafzadegan N, Mohammadifard N, Mostafavi S, Vakili R, Antihypertensive and antihyperlipidemic effects of *Achillea wilhelmsii*. **Drugs Exp Clin Res** 26 (2000) 89-94.
- [4] Yaeesh S, Jamal Q, Khan Au, Gilani AH, Studies on hepatoprotective, antispasmodic and calcium antagonist activities of the aqueous-methanol extract of *Achillea millefolium*. **Phytother Res** 20 (2006) 546-551.
- [5] Niazmand S, Khooshnood E, Derakhshan M, Effects of *Achillea wilhelmsii* on rat's gastric acid output at basal, vagotomized, and vagal-stimulated conditions. **Pharmacogn Mag** 6 (2010) 282-285.
- [6] Fathi H, Lashtoo Aghae B, Ebrahimzadeh M, Antioxidant activity and phenolic contents of *Achillea wilhelmsii*. **Pharmacology Online** 2 (2011) 942-949.
- [7] Azadbakht M, Morteza-Semnani K, Khansari N, The essential oils composition of *Achillea wilhelmsii* C, Koch leaves and flowers. **J Med plants** 2 (2003) 55-58.
- [8] Lorigooini Z, Samani BH, Zareiforoush H, Optimization of the Efficiency of electromagnetic waves dryer power on chemical composition and yield of *Satureja bachtiarica* essential oil using response surface methodology. **J ESSENT OIL BEAR PL** 20 (2017) 1-11.
- [9] Adams RP, Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed., Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007: 804.
- [10] Moein M, Ghasemi Y, Moein S, Nejati M, Analysis of antimicrobial, antifungal and antioxidant activities of *Juniperus excelsa* M. B subsp. Polycarpos (K. Koch) Takhtajan essential oil. **Pharmacognosy Res** 2 (2010) 128-131.
- [11] Zarrindast M, Minaian A, Different effects of direct and indirect dopamine receptor agonists on immobility time in reserpine-treated mice. **Gen Pharmacol** 22 (1991) 1017-1021.
- [12] Prior RL, Cao G, In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radic Biol Med** 27 (1999) 1173-1181.
- [13] Machado DG, Bettio LE, Cunha MP, Capra JC, Dalmarco JB, Pizzolatti MG, Rodrigues ALS, Antidepressant-like effect of the extract of *Rosmarinus officinalis* in mice: involvement of the monoaminergic system. **Prog in Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry** 33 (2009) 642-645.
- [14] Baynes JW, Thorpe SR, Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. **Diabetes** 48 (1999) 1-9.
- [15] Setzer WN, Essential oils and anxiolytic aromatherapy. **Nat Prod Commun** 4 (2009) 1305-1316.
- [16] Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M, Oxidative stress and the paradoxical effects of antioxidants. **J Res Med Sci** 18 (2013) 628.

Research paper

Investigation of chemical compounds and effects of *Achilea wilhelmsii* L essential oil on antioxidant and malondialdehyde levels of serum and brains of reserpined mice

Zahra Lori-Gooini, Zahra Rabiei, Batoul Farhadi¹, Elham Bijad, Elaheh Azomon, Mahmoud Rafieian-Kopaei*

Medical Plants Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Received: 22 October 2016

Accepted: 20 September 2017

Abstract

Background and aim: *Achillea wilhelmsii* has antioxidant properties and it has been recommended in traditional medicine for depression. The objective of this study was to investigate the chemical compounds of essential oils of aerial part of *A. wilhelmsii* with and its antidepressant effects in male mice using forced swim and tail suspension tests.

Methods: In this study, 60 mice were examined in 6 groups (n = 10), including normal saline as control group, reserpine (5 mg/kg, i.p.) as negative control group, reserpine (5 mg/kg, i.p.) and amitriptyline 18 hours thereafter (2 mg/kg) as positive control group, reserpine (5 mg/kg, i.p.) and essential oil (50, 75 or 100 mg/kg, i.p.) 18 hours thereafter as the intervention group. Forced swim and tail suspension tests were used to measure depression in mice. Antioxidant capacity and chemical composition of the essential oil, as well as antioxidant and malondialdehyde (MDA) content in serum and brain of mice were determined.

Results: Reserpine injection significantly increased the time of immobility in the forced swim and tail suspension tests. Essential oil (50, 75 and 100 mg/kg) and amitriptyline reduced the immobility time. Reserpine and amitriptyline significantly increased serum and brain malondialdehyde (MDA) level, and decreased antioxidant capacity of serum and brain. Essential oil increased antioxidant capacity of serum and brain and reduced malondialdehyde level. Antioxidant power of essential oil was determined 2.32 mg/ml. The major compounds of essential oil were chrysanthemone (14.31%), camphor (13.95%), 1-8 cineole (10.01%), and trans-pinocarveol (9.50%).

Conclusion: Due to the antioxidant power of *A. wilhelmsii* essential oil in reducing serum and brain malondialdehyde, it seems that the this plant decreased depression symptoms in mice by reducing oxidative stress that it is probably due to terpene bioactive compounds in the essential oil.

Keywords: *Achillea wilhelmsii*, Chemical composition, Depression, essential oil

Please cite this article as follows:

Lori-Gooini Z, Rabiei Z, Farhadi B, Bijad E, Azomon E, Rafieian-Kopaei M, Investigation of chemical compounds and effects of *Achillea wilhelmsii* L essential oil on antioxidant and malondialdehyde levels of serum and brains of reserpined mice. *Iran J Physiol Pharmacol* 2 (2018) 166-176.

*Corresponding author e-mail: rafieian@yahoo.com
Available online at: <http://ijpp.phypha.ir>
E-mail: ijpp@phypha.ir