

## مقاله پژوهشی

## بررسی اثر ضدافسردگی عصاره هیدروالکلی زرشک در مدل موشی افسردگی

رضا صدیقی<sup>۱</sup>، قادرنجفی<sup>۱\*</sup>، سعید عباسی ملکی<sup>۲،۴</sup>

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران
۲. مرکز تحقیقات دارویی، مؤسسه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳. گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

پذیرش: ۴ دی ۱۴۰۳

دریافت: ۳۰ مرداد ۱۴۰۳

## چکیده

**زمینه و هدف:** زرشک دارای اثرات ضد درد، ضد التهاب، آنتی‌اکسیدان و کاهش‌دهنده علائم سندرم محوریت مورفین می‌باشد. با این پیشینه، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ضدافسردگی عصاره هیدروالکلی زرشک در آزمون شنای اجباری و آزمون معلق ماندن دم می‌باشد.

**روش‌ها:** ۸۴ سر موش سوری نر آلبینو (۶ موش در هر گروه) به شکل داخل صفاقی نرمال سالین، فلوکستین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ایمی پرامین (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی زرشک (۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را دریافت نموده و سپس تحت آزمون‌های شنای اجباری و معلق ماندن دم قرار گرفتند. از آزمون جعبه باز نیز جهت بررسی فعالیت حرکتی موش‌ها استفاده شد.

**یافته‌ها:** تمام دوزهای عصاره زرشک (به جز دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) سبب کاهش مدت زمان بی‌حرکتی در هر دو آزمون شنای اجباری و معلق ماندن دم می‌شوند ( $p < 0/001$ ). علاوه بر این عصاره هیدروالکلی زرشک باعث افزایش مدت زمان شنا کردن ( $p < 0/001$ ) بدون تغییر معنی‌دار در زمان صعود کردن در آزمون شنای اجباری گردید ( $p > 0/05$ ). فعالیت حرکتی موش‌ها (تعداد عبور از مربع و روی دوپایستادن) در آزمون جعبه باز تغییر معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** باتوجه به اثرات ضدافسردگی زرشک در هر دو مدل موشی، اثرات ضدافسردگی آن همچون داروهای سروتونرژیک (مثل فلوکستین) می‌باشد. باین‌حال، تعیین مکانیسم دقیق اثر آن نیازمند مطالعات بیشتر و گسترده‌تری می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آزمون شنای اجباری، استرس اکسیداتیو، زرشک، ضدافسردگی

## مقدمه

این داروهای ضد افسردگی معمول سبب چندین اثر نامطلوب شده که منجر به قطع زود هنگام آنها شده است [۲]. بنابراین نیاز فوری به تحقیقات جدید تر و موثرتر برای درمان افسردگی وجود دارد. ترکیبات طبیعی (مثل گیاهان دارویی) می‌توانند سبب کاهش علائم بیماری‌های مختلف از جمله افسردگی شده و از اینرو نظر جوامع علمی و حتی صنعت داروسازی را به خود جلب کرده است [۳].

مطالعات قبلی بر این باورند که اغلب داروهای ضدافسردگی با افزایش مقدار مونوآمین‌های مغزی (مثل سروتونین، دوپامین و یا نورآدرنالین) سبب بهبود افسردگی و کاهش علائم آن می‌شوند ولی گذشته از این، التهاب و آنتی‌اکسیدان‌ها و عوامل

امروزه اختلال افسردگی اساسی در سراسر جهان حدود ۵۰ درصد افزایش یافته است بطوریکه این اختلال همراه با بیماری ایسکمیک قلب یکی از سه بیماری مزمن پیش‌بینی شده تا سال ۲۰۳۰ می‌باشد [۱]. البته افراد مبتلا به کووید ۱۹ نیز حدوداً ۵۵ درصد دچار اختلالات روانی شده و در این بین ۳۰ درصد به افسردگی مبتلا می‌شوند. روش‌های دارویی معمول‌ترین درمان برای افسردگی بوده و در این بین در بیشتر بیماران از مهارکننده‌های بازجذب سروتونین به عنوان داروی خط اول درمان استفاده می‌شود. با این حال، حدود ۵۰ درصد بیماران افسرده به درمان‌های خط اول پاسخ نداده و برای رسیدن به بهبودی به داروهای خط دوم نیاز دارند. گذشته از

## مواد و روش‌ها

### تهیه عصاره هیدروالکلی زرشک

ابتدا میوه زرشک تازه از شرکت سلامت کده دیار زاگرس (کرمانشاه، ایران) خریداری و پس از بررسی مشخصات ظاهری و تایید گیاه‌شناس در هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی (کرج، ایران) برای مراحل بعدی استفاده شد. بعد زرشک موردنظر در محیط کم‌نور و بدون تابش مستقیم آفتاب کاملاً خشک گردید. بعد میوه خشک شده توسط آسیاب برقی پودر گردید. سپس، ۲۰۰ گرم از پودر حاصله به دستگاه پرکولاتر شرکت فناوریان بایامد (تهران، ایران) ریخته شده و بروی آن اتانول ۷۰ درصد شرکت نصر (خرم آباد، ایران) اضافه شد. بعد ۴۸ ساعت شیر پرکولاتور باز شده و عصاره مایع قطره‌قطره آزاد شد. جهت خروج کامل حلال عصاره حاصله به مدت ۲۴ ساعت در داخل دستگاه آون وین طب (تهران، ایران) در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. بعد عصاره غلیظ حاصل تا زمان استفاده در یخچال قرار داده شد.

### حیوانات آزمایشگاهی

در این بررسی تجربی از موش‌های سوری نر بالغ نژاد NMRI با محدوده وزنی ۲۰ الی ۳۰ گرم استفاده گردید. حیوانات از حیوان‌خانه دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (ارومیه، ایران) تهیه شده و در شرایط استاندارد آزمایشگاهی از جمله دوره روشنائی و تاریکی ۱۲ ساعته، دمای  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۵ درصد نگهداری شدند. موش‌ها به‌غیر از زمان آزمون دسترسی آزادانه به آب و پلت آماده (رشد دانه، کرج) داشتند. در مطالعه حاضر، اصول برخورد با حیوانات آزمایشگاهی دقیقاً بر اساس رهنمون‌های کمیته اخلاق در زیست‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه (IR.IAU.URMIA.REC.1401.014) رعایت گردیدند.

### داروها

در این مطالعه، فلوکستین از شرکت داروسازی آریا (تهران، ایران) و ایمی‌پرامین از شرکت داروسازی سبحان دارو (تهران، ایران) به شکل پودری تهیه شدند. در این بررسی تزریق داروها و عصاره زرشک به شکل داخل صفاقی و در حجم مشخص ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به موش‌ها انجام گرفت. جهت حل‌نمودن داروها و عصاره نیز از

دیگری نیز در پاتوفیزیولوژی افسردگی نقش دارند [۴-۶]. در همین راستا مشخص نموده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها دارای اثر ضدافسردگی هستند [۷]. به عبارتی عدم تعادل بین استرس اکسیداتیو (OS)<sup>۱</sup> و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی ممکن است با ایجاد اختلالات عصبی روانپزشکی مانند افسردگی مرتبط باشد. در همین راستا، طرفی میزان آنزیم‌های سرم یا پلاسما در افراد افسره کاهش یافته و در حال حاضر افسردگی با کاهش وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل و با یک مسیر استرس اکسیداتیو فعال در ارتباط می‌باشد. داروهای ضدافسردگی معمول (مثل فلوکستین) ممکن است به جز تنظیم مونوآمین‌ها مغزی با افزایش سطوح آنتی‌اکسیدانی و عادی‌سازی آسیب ناشی از فرآیندهای آن سبب بهبود افسردگی شده و ممکن است استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها یکی از رهیافت‌های جدید برای درمان اختلالات روانپزشکی (مثل افسردگی) باشد [۶].

زرشک با نام علمی *Berberis vulgaris* از تیره زرشکیان هست. درختچه‌ای تیغ‌دار به طول ۱ تا ۵ متر است. چوب آن به رنگ قرمز، قهوه‌ای یا زرد است. برگ‌های آن بیضی‌شکل با دندانه‌های اره‌ای و میوه‌اش قرمزرنج بیضوی شکل و ترش‌مزه است. نشان داده‌اند که در ساختمان میوه زرشک ترکیبات مختلفی همچون آلکالوئیدها، تانن‌ها، کارتنوئیدها، پروتئین‌ها، آنتروسیانین‌ها و ترکیبات فنولی یافت می‌شود [۷]. مطالعات اثر ضد درد و ضدالتهاب زرشک و از طرفی نقش سیستم اوبیویدرژیک را در مکانیسم اثر آن را گزارش نموده‌اند [۸]. علاوه بر این مطالعات اثرات سودمند عصاره زرشک را بر بیان ترجیح مکان شرطی مورفین را گزارش نموده‌اند [۹]. مطالعه دیگری نیز اثر آنتی‌اکسیدان زرشک را مشخص نموده‌اند [۱۰]. گذشته از این‌ها، مطالعه دیگری نیز اثر ضد افسردگی بربرین (یکی از آلکالوئیدهای موجود در زرشک) را گزارش نموده‌اند [۱۱]. با این وجود، هنوز مطالعه مدونی در خصوص اثرات ضدافسردگی عصاره هیدروالکلی این گیاه صورت نگرفته است. بنابراین، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ضدافسردگی عصاره هیدروالکلی زرشک در آزمون شنای اجباری و آزمون معلق ماندن دم به‌عنوان دو الگوی حیوانی افسردگی در موش سوری نر می‌باشد.

<sup>1</sup> Oxidative stress

تعداد عبور موش‌ها از هر مربع<sup>۳</sup> و تعداد ایستادن بر روی پاها<sup>۴</sup> ثبت گردیدند. مدت‌زمان این آزمون نیز ۵ دقیقه بوده که ۱ دقیقه آن را جهت تطابق حیوان به محیط در نظر گرفته و در ۴ دقیقه بعدی رفتارهای حیوان توسط شمارشگر یا کانتر (KTRIO، ساخت آمریکا) بصورت دستی و با مشاهده مستقیم ثبت شدند [۱۴].

### گروه‌بندی و طراحی تجربی

در این مطالعه، در مجموع ۸۴ سر موش به طور کاملاً تصادفی به ۱۴ گروه ۶تایی و به قرار زیر تقسیم شدند:

### بخش آزمون شنای اجباری

گروه کنترل منفی: نرمال سالین را با دوز ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم دریافت نمود. گروه کنترل مثبت: فلوکستین و ایمی‌پرامین را به ترتیب را با دوز ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند. گروه تحت درمان با دوزهای مختلف عصاره هیدروالکی زرشک: دوزهای مختلف عصاره اتانولی زرشک یعنی ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را دریافت نمودند. در هر گروه ۳۰ دقیقه بعد تزریق دارو یا عصاره، موش‌ها تحت آزمون شنای اجباری قرار گرفتند.

### بخش آزمون معلق ماندن دم

گروه کنترل منفی: نرمال سالین را با دوز ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم دریافت نمود. گروه کنترل مثبت: فلوکستین و ایمی‌پرامین را به ترتیب را با دوز ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند. گروه تحت درمان با دوزهای مختلف عصاره هیدروالکی زرشک: دوزهای مختلف عصاره اتانولی زرشک یعنی ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را دریافت نمودند. در هر گروه ۳۰ دقیقه بعد تزریق دارو یا عصاره، موش‌ها تحت آزمون شنای اجباری قرار گرفتند.

### بخش آزمون جعبه باز

در این بخش، جهت صرفه‌جویی در تعداد حیوان مصرفی، موش‌های بخش آزمون شنای اجباری، ۵ دقیقه قبل از تست شنای اجباری تحت آزمون جعبه باز قرار گرفتند. البته در آزمون

سالین ۰/۹ درصد شرکت داروسازی قاضی (تبریز، ایران) استفاده گردید.

### آزمون شنای اجباری

در این آزمون، موش بعد دریافت دارو یا عصاره، به‌طور جداگانه در بشر ۵ لیتری به مختصات (۸ × ۱۲ × ۲۵) که حاوی آب با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد بود، انداخته شدند. در این آزمون قطع حرکات دست و پا (به‌عنوان مدت زمان بی‌حرکتی)، حرکات دورانی موش در دور استوانه (به‌عنوان مدت زمان شناکردن) و بالارفتن از دیواره‌های بشر (به‌عنوان مدت صعودکردن) ثبت گردید. در آزمون شنای اجباری کاهش مدت زمان بی‌حرکتی یا افزایش مدت زمان شناکردن یا صعودکردن به‌عنوان اثر ضدافسردگی در نظر گرفته می‌شود. کل آزمون ۶ دقیقه بوده که ۲ دقیقه اول را برای تطابق حیوان به محیط در نظر گرفته و در ۴ دقیقه پایانی رفتارهای مذکور توسط کرنومتر (کاسیو، ژاپن) بر حسب ثانیه و توسط فردی که هیچ آگهی به گروه‌ها نداشت ثبت شدند [۱۲].

### آزمون معلق ماندن دم

در این آزمون حیوان از پایه‌های فلزی به ارتفاع ۷۰ سانتی‌متر معلق گردید بطوریکه بدین منظور بین دو پایه فلزی ریسمانی ۵۰ سانتی‌متری در امتداد طولی کشیده شد. دم موش توسط یک بند بسته شده تثبیت گردید. بدنبال آن موش که از دم آویخته شده بود و قتیکه کاملاً بی‌حرکت، غیرفعال و بدون عکس‌العمل می‌شد، مدت زمان بی‌حرکتی با کرنومتر (کاسیو، ژاپن) بر حسب ثانیه ثبت شد. این آزمون نیز مثل آزمون شنای اجباری ۶ دقیقه بوده که ۲ دقیقه اول را برای تطابق حیوان به محیط در نظر گرفته و در ۴ دقیقه بعد مدت زمان بی‌حرکتی ثبت شد [۱۳].

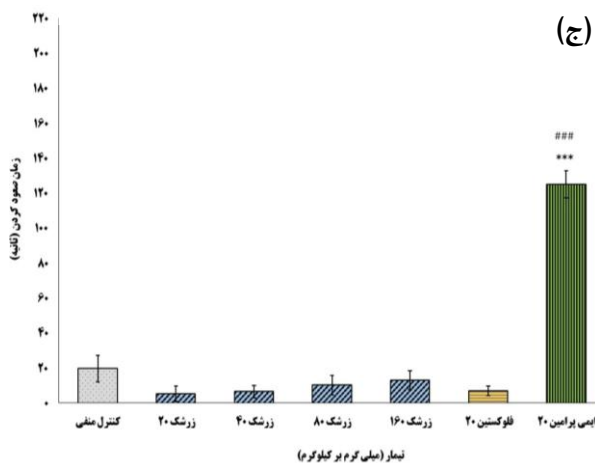
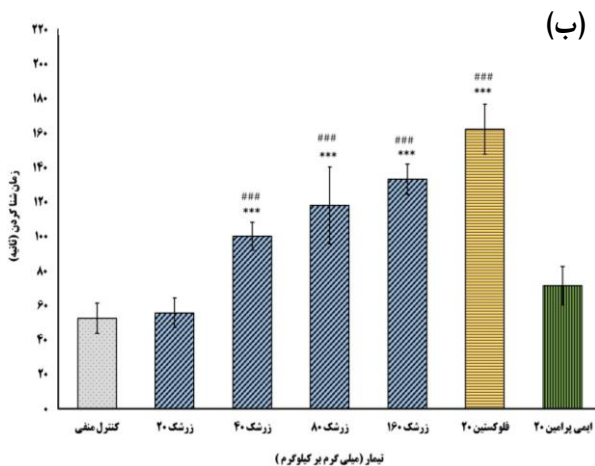
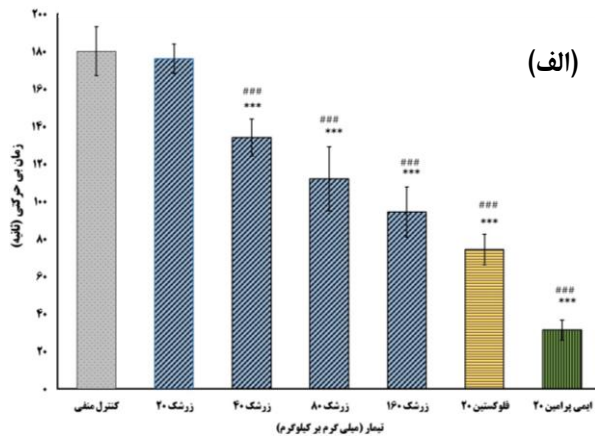
### آزمون جعبه باز

جهت بررسی اثرات عصاره بر فعالیت حرکتی<sup>۲</sup> موش‌ها همچون گشتن و راه‌رفتن؛ حیوانات به‌طور تکی در جعبه‌ای با مختصات (۶۰ × ۵۰ × ۴۰ سانتی‌متر) و از جنس پلکسی‌گلاس و ساخت شرکت برج صنعت (تهران، ایران) قرار داده شدند. بعد

<sup>3</sup> Number of crossing

<sup>4</sup> Number of rearing

<sup>2</sup> Locomotion



**نمودار ۱-** تاثیر عصاره هیدروالکلی میوه زرشک در آزمون شنای اجباری. الف: مدت زمان بی‌حرکتی، ب: مدت زمان شنا کردن، ج: مدت زمان صعود کردن. \*\*\*: اختلاف معنی دار با  $p < 0/001$  در مقایسه با گروه کنترل (۶ سر موش در هر گروه). ++: اختلاف معنی دار با  $p < 0/001$  در مقایسه با گروه زرشک ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم. نتایج به شکل میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد میانگین بیان شده است.

شنای اجباری و آزمون معلق ماندن از موش های جداگانه‌ای استفاده شد. در مطالعه حاضر اساس انتخاب دوز داروها [۱۵] و عصاره زرشک [۱۶] دقیقاً بر اساس مطالعات دیگران بود.

### تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه، نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین برای ۶ سر موش در هر گروه بیان گردید. برای آنالیز داده‌ها از واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست تکمیلی توکی استفاده شد. از برنامه گراف پد پریسم نسخه ۹ جهت تجزیه، تحلیل و ترسیم نمودارها استفاده شد. در این مطالعه سطح معنی داری نیز  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

#### اثر ضدافسردگی عصاره هیدروالکلی زرشک در آزمون شنای اجباری

باتوجه به نمودار ۱ دوزهای ۴۰ تا ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی زرشک در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری باعث کاهش مدت زمان بی‌حرکتی (نمودار الف) و افزایش مدت زمان شنا کردن (نمودار ب) می‌شوند ( $p < 0/001$ ). البته این دوزها تاثیر معنی‌داری بر افزایش مدت زمان صعود کردن (نمودار ج) از خود نشان ندادند ( $p > 0/05$ ). نتایج ما مشخص نمود که فلوکستین نیز همچون دوزهای مختلف عصاره باعث کاهش مدت زمان بی‌حرکتی و افزایش مدت زمان شنا کردن شده ( $p < 0/001$ ) ولی تاثیر معنی‌داری بر روی مدت زمان صعود کردن نداشت ( $p > 0/05$ ). ولی فلوکستین قوی‌تر از هر سه دوز عصاره سبب کاهش مدت زمان بی‌حرکتی و افزایش مدت زمان شنا کردن گردید ( $p < 0/001$ ). نتایج همچنین نشان داد که ایمی‌پرامین نیز باعث کاهش مدت زمان بی‌حرکتی شده ولی برعکس فلوکستین و دوزهای مختلف عصاره سبب افزایش مدت زمان صعود کردن شده ( $p < 0/001$ ) ولی تاثیر معنی‌داری بر روی مدت زمان شنا کردن نداشت ( $p > 0/05$ ). البته ایمی‌پرامین نیز قوی‌تر از هر سه دوز عصاره باعث کاهش مدت زمان بی‌حرکتی و افزایش مدت زمان صعود کردن گردید ( $p < 0/001$ ).

## بحث

در مطالعه حاضر، اثر ضدافسردگی این عصاره در مدل‌های موشی افسردگی (آزمون شنای اجباری، آزمون معلق ماندن دم و آزمون جعبه باز) مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج بخش آزمون شنای اجباری مشخص نمود که دوزهای ۴۰ تا ۱۶۰ میلی گرم عصاره هیدروالکلی زرشک در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش مدت زمان بی‌حرکتی می‌شوند [۱۷، ۱۵]. البته همین دوزها مدت زمان شنا کردن را در آزمون شنای اجباری به صورت معنی‌داری افزایش داده ولی هیچکدام از دوزهای عصاره سبب افزایش معنی‌داری در مدت زمان صعودکردن نشدند. دقیقاً مشابه عصاره هیدروالکلی زرشک، فلوکستین نیز به طور معنی‌داری رفتار بی‌حرکتی را کاهش داده و رفتار شناکردن را افزایش داده ولی بر روی رفتار صعودکردن تغییر معنی‌داری نشان نداد. این یافته با نتایج دیگران کاملاً همخوانی دارد [۱۷]. از طرفی، موافق با یافته‌های دیگران نتایج نشان داد که ایمپرامین به شکل معنی‌داری سبب کاهش مدت زمان بی‌حرکتی و افزایش مدت زمان صعودکردن می‌شود. ولی ایمپرامین مدت زمان شناکردن را به طور معنی‌داری افزایش نداد [۱۷].

نتایج ما همچنین نشان داد که هر سه دوز عصاره باعث کاهش مدت‌زمان بی‌حرکتی در آزمون معلق ماندن دم می‌شوند. فلوکستین و ایمپرامین نیز سبب کاهش مدت‌زمان بی‌حرکتی گردید. امروزه آزمون شنای اجباری و آزمون معلق ماندن دم از معتبرترین و رایج‌ترین مدل‌های حیوانی جهت بررسی اثرات ضدافسردگی حاد داروها و ترکیبات گیاهی مختلف در موش‌های آزمایشگاهی هست. مهم‌ترین مزیت هر دو آزمون ساده بودن و عدم نیاز به ابزار خاص بوده؛ ولی مهم‌ترین عیب آزمون شنا اجباری در مقایسه با آزمون معلق ماندن دم این تست استرس ناشی از آن اشاره نمود [۱۳، ۱۲].

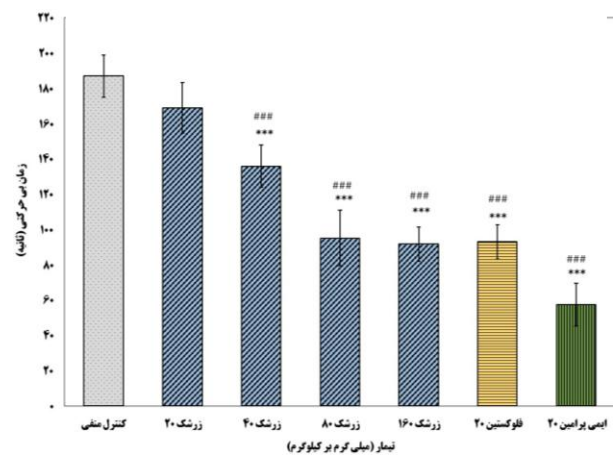
آزمون زمینه باز نیز به عنوان یک مدل تکمیلی استفاده می‌شود. به عبارتی این آزمون نشان‌دهنده فعالیت حرکتی حیوان می‌باشد. نتایج ما مشخص نمود که هیچ‌کدام از دوزهای زرشک سبب تغییر معنی‌دار در فعالیت حرکتی حیوان نمی‌شوند. این یافته‌ها با نتایج دیگران که نشان داده‌اند داروهای ضدافسردگی سبب تغییر معنی‌دار در فعالیت حرکتی حیوان در آزمون جعبه باز نمی‌شوند کاملاً همخوانی دارد [۱۸، ۱۵]. البته گزارش

## اثر ضدافسردگی عصاره هیدروالکلی زرشک در آزمون معلق ماندن دم

نتایج نمودار ۲ نشان می‌دهد که دوزهای ۴۰ تا ۱۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی زرشک در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری باعث کاهش مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون معلق ماندن دم می‌شوند ( $p < 0/001$ ). فلوکستین نیز به سبب کاهش مدت زمان بی‌حرکتی می‌شود ( $p < 0/001$ ). ولی فلوکستین تنها قوی‌تر از دوز پایین عصاره زرشک (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش مدت زمان بی‌حرکتی گردید ( $p < 0/05$ ). البته ایمپرامین نیز در این آزمون سبب کاهش مدت زمانی بی‌حرکتی شده ( $p < 0/001$ ) و هر سه دوز آن قوی‌تر از دوزهای مختلف عصاره باعث کاهش مدت زمانی بی‌حرکتی گردید ( $p < 0/001$ ).

## اثر عصاره هیدروالکلی زرشک در آزمون جعبه باز

نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که هیچ‌کدام از دوزهای عصاره هیدروالکلی زرشک باعث تغییر معنی‌دار در فعالیت حرکتی حیوان (تعداد عبور از مربع و روی دو پا ایستادن) در مقایسه با گروه کنترل نگردید ( $p > 0/05$ ).



**نمودار ۲-** تاثیر عصاره هیدروالکلی میوه زرشک بر مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون معلق ماندن دم. \*\*\*: اختلاف معنی‌دار با  $p < 0/001$  در مقایسه با گروه کنترل (۶ سر موش در هر گروه). +++: اختلاف معنی‌دار با  $p < 0/001$  در مقایسه با گروه زرشک ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم. نتایج به شکل میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد میانگین بیان شده است.

جدول ۱- تاثیر عصاره هیدروالکلی میوه زرشک بر تعداد عبور از مربع و روی دو پا ایستادن در آزمون جعبه باز

| تعداد عبور از مربع | تعداد روی دوپا ایستادن | گروه  |
|--------------------|------------------------|---|
| ۳±۳۷/۱۱            | ۱۲/۲±۲۰/۰۶             | نرمال سالین (کنترل) ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم |
| ۴۰/۳±۸۰/۸۸         | ۱۶/۱±۳۰/۹۱             | عصاره زرشک ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم           |
| ۴۰/۲±۳۰/۶۷         | ۱۵/۱±۷۰/۵۰             | عصاره زرشک ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم           |
| ۳۹/۳±۸/۰۲          | ۱۴/۱±۲۰/۳۵             | عصاره زرشک ۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم           |
| ۳۴/۲±۲۰/۸۲         | ۱۳/۱±۲۰/۱۴             | عصاره زرشک ۱۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم          |

نتایج به شکل میانگین ± انحراف استاندارد میانگین بیان شده است (۶ سر موش در هر گروه).

نموده اند. به عبارتی، مشخص نموده‌اند که این ترکیبات سبب افزایش مقدار مونوآمین‌های مغزی (مثل سروتونین) در شکاف سیناپسی می‌شوند [۲۱].

همسو با یافته‌های ما نتایج مطالعه‌ای گزارش نموده است که عصاره گیاه بادرنجبویه<sup>۱۳</sup> غنی از ترکیبات فنولی بوده و سبب بروز اثرات ضدافسردگی در آزمون شنای اجباری در رت‌ها می‌شود. نتایج این مطالعه نشان داد که این عصاره با دوزهای بین ۳۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب بروز اثر ضدافسردگی می‌شود. نتایج این مطالعه مشخص نمود که این عصاره با مکانیسم سروتونرژیک اثر خود را بجا گذاشته و همچون عصاره زرشک باعث کاهش مدت‌زمان بی‌حرکتی و افزایش مدت‌زمان شناکردن می‌شود [۲۲]. یا در مطالعه دیگری گزارش نموده‌اند که عصاره برگ‌ها و ریشه گیاه قاصدک<sup>۱۴</sup> باعث بروز اثرات ضدافسردگی در موش‌ها می‌شود. به عبارتی عصاره قاصدک در تجویز حاد و مزمن همچون فلوکستین و با مکانیسم سروتونرژیک عمل می‌کند. مطالعات اثر ضدافسردگی قاصدک را به ترکیبات فنولی موجود در آن نسبت می‌دهند [۲۳]؛ بنابراین احتمالاً ترکیبات فنولی موجود در عصاره میوه زرشک نیز با افزایش مقدار سروتونین در شکاف سیناپسی یا به عبارتی مکانیسم سروتونرژیک اثر ضدافسردگی خود را اعمال می‌کند.

گذشته از یافته‌های فوق، مطالعات اثر آنتی‌اکسیدان قوی زرشک را مشخص نموده‌اند [۱۰]. از سویی مشخص نموده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها دارای اثر ضدافسردگی بوده و استرس اکسیداتیو نقش مهمی در پاتوژنز افسردگی ایفاء می‌کند [۶، ۵]. مطالعات نشان داده‌اند که در طی افسردگی میزان گونه‌های

گزارش نموده‌اند که بعضی از دسته‌های دارویی مثل دیازپام، اسکوپولامین و پنتوباریتال باعث پاسخ مثبت کاذب و افزایش معنی‌دار در فعالیت حرکتی حیوان (افزایشی معنی‌دار تعداد عبور از مربع و تعداد روی دو پا ایستادن) در آزمون جعبه باز و بروز پاسخ منفی کاذب می‌شوند [۱۹]. به عبارت‌بهرتر، کاهش بیحرکتی ناشی از این داروها در آزمون‌های چون شنای اجباری به اثر ضدافسردگی آن‌ها مربوط نبوده و به علت اثرات محرک روان آن‌ها می‌باشد [۱۹]. با داشتن این نکات در ذهن و همسو با یافته‌های دیگران احتمالاً اثر ضدافسردگی عصاره زرشک شبیه داروهای سروتونرژیک (مثل فلوکستین) می‌باشد.

آنالیز ترکیبات میوه زرشک نشان داده است که در ساختمان آن ترکیبات فعالی همچون بربرین<sup>۵</sup>، بریامین<sup>۶</sup>، پالمیتین<sup>۷</sup>، اکسی‌کانتین<sup>۸</sup>، مالیک اسید<sup>۹</sup>، اسکوربیک اسید<sup>۱۰</sup>، کافئیک اسید<sup>۱۱</sup> و اورزولیک اسید<sup>۱۲</sup> یافت می‌شوند. البته در این بین بربرین مهم‌ترین و بیشترین آلکالوئید موجود در میوه زرشک هست [۲۰، ۷]. مطالعات قبلی اثر ضدافسردگی بربرین را در آزمون-های حیوانی افسردگی مشخص نموده‌اند [۱۱]. نتایج این مطالعه همسو با نتایج مطالعه حاضر گزارش داد که بربرین با مکانیسم سروتونرژیک (گیرنده های 5-HT<sub>2</sub>) اثر ضدافسردگی خود را بجا می‌گذارد. البته اسیدهای فنولیک نیز به مقدار زیادی در میوه زرشک یافت می‌شوند [۲۰، ۷]. البته تحقیقات اثرات ضدافسردگی ترکیبات فنولی (مثل کافئیک اسید) را نیز مشخص

<sup>5</sup> Berberine

<sup>6</sup> Berbamine

<sup>7</sup> Palmatine

<sup>8</sup> Oxyacanthine

<sup>9</sup> Malic acid

<sup>10</sup> Ascorbic acid

<sup>11</sup> Caffeic acid

<sup>12</sup> Ursolic acid

<sup>13</sup> *Melissa officinalis*

<sup>14</sup> *Taraxacum officinale*

بالین حال، جهت تعیین مکانیسم دقیق ضدافسردگی آن نیاز به مطالعات گسترده تری می باشد.

## سیاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه دکتری حرفه ای دامپزشکی آقای علی صدری با شماره ثبت ۱۶۲۴۳۵۳۲۹ بوده که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه در سال ۱۴۰۳ انجام شده است.

## ملاحظات مالی

این تحقیق هیچ بودجه از مؤسسه یا دانشگاه جهت انجام کار دریافت نموده است.

## تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

## نقش نویسندگان

ع.ص.: انجام مطالعه و جمع آوری داده ها؛ ق.ن.: طراحی مطالعه، نظارت بر اجرای پژوهش و نگارش مقاله؛ س.ع.م.: طراحی مطالعه، نگارش مقاله، آنالیز آماری و مشاوره حین اجرای تحقیق.

## فهرست منابع

- [1] Mathers CD, Loncar D, Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *Plos Med* 3 (2006) e442.
- [2] Moncrieff J, Persistent adverse effects of antidepressants. *Epidemiol Psychiatr Sci* 29 (2020) E56.
- [3] Noori T, Sureda A, Sobarzo-Sánchez E, Shirooie S, The role of natural products in treatment of depressive disorder. *Curr Neuropharmacol* 20 (2022) 929-949.
- [4] Tian H, Hu Z, Xu J, Wang C, The molecular pathophysiology of depression and the new therapeutics. *Med Comm* 213 (2020) e156.
- [5] Felger JC, Role of inflammation in depression and treatment implications. *Handb Exp Pharmacol* 250 (2019) 255-286.
- [6] Baek SE, Lee GJ, Rhee CK, Rho DY, Kim DH, Huh S, Lee SK, Decreased total antioxidant activity in major depressive disorder patients non-responsive to antidepressant treatment. *Psychiatry Investig* 13 (2016) 222-226.
- [7] Mazandarani M, Ghasemi N, Bayat H, The second review and comparison of active ingredients in plant organs of *Berberis vulgaris* L. *J Plant Sci Res* 8 (2013) 569-67.

فعال اکسیژن (ROS)<sup>۱۵</sup> افزایش می یابد. مغز به دلیل نیاز داشتن بیش از حد به اکسیژن، داشتن لیپید زیاد و دفاع آنتی اکسیدانی ضعیف، حساس ترین عضو به استرس اکسیداتیو بوده و به دنبال آن نورودژنراسیون در مغز رخ می دهد [۶، ۵]. همچنین مطالعه ای اخیراً گزارش نموده است که مشتقات اصلاح شده فلوکستین با سلنومیم بطور همزمان سبب افزایش باز جذب سروتونین (به عنوان مهمترین مونوآمین مغزی دخیل در افسردگی) و بروز اثر ضدافسردگی و تاثیر بر روی استرس اکسیداتیو می شوند [۲۴].

جدا از نقش عوامل مختلف، التهاب نیز نقشی کلیدی در پاتوفیزیولوژی افسردگی ایفاء می کند [۴]. به عبارتی مقدار سیتوکین های پیش التهابی مثل TNF- $\alpha$ ، IL-6 و L-1 $\beta$  در موش و حتی بیماران افزایش می یابد [۴]. در همین راستا، مطالعات اثر ضد التهاب زرشک را نشان دادند. نتایج این مطالعه مشخص نمود که زرشک در دوزهای ۲۰ تا ۱۶۰ میلی گرم از اثرات ضد التهاب و ضد درد خوبی برخوردار می باشد [۷]. در این مطالعه نیز اثرات ضد درد و ضد التهاب زرشک را بیشتر به بربرین موجود در آن ربط می دهند. بنابراین اثر ضد التهابی زرشک نیز می تواند نقش مهمی بروز اثر ضدافسردگی آن داشته باشد. بنابراین، ممکن است ترکیبات موجود در عصاره هیدرو الکلی زرشک (همچون بربرین) با مکانیسم سروتونرژیک مسئول اثرات ضدافسردگی آن هستند.

علیرغم بیخطری قابل قبول عصاره میوه زرشک [۲۵]، نیاز است تا سمیت حاد و مزمن دوزهای مختلف عصاره هیدرو الکلی میوه زرشک با انجام یک مطالعه جامع بررسی گردد. همچنین باتوجه به اینکه معمولاً اثر داروهای ضد افسردگی در انسان متعاقب مصرف مزمن آنها ظاهر می گردد، لازم است اثر ضدافسردگی احتمالی عصاره در مدل های حیوانی، متعاقب تجویز مزمن نیز بررسی شود و با اثرات حاد آن مقایسه گردد.

## نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که زرشک ترکیب سالمی بوده و در دوزهای مصرفی اثر سمی نداشته و اثر ضدافسردگی آن شبیه داروهای سروتونرژیک (همچون فلوکستین) است.

<sup>15</sup> Reactive oxygen species

<sup>16</sup> Tumor necrosis factor alpha

<sup>17</sup> Interleukin-6

- [8] Mirazi N, Hosseini A, Evaluation of antinociceptive activity of *Berberis vulgaris* L. fruit's hydroethanolic extract in male mice. *Iran J Pharmaceuti Sci* 9 (2013) 13-20.
- [9] Imenshahidi M, Qaredashi R, Hashemzaei M, Hosseinzadeh H, Inhibitory effect of *Berberis vulgaris* aqueous extract on acquisition and reinstatement effects of morphine in conditioned place preferences (CPP) in mice. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 9 (2014) e16145.
- [10] Bayani M, Ahmadi-hamedani M, Jebelli Javan A, Phytochemical and antioxidant activities of *Berberis integerrima* and *Berberis vulgaris* and pharmacological effects of the more active species on alloxan-induced diabetic rats. *J Med Plants* 15 (2016) 111-121.
- [11] Fan J, Li B, Ge T, Zhang Z, Lv J, Zhao J, Wang P, Liu W, Wang X, Mlyniec K, Cui R, Berberine produces antidepressant-like effects in ovariectomized mice. *Sci Rep* 7 (2017) 1310.
- [12] Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M, Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 229 (1977) 327-336.
- [13] Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P, The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 85 (1985) 367-370.
- [14] Brown RE, Corey SC, Moore AK, Differences in measures of exploration and fearin MHC-congenic C57BL/6J and B6-H-2K mice. *Behav Genet* 26 (1999) 263-271.
- [15] Mohaghegh Daghigh G, Soeibipour L, Abakelia S, Antidepressant-like effects of menthol via dopaminergic system; Using forced swimming test in a mice model. *GMJM* 3 (2024) 1-5.
- [16] Mohebbali S, Nasri S, Kamalinejhad M, Noori AS, Antinociceptive & anti-inflammatory effects of *Berberis vulgaris* L. root's hydroalcoholic extract and determination of its possible antinociceptive mechanism in male mice. *Arch Adv Biosci* 2 (2011) 12-18.
- [17] Reneric JP, Lucki I, Antidepressant behavioral effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology (Berl)* 136 (1998) 190-197.
- [18] Colla AR, Machado DG, Bettio LE, Colla G, Magina MD, Brighente IM, Rodrigues AL, Involvement of monoaminergic systems in the antidepressant-like effect of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) in the tail suspension test in mice. *J Ethnopharmacol* 143 (2012) 720-731.
- [19] De Pablo JM, Ortiz-Caro J, Sanchez-Santed F, Guillamon A, Effects of diazepam, pentobarbital, scopolamine and the timing of saline injection on learned immobility in rats. *Physiol Behav* 50 (1991) 895-899.
- [20] Fatehi M, Saleh TM, Fatehi Hassanabad Z, Farrokhfal K, Jafarzadeh M, Davoudi S, A pharmacological study on *Berberis vulgaris* fruit extract. *J Ethnopharmacol* 102 (2005) 46-52.
- [21] Cordeiro MLDS, Martins VGQA, Silva APD, Rocha HAO, Rachetti VPS, Scortecchi KC, Phenolic Acids as antidepressant agents. *Nutrients* 14 (2022) 4309.
- [22] Taiwo AE, Leite FB, Lucena GM, Barros M, Silveira D, Silva MV, Ferreira VM, Anxiolytic and antidepressant-like effects of *Melissa officinalis* (lemon balm) extract in rats: Influence of administration and gender. *Indian J Pharmacol* 44 (2012) 189-192.
- [23] Li YC, Shen JD, Li YY, Huang Q, Antidepressant effects of the water extract from *Taraxacum officinale* leaves and roots in mice. *Pharm Biol* 52 (2014) 1028-1032.
- [24] Ribaldo G, Bortoli M, Witt CE, Parke B, Mena S, Oselladore E, Zagotto G, Hashemi P, Orian L, ROS-scavenging selenofluoxetine derivatives inhibit in vivo serotonin reuptake. *ACS Omega* 7 (2022) 8314-8322.
- [25] Peychev L, Pharmacological investigation on the cardiovascular effects of *Berberis vulgaris* on tested animals. *Pharmacia* 52 (2005) 118-121.

## Research paper

## Investigating the antidepressant effect of *Berberis vulgaris* L. hydroalcoholic extract in mouse models of depression

Reza Sadri<sup>1</sup>, Ghader Najafi<sup>1\*</sup>, Saeid Abbasi-Maleki<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

<sup>2</sup>Pharmaceutical Sciences Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

<sup>3</sup>Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Received: 20 August 2024

Accepted: 24 December 2024

### Abstract

**Background and Aim:** *Berberis vulgaris* L. has analgesic, anti-inflammatory, antioxidant, and reducing morphine withdrawal signs effects. With this background, the aim of the present study is to investigate the antidepressant effect of *B. vulgaris* hydroalcoholic extract (BVHE) in forced swimming test (FST) and tail suspension test (TST).

**Methods:** 84 male albino mice (6 mice in each group) were injected intraperitoneally with normal saline, fluoxetine (20 mg/kg), imipramine (30 mg/kg), and different doses of BVHE (40, 20, 80, and 160 mg/kg) and then they were subjected to FST and TST. The open-field test (OFT) was also used to assess mice locomotion.

**Results:** All doses of BVHE (except the dose of 20 mg/kg) decrease the duration of immobility in both FST and TST ( $p < 0.001$ ). In addition, BVHE increased the duration of swimming ( $p < 0.001$ ) without a significant change in the climbing time in FST ( $p > 0.05$ ). The locomotion of mice (the number of crossings and rearings) did not show any significant change in the OFT ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** Due to *B. vulgaris* anti-depressant effects in both mouse models, its antidepressant effects are similar to those of serotonergic drugs (such as fluoxetine). However, determining the exact mechanism of its action requires more and more extensive studies.

**Keywords:** Forced swimming test, Oxidative stress, *Berberis vulgaris* L., Antidepressant

Please cite this article as follows:

Sadri R, Najafi G, Abbasi-Maleki S, Investigating the antidepressant effect of *Berberis vulgaris* L. hydroalcoholic extract in mouse models of depression. *Iran J Physiol Pharmacol* 8 (2024) 149-157.

\*Corresponding authors: Gh.Najafi@iau.ac.ir (ORCID: 0000-0002-6723-6240)