

Research Paper

Investigating the Antidepressant and Antioxidant Activity of the Alcoholic Extract of *Melilotus officinalis* L. in Male Rats



\*Rahmatollah Parandin<sup>1</sup> , Faezeh Abbasi<sup>1</sup>

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran.



**Citation** Parandin R, Abbasi F. [Investigating the Antidepressant and Antioxidant Activity of the Alcoholic Extract of *Melilotus officinalis* L. in Male Rats (Persian)]. *Journal of Guilan University of Medical Sciences*. 2024; 33(1):65-76. <https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.1.2107.1>

<https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.1.2107.1>

Received: 18 Feb 2023

Accepted: 24 Oct 2023

Available Online: 01 Apr 2024

**ABSTRACT**

**Background** Depression is one of the most common psychological disorders that can affect a person's mood and change his/her perception of the self and environment. *Melilotus officinalis* L. plant contains effective substances and antioxidant compounds.

**Objective** The present study aims to investigate the antidepressant effects of alcoholic extract of *M. officinalis* L. in male rats.

**Methods** In this experimental research, 42 male rats were divided into six groups of 7 including control (normal saline), negative control (reserpine), positive control (reserpine+fluoxetine) and three reserpine groups treated by intraperitoneal injection of 100, 200, 400 mg/kg doses of alcoholic extract of *M. officinalis* L. Behavioral tests including forced swim test (FST) and tail suspension test (TST) were used to evaluate depression, and the antioxidant capacity and malondialdehyde level were also measured. The data were analyzed in SPSS software, version 20 using one-way analysis of variance. The significance level was set at  $P < 0.05$ .

**Results** The 200 mg/kg and 400 mg/kg doses of alcoholic extract significantly reduced the duration of immobility in the FST compared to the negative control. In the TST, the doses of 200 and 400 mg/kg showed a significant increase compared to the negative control. The doses of 200 and 400 mg/kg significantly increased the antioxidant capacity of the brain compared to the negative control. The doses of 200 and 400 mg/kg significantly reduced the antioxidant capacity of the brain compared to the negative control.

**Conclusion** The alcoholic extract of *M. officinalis* L. has antidepressant effects similar to fluoxetine probably due to its antioxidant compounds.

**Keywords:**

Antidepressant,  
*Melilotus officinalis*,  
Antioxidant activity

**\* Corresponding Author:**

Rahmatollah Parandin

Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran.

Tel: +98 (21) 23322238

E-Mail: [rahmatparandin@pnu.ac.ir](mailto:rahmatparandin@pnu.ac.ir)



Copyright © 2024 The Author(s);  
This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC-BY-NC: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode.en>),  
which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

## Extended Abstract

### Introduction

**D**epression is a common mental illness that can cause functional and social disorders [1]. According to the World Health Organization (WHO), major depressive disorder was the second leading cause of illness worldwide in 2020 [1]. This disease is considered as the most widespread problem in adolescents, and the increase in suicide attempts among adolescents can indicate the importance of this concern. According to several studies, the prevalence of major depressive disorder in adolescents is 4.6% among boys and 5.9% among girls, and its age at onset is 13-18 years. The global prevalence of depression is 16.2%. In general, the prevalence of depression in the general population is estimated between 4.2 and 37%. In Iran, due to the use of different measurement tools, the studies have reported different prevalence rates. Based on a national survey in 2011, prevalence of depression is about 23.6% [2, 3].

*Melilotus officinalis* L. belongs to the Fabaceae family. The main compounds of this plant include coumarin and melilotus [4]. The flowers of this plant have therapeutic properties for convulsions and chest pain. It removes the smell of urine and is also used in the treatment of rheumatism. This plant is used as a painkiller, disinfectant, and tonic and for the healing of burn wounds [5]. Due to the fact that there is little information about the effect of *M. officinalis* L. on depression, the present study aims to evaluate the possible effects of this plant on depression caused by reserpine injection in rats.

### Methods

In this experimental study, the *M. officinalis* L. plant was first collected from the mountains around Kermanshah, Iran, in spring and dried in the shade in a suitable environment at a temperature of 23-27°C. Then the dried plant was turned into powder. Sixty grams of the resulting powder was separated and 300 cc of 80% ethanol was added to it and kept for 72 hours. After filtering using Whatman No. 1 paper, the obtained extract was dried, and the resulting powder was used to prepare the desired doses.

Forty-two male Syrian rats were divided into six groups of 7 including control (normal saline), negative control (reserpine), positive control (reserpine+fluoxetine) and three reserpine groups treated by intraperitoneal injection of 100, 200, 400 mg/kg doses of alcoholic extract of *M. officinalis* L. Behavioral tests including forced swim test

(FST) and tail suspension test (TST) were used to evaluate depression, and the antioxidant capacity and malondialdehyde (MDA) level were also measured. The obtained data were analyzed in SPSS software, version 20, and the significance level was set as  $P < 0.05$ . First, by using the Kolmogorov-Smirnov test, the normality of data distribution in each group was ensured. Then, one-way analysis of variance was used to compare the groups, followed by Tukey's post hoc test for pairwise comparison.

### Results

#### The FST results

The negative control group showed significantly longer mean immobility time compared to the control group ( $P=0.001$ ). Positive control group showed significantly shorter mean immobility time compared to the negative control group ( $P=0.001$ ). The dose of 100 mg/kg of the extract caused a significant increase compared to the negative control group ( $P < 0.05$ ). The doses of 200 and 400 mg/kg of the extract significantly reduced the duration of immobility compared to the negative control ( $P=0.001$ ). The doses of 100 and 200 mg/kg significantly increased the duration of immobility compared to the positive control group ( $P=0.001$ ).

#### The TST results

The negative control group showed significantly longer mean immobility time compared to the control group ( $P=0.001$ ). The positive control showed significantly shorter mean immobility time compared to the control and negative control groups ( $P=0.001$ ). The dose of 100 mg/kg of the extract caused a significant increase compared to the positive control group ( $P < 0.05$ ). The doses of 200 and 400 mg/kg of the extract significantly increased the duration of immobility compared to the negative control ( $P=0.001$ ). The doses of 100 and 200 mg/kg significantly increased the duration of immobility compared to the positive control group ( $P=0.001$ ).

#### Antioxidant capacity in the brain

The negative control group showed significantly lower antioxidant capacity in the brain compared to the control group ( $P=0.001$ ). The positive control group showed significantly higher antioxidant capacity in the brain compared to the negative control ( $P=0.001$ ). The doses of 100 and 400 mg/kg significantly reduced the antioxidant capacity compared to the positive control group ( $P=0.001$ ). The dose of 200 mg/kg significantly increased the antioxidant capacity compared to the negative control

group ( $P=0.001$ ). The dose of 400 mg/kg increased the antioxidant capacity of the brain compared to the negative control group ( $P<0.01$ ). The dose of 200 mg/kg extract reduced the antioxidant capacity of the brain in comparison with the positive control group ( $P<0.01$ ).

### The MDA level in the brain

The negative control group showed significantly higher MDA level compared to the control group ( $P=0.001$ ). The positive control significantly reduced the mean brain MDA in comparison with the negative control ( $P=0.001$ ). The dose of 100 mg/kg extract significantly increased the MDA level in the brain compared to the positive control group ( $P=0.001$ ). The doses of 200 and 400 mg/kg extract significantly reduced the MDA level compared to the negative control group ( $P=0.001$ ).

### Conclusion

In both behavioral tests (FST and TST), reserpine significantly increased the immobility time in mice. The doses of 200 and 400 mg/kg of alcoholic extract of *M. officinalis* L. can significantly reduce immobility time in the FST compared to the negative control (reserpine). In the TST, the doses of 200 and 400 mg/kg extract can significantly increase the immobility time compared to the negative control. The dose of 400 mg/kg extract can significantly increase the antioxidant capacity in the brain compared to the negative control. The doses of 200 and 400 mg/kg of MDA extract significantly reduced the capacity of the brain in comparison with the negative control. The doses of 200 and 400 mg/kg of the extract can significantly reduce the MDA level in the brain compared to the negative control.

The obtained results revealed that the alcoholic extract of *M. officinalis* L. has anti-depressant effects, similar to fluoxetine, in Syrian rats with depression caused by the administration of reserpine, which can probably due to the presence of antioxidant compounds of this plant, which requires more extensive and deep research. The alcoholic extract of *M. officinalis* L. can be used as a medicine or supplement for the treatment of depression and similar symptoms.

### Ethical Considerations

#### Compliance with ethical guidelines

This study was approved by Ethics Committee of [Payame Noor University](#) (Code: PNU.REC.1400.273).

### Funding

This research did not receive any grant from funding agencies in the public, commercial, or non-profit sectors.

### Authors' contributions

All authors equally contribute to preparing all parts of the research.

### Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.



مقاله پژوهشی

بررسی اثرات ضد افسردگی و ضد اضطرابی عصاره الکلی شاه افسر در موش‌های سوری نر

\*رحمت‌اله پرندین<sup>۱</sup>، فائزه عباسی<sup>۱</sup>

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.



**Citation** Parandin R, Abbasi F. [Investigating the Antidepressant and Antioxidant Activity of the Alcoholic Extract of *Melilotus officinalis* L. in Male Rats (Persian)]. *Journal of Guilan University of Medical Sciences*. 2024; 33(1):65-76 <https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.1.2107.1>

**doi** <https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.1.2107.1>

چکیده

تاریخ دریافت: ۲۹ بهمن ۱۴۰۱  
تاریخ پذیرش: ۰۲ آبان ۱۴۰۱  
تاریخ انتشار: ۱۳ فروردین ۱۴۰۲

**زمینه:** افسردگی از شایع‌ترین و قدیمی‌ترین نشانگان روانی است که در متون مختلف به آن پرداخته شده است و بر کیفیت خلق شخص اثر گذاشته و نحوه ادراک او را از خودش و محیطش دگرگون می‌سازد. گیاه شاه افسر حاوی مواد مؤثره و ترکیبات آنتی‌اکسیدانت است.

**هدف:** مطالعه حاضر، بررسی اثرات ضد افسردگی عصاره الکلی شاه افسر در موش‌های سوری نر است.

**روش‌ها:** در این تحقیق تجربی از ۴۲ سر موش سوری نر به ۶ گروه ۷ تایی شامل گروه‌های کنترل (نرمال سالین)، کنترل منفی (رزپین)، کنترل مثبت (رزپین+فلوکستین) و ۳ گروه رزپینی تحت درمان با دُز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی شاه افسر از راه درون صفاقی طبقه‌بندی شدند. از آزمون‌های رفتاری شنای اجباری و معلق ماندن دم برای ارزیابی افسردگی استفاده شد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مالون دی‌آلدهید مغز نیز اندازه‌گیری شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح معناداری  $P < 0.05$  تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** یافته‌های به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان داد دُز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره در مقایسه با کنترل منفی مدت زمان بی‌حرکتی را در آزمون شنای اجباری به‌طور معناداری کاهش داد. در آزمون معلق ماندن دم دُز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره در مقایسه با کنترل منفی افزایش معنادار نشان داد. دُز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را در مقایسه با کنترل مثبت به‌طور معناداری افزایش داد. دُز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را در مقایسه با کنترل مثبت به‌طور معناداری کاهش داد.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های این مطالعه نشان داد گیاه شاه افسر احتمالاً به واسطه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، اثرات ضد افسردگی شبیه به فلوکستین دارد.

کلیدواژه‌ها:

ضد افسردگی، شاه افسر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

\* نویسنده مسئول:

رحمت‌اله پرندین

نشانی: تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی.

تلفن: ۲۳۳۲۲۲۳۸ (۲۱) +۹۸

رایانامه: rahmatparandin@pnu.ac.ir



Copyright © 2024 The Author(s);

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC-BY-NC: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode.en>), which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

## مقدمه

جنس در پیشگیری زودرس و کنترل این بیماری می‌تواند مفید واقع شود. با توجه به اجرای این مطالعه تجربی در صدد برآمدیم تا اثرات مفید گیاه شاه افسر بر افسردگی را بررسی و داده‌ها را با سایر مطالعات مقایسه کنیم.

با توجه به این که اطلاعات کمی درباره تأثیر گیاه شاه افسر بر افسردگی وجود دارد، بر این اساس در مطالعه حاضر ارزیابی اثرات احتمالی شاه افسر در برابر افسردگی ناشی از تزریق زرزپین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی بررسی می‌شود.

## روش‌ها

## تهیه عصاره

در این مطالعه که از نوع تجربی است، ابتدا گیاه شاه افسر از کوه‌های اطراف کرمانشاه در فصل بهار جمع‌آوری شد و در سایه، در محیط مناسب در دمای ۲۳ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس گیاه خشک‌شده به پودر تبدیل شد. ۶۰ گرم از پودر حاصل را جدا کرده به آن ۳۰۰ سی‌سی اتانول ۸۰ درصد اضافه شد و برای ۷۲ ساعت نگهداری شد. عصاره به‌دست‌آمده پس از صاف شدن با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ خشک شد و از پودر حاصل برای تهیه دزهای مورد نظر استفاده شد و پس از پایان مراحل آزمایش داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح معناداری  $P < 0.05$  تجزیه و تحلیل شدند [۶، ۷].

## حیوانات و گروه‌بندی

در این تحقیق تجربی ۴۲ سر موش سوری نر نژاد Balb/c در محدوده وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم که از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه تهیه شده، استفاده شده است. موش‌ها در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰ تا ۵۵ درصد در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دسترسی آزادانه به آب و غذای کافی در قفس پلاستیکی نگهداری شدند. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۷ تایی تقسیم شدند:

۱. گروه (کنترل): به صورت تک دُز داخل صفاقی نرمال سالیین را دریافت کردند.
۲. کنترل منفی: ۱۸ ساعت قبل از آغاز تست شنا زرزپین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را دریافت کردند [۸].
۳. کنترل مثبت: زرزپین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دریافت و ۱۸ ساعت بعد از آن فلوکستین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به روش تک دُز درون صفاقی دریافت کردند [۸].
- ۴، ۵، ۶. زرزپین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را دریافت کردند و بعد از ۱۸ ساعت به ترتیب دزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر

افسردگی یک بیماری شایع روانی است. علائم افسردگی در نوشته‌های بازمانده از قرن ۸ قبل از میلاد شرح داده شده است. اختلال افسردگی موجب اختلالات عملکردی و اجتماعی می‌شود [۱]. طبق گفته سازمان بهداشت جهانی، اختلال افسردگی عمده در سال ۲۰۲۰ به دومین عامل اصلی بیماری در سراسر جهان تبدیل خواهد شد [۱]. این بیماری به عنوان گسترده‌ترین مشکل در آسیب‌شناسی نوجوانی به شمار می‌رود و افزایش خودکشی در نوجوانان به این نگرانی دامن می‌زند.

افراد مبتلا به افسردگی علاقه خود را به فعالیت‌هایی که زمانی برایشان لذت‌بخش بودند از دست می‌دهند و در انجام فعالیت‌های روزمره دچار مشکل می‌شوند. افسردگی مجموعه‌ای از اختلالات رایج روانی، بدنی، عصبی، مانند اختلالات خواب، اختلالات روحی، کاهش اشتها، نداشتن انگیزه، خلق افسرده و ناتوانی جنسی است و یکی از اصلی‌ترین موضوعات مهم سلامت در جامعه به شمار می‌رود. یک دسته از پرتجویزترین داروهای شیمیایی درمان افسردگی، فلوکستین (مهارکننده‌های باز جذب سروتونین) است که شامل اثرات جانبی کم خوابی، تهوع و اختلالات جنسی است [۲].

با توجه به مطالعات گسترده میزان افسردگی عمده در نوجوانان ۴/۶ درصد در پسران و ۵/۹ درصد در دختران است و زمان شروع آن بین سنین ۱۳ تا ۱۸ سالگی است. میزان شیوع جهانی افسردگی ۱۶/۲ درصد است و در ایران با توجه به این که مطالعات مختلف با ابزارهای سنجشی مختلف انجام شده، شیوع‌های متفاوتی گزارش داده‌اند. به‌طور کلی شیوع افسردگی در جمعیت عمومی بین ۴/۲ تا ۳۷ درصد برآورد شده است. این اختلال یکی از شایع‌ترین بیماری‌های روانی در ایالات متحده آمریکاست. در سال ۲۰۱۵، نزدیک به ۷ درصد آمریکایی‌ها در سن ۱۸ سالگی یک دوره از اختلال افسردگی داشتند. آمار کل اختلالات روان‌پزشکی در ایران، بر اساس پیمایش ملی سال ۱۳۹۰ حدود ۲۳/۶ درصد است [۲، ۳].

گیاه شاه افسر با نام علمی *L. Melilotus Officinalis* به معنای جذب‌کننده زنبور عسل، متعلق به تیره حبوبات (*Faba-ceae*) گیاهی است. ترکیبات شیمیایی این گیاه شامل کومارین و ملیوتین عمده مواد مؤثره شاه افسر هستند [۴]. گل‌های این گیاه خواص درمانی تشنج دارد و مرهم سینه است. بوی ادرار را از بین می‌برد و در درمان روماتیسم نیز به کار می‌رود. از این گیاه به عنوان مسکن، ضد عفونی‌کننده، ضد التهاب، مقوی و در التیام زخم‌های سوختگی استفاده می‌شود [۵].

جمع‌آوری اطلاعات درباره افسردگی، اولین گام در کنترل آن است. یافتن اطلاعاتی درباره ویژگی‌های این بیماری مانند سن،

## 1. Major Depressive Disorder (MDD)

کیلوگرم عصاره اتانولی شاه افسر به صورت تک دُز داخل صفاقی قرار گرفت [۸].

همه مراحل پروتکل آزمایش مطابق دستورالعمل اخلاقی و آیین‌نامه کمیته اخلاق زیستی دانشگاه پیام‌نور انجام شد.

#### آزمون‌های رفتاری

##### آزمون شنای اجباری

از این آزمون برای سنجش میزان افسردگی و ناامیدی استفاده و یک ساعت بعد از تزریق فلوکستین و عصاره الکلی شاه افسر انجام شد. در این روش یک آکواریوم شیشه‌ای به ارتفاع ۸ سانتی‌متر، طول ۲۵ سانتی‌متر و عرض ۱۲ سانتی‌متر از آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد پر شد و موش‌ها به آرامی از ارتفاع ۲۰ سانتی‌متری در آب رها شدند. کل زمان آزمون ۶ دقیقه بود که ۲ دقیقه اول برای سازگاری و تطابق حیوان با شرایط محیط و ۴ دقیقه بعدی برای مدت زمان بی‌حرکتی با استفاده از کورنومتر بر حسب ثانیه ثبت شد. قطع حرکات دست و پای حیوان به عنوان زمان بی‌حرکتی ثبت شد [۹].

##### آزمون معلق ماندن دم

از این آزمون برای سنجش میزان افسردگی استفاده شد. این روش از پایه فلزی با ارتفاع ۷۰ سانتی‌متر و ۱ بند ۵۰ سانتی‌متری که بین ۲ پایه فلزی به صورت طولی کشیده شده، استفاده شد. موش از دم آویزان شد و با فعالیت حرکتی شدید موش آزمون شروع شد. کل زمان آزمون ۶ دقیقه بود که ۲ دقیقه اول برای سازگاری حیوان با شرایط و ۴ دقیقه آخر به عنوان مدت زمان بی‌حرکتی به وسیله کورنومتر بر حسب ثانیه ثبت شد. زمانی که موش غیرفعال و بدون حرکت شد به عنوان زمان بی‌حرکتی در نظر گرفته شد. پس از انجام آزمون‌های رفتاری با هالوتان حیوانات به خواب رفتند، جمجمه را جدا کرده و سپس مغز موش‌ها برای انجام آزمایشات بیوشیمیایی استفاده شد [۹].

##### ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز

برای این سنجش، ۳ محلول تهیه و استفاده شدند:

۱. محلول کلرید آهن (۲۷۰ میلی‌گرم کلرید آهن با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد).

۲. محلول تری‌آزین (۴۷ میلی‌گرم تری‌آزین حل شده در ۴۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۴۰ میلی‌مولار).

۳. محلول بافر (۸ میلی‌لیتر اسید استیک غلیظ و ۱/۵۵ میلی‌لیتر استات سدیم با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد).

۱ میلی‌لیتر محلول کلرید آهن، ۱ میلی‌لیتر محلول تری‌آزین و ۱۰ میلی‌لیتر از محلول بافر با هم مخلوط شدند. سپس از محلول هموزنه مغز ۲۵ میکرولیتر به ۱/۵ میلی‌لیتر از مخلوط ۳ محلول فوق اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت و جذب نوری آن در طول موج ۵۹۳ نانومتر ثبت شد [۱۰].

##### مالون دی‌آلدهید مغز

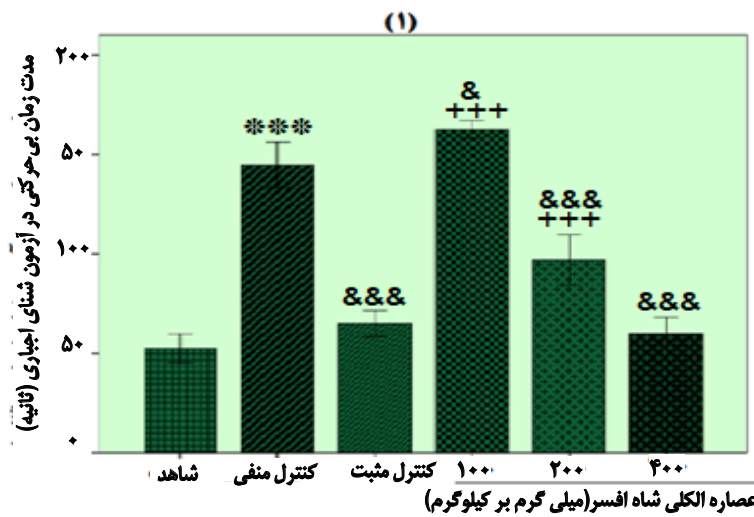
محلول کلرید پتاسیم ۲/۵ درصد به نسبت وزنی ۱۰ درصد در ۱ گرم از بافت مغز هموزنیزه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت در ۱ شیکر آنکوبه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۶۷ درصد به همراه ۱ میلی‌لیتر تتراکلوآستیک اسید ۵ درصد به آن اضافه و به خوبی مخلوط شد. پس از آن به لوله سانتریفیوژ منتقل شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی به لوله دیگری منتقل و مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد و بعد از سرد شدن جذب نوری آن با اسپکتروفتومتر در ۵۳۵ نانومتر ثبت شد [۱۰].

داده‌های حاصل شده با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ تجزیه و تحلیل شدند. ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف از نرمال بودن توزیع داده‌ها در هر گروه اطمینان حاصل شد. سپس از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه برای مقایسه میانگین‌های تیمارها و با توجه به معنادار بودن ( $P < 0/001$ ) اختلاف میانگین همه متغیرها برای مقایسه دو به دوی میانگین گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. ( $P < 0/05$ ) در همه محاسبات به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

##### نتایج آزمون شنای اجباری

مطابق تصویر شماره ۱، گروه کنترل منفی میانگین زمان بی‌حرکتی را در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش داد ( $P = 0/001$ ). کنترل مثبت، میانگین زمان بی‌حرکتی را در مقایسه با کنترل منفی به‌طور معناداری کاهش داد ( $P = 0/001$ ). دُز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره در مقایسه با کنترل منفی افزایش معنادار داشت ( $P < 0/05$ ). دُز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره در مقایسه با کنترل منفی مدت زمان بی‌حرکتی را به‌طور معناداری کاهش داد ( $P = 0/001$ ). دُز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره مدت زمان بی‌حرکتی را در مقایسه با گروه کنترل مثبت به‌طور معنادار افزایش داد ( $P = 0/001$ ).



مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

**تصویر ۱.** اثر دُزهای مختلف عصاره الکی شاه افسر، رزوپین، فلوکستین در آزمون شنای اجباری بر مدت زمان بی‌حرکتی در موش‌های سوری نر نژاد Balb/c. \*\*\* $(P<0/001)$  نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های کنترل منفی و کنترل مثبت با گروه کنترل است.  $^{\&\&\&}$   $(P<0/001)$  و  $^{\&\&\&}$   $(P<0/001)$  نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف عصاره با گروه کنترل مثبت است.

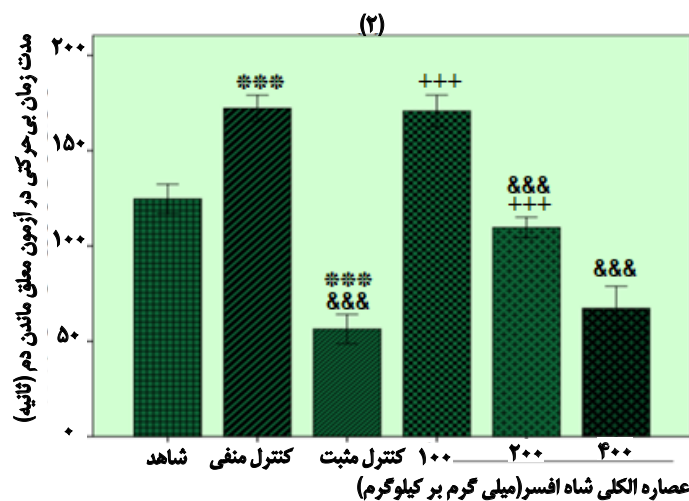
افزایش معنادار نشان داد  $(P=0/001)$ . دُز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره در مقایسه با کنترل مثبت افزایش معنادار داشت  $(P=0/001)$ .

#### نتایج آزمون معلق ماندن دم

مطابق تصویر شماره ۲، گروه کنترل منفی میانگین زمان بی‌حرکتی را در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش داد  $(P=0/001)$ . کنترل مثبت، میانگین زمان بی‌حرکتی را در مقایسه با گروه کنترل و کنترل منفی به‌طور معناداری کاهش داد  $(P=0/001)$ . دُز ۱۰۰ مدت زمان بی‌حرکتی را در مقایسه با کنترل مثبت به‌طور معنادار افزایش داد  $(P=0/001)$ . دُز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره در مقایسه با کنترل منفی

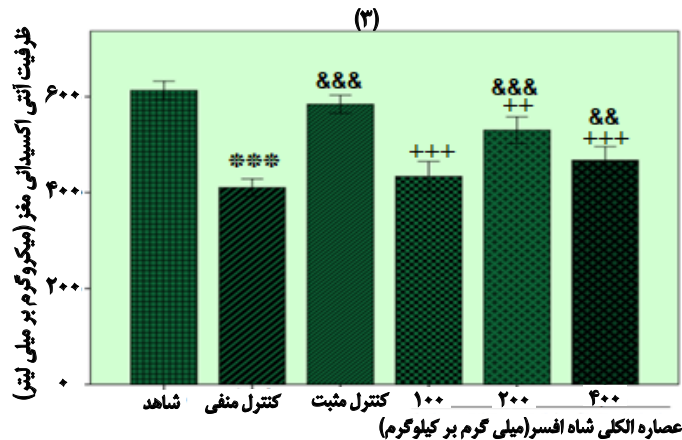
#### نتایج سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز

مطابق تصویر شماره ۳، گروه کنترل منفی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری کاهش داد  $(P=0/001)$ . کنترل مثبت، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را در مقایسه با کنترل منفی به‌طور معناداری افزایش



مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

**تصویر ۲.** اثر دُزهای مختلف عصاره الکی شاه افسر، رزوپین، فلوکستین در آزمون معلق ماندن دم بر مدت زمان بی‌حرکتی در موش‌های سوری نر نژاد Balb/c. \*\*\* $(P<0/001)$  نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های کنترل منفی و کنترل مثبت با گروه کنترل است.  $^{\&\&\&}$   $(P<0/001)$  و  $^{\&\&\&}$   $(P<0/001)$  نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف عصاره با گروه کنترل مثبت است.



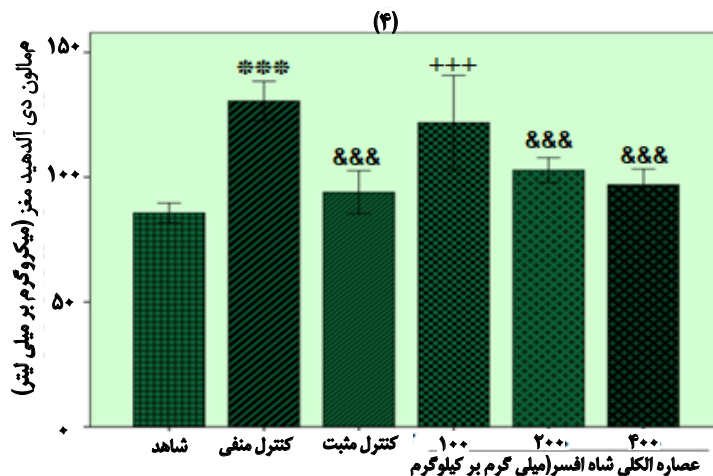
مجله دانشکده علوم پزشکی گیلان

تصویر ۳. اثر دزهای مختلف عصاره الکلی شاه افسر، رزوپین، فلوکستین در ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز در موش‌های سوری نر نژاد Balb/c. \*\*\* ( $P < 0.001$ ) نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های کنترل منفی و کنترل مثبت با گروه کنترل است. && ( $P < 0.01$ ) و &&& ( $P < 0.001$ ) نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف عصاره با گروه کنترل منفی است. ++ ( $P < 0.01$ ) و +++ ( $P < 0.001$ ) نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف عصاره با گروه کنترل مثبت است.

#### نتایج سنجش مالون دی‌آلدهید مغز

بر اساس تصویر شماره ۴، گروه کنترل منفی میانگین مالون دی‌آلدهید مغز را در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش داد ( $P = 0.001$ ). کنترل مثبت، میانگین مالون دی‌آلدهید مغز را در مقایسه با کنترل منفی به‌طور معناداری کاهش داد ( $P = 0.001$ ). دز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره میزان مالون دی‌آلدهید مغز را در مقایسه با کنترل مثبت به‌طور معناداری افزایش داد ( $P = 0.001$ ). دز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز را در مقایسه با کنترل منفی به‌طور معناداری کاهش داد ( $P = 0.001$ ).

داد ( $P = 0.001$ ). دز ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز را در مقایسه با کنترل مثبت به‌طور معناداری کاهش داد ( $P = 0.001$ ). دز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز را در مقایسه با کنترل منفی به‌طور معناداری افزایش داد ( $P = 0.001$ ). دز ۴۰۰ ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز را در مقایسه با کنترل منفی افزایش داد ( $P < 0.01$ ). دز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز را در مقایسه با کنترل مثبت کاهش داد ( $P < 0.01$ ).



مجله دانشکده علوم پزشکی گیلان

تصویر ۴. اثر دزهای مختلف عصاره الکلی شاه افسر، رزوپین، فلوکستین بر سنجش مالون دی‌آلدهید مغز در موش‌های سوری نر نژاد Balb/c. \*\*\* ( $P < 0.001$ ) نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های کنترل منفی و کنترل مثبت با گروه کنترل است. &&& ( $P < 0.001$ ) نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف عصاره با گروه کنترل منفی است. +++ ( $P < 0.001$ ) نشان دهنده اختلاف معنادار بین گروه‌های مختلف عصاره با گروه کنترل مثبت است.



## بحث

مصرف آنتی اکسیدان‌های سنتزی در حال حاضر به دلیل پایداری بالا، کارایی و نیز ارزانی نسبی به دلیل ایجاد عوارض جانبی مانند سرطان و تمایل مردم برای پرهیز از مصرف، رو به کاهش است [۱۲]. تولید مقادیر بالای گونه اکسیژن واکنش دهنده، موجب بروز استرس‌های اکسیداتیو، بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان و آلزایمر می‌شوند؛ بنابراین شناسایی راه‌های مؤثر حذف استرس‌های بیولوژیک، افسردگی و گونه‌های فعال اکسیژن یا رادیکال‌های آزاد اکسیژن<sup>۲</sup> رادیکال‌ها، از طریق داروهای آنتی اکسیدان و غذا ضروری است. از گذشته‌های دور گیاهان دارویی در درمان و پیشگیری بیماری‌های مختلف به کار برده شده‌اند. گیاه شاه افسر ترکیبات مؤثره مفید مانند ترکیبات ثانوی فنلی و فلاونوئیدی دارد. مقادیر بالای این ترکیبات نقش مهمی در عملکرد آنتی اکسیدانی آن داشته است [۱۲].

بررسی نتایج تحقیقات قبلی نشان داده که پتانسیل آنتی اکسیدانی عصاره‌های اغلب گیاهان دارویی اساساً به ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی آن گیاهان مرتبط است که خاصیت ضد افسردگی، ضد اضطرابی و مهار رادیکال‌های آزاد نشان داده‌اند. در گونه‌های گیاهی مختلفی همبستگی بین مقدار ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی آن‌ها گزارش شده است [۱۳].

تحقیقات دیگری نشان داده‌اند ترکیبات مؤثره این گیاه خواص درمانی ضد التهاب، ضد افسردگی و اضطرابی، ضد سرطانی، آنتی اکسیدانی، آرام‌بخش، ضد اسپاسم و تب‌بر دارند [۱۴]. یافته تحقیق دیگر حاکی از اثرات ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، ضد درد، ضد چربی و ضد انگلی مواد مؤثره این گیاه است که همسو با یافته‌های تحقیق حاضر است [۱۵].

گزارشات قبلی نشان دادند عصاره گیاه شاه افسر ترکیبات فلاونوئیدی و کومارینی داشته و نیز ترپنویدهای آنتی اکسیدان اساس آن نیز اثرات ضد عفونی کننده، ضد افسردگی و ضد التهابی دارد [۱۶]. ترکیبات فلاونوئیدی و کومارین‌های عصاره گیاه شاه افسر به عنوان آنتی اکسیدان از عملکرد و تولید استرس‌های اکسیداتیو جلوگیری کرده است [۱۴].

در مدل حیوانی نیز مشخص شد که فرآورده ترکیبی از عصاره گیاه شاه افسر با عصاره گزنه به دلیل کثرت اسیدهای فلاونوئیدی، کومارین، فنلی، آنتراکوئینون، ویتامین K، دی کومارین، کومارین‌های اسکولین و اسکولتین به عنوان ضدالتهاب قوی و محرک سیستم گردش خون و ایمنی می‌تواند در فرایند پیشگیری و درمان سرطان و دیابت در مدل موش مؤثر باشد [۱۷].

در تحقیقات قبلی نشان داده شده که در سیستم عصبی مرکزی، نوروترانسمیترهای مونوآمینی شامل سروتونین، دوپامین

از گذشته تاکنون گیاهان بومی به دلیل امکان سنتز متابولیت‌های ثانویه (ترپنویدها، فنل‌ها و فلاونوئیدها) از اصلی‌ترین منابع غذایی و دارویی برای زندگی بشر بوده و هستند. پلی‌فنول‌های گیاهی و فلاونوئیدها به عنوان آنتی اکسیدان‌های قوی و طبیعی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده آسیب‌های اکسیداتیو در بدن محسوب می‌شوند که به وسیله غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد وقتی به لیپیدها و غذاهای حاوی لیپید اضافه می‌شوند، می‌توانند عمر مفید آن‌ها را به وسیله به تأخیر انداختن فرایند پراکسیداسیون لیپید افزایش دهند و با جلوگیری از تخریب موادغذایی، نقش مهمی در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های شایع امروزی که بیشتر مربوط به تغییر شیوه زندگی، افزایش سن و خصوصاً افزایش ارتباط به تشکیل گونه‌های اکسیژنی واکنش‌گر و پراکسیداسیون لیپید مربوط است، ایفا می‌کنند. به همین دلیل استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی در مواد غذایی به عنوان مواد ضد سرطان و ضد افسردگی مورد توجه بیشتری قرار گرفته است [۱۱، ۱۴].

در مطالعه حاضر، برای بررسی اثرات ضد افسردگی و ضد اضطرابی عصاره الکلی گیاه شاه افسر به اهمیت این گیاه به عنوان گیاه دارویی با خواص آنتی اکسیدانی و ضد اضطراب و افسردگی اشاره شد. در هر دو آزمون رفتاری معلق ماندن دم و تست شنای اجباری، رزپین مدت زمان بی‌حرکتی را به‌طور معناداری افزایش داد.

عصاره در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مدت زمان بی‌حرکتی را به‌طور معناداری کاهش داد. رزپین ظرفیت آنتی اکسیدان مغز را کاهش و سطح مالون دی‌آلدهید مغز را به‌طور معناداری افزایش داد که با نتایج مطالعات قبلی هم‌خوانی داشت. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در موش‌های مسموم‌شده با رزپین عصاره الکلی شاه افسر، به خصوص در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای اثرات آنتی اکسیدانی بوده که می‌تواند به خاصیت ضد افسردگی منجر شود.

تزریق رزپین با افزایش معنادار مدت زمان بی‌حرکتی باعث القای افسردگی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی می‌شود. در این تحقیق تزریق فلوکستین، میانگین زمان بی‌حرکتی را به‌طور معناداری در موش‌های رزپینه‌تقلیل داد. فلوکستین به عنوان یک داروی تخصصی ضد افسردگی از دسته داروهای SSRI سازوکار اصلی آن در مغز علاوه بر افزایش سطوح خارج سلولی سروتونین موجب افزایش سطوح خارج سلولی نورآدرنالین و دوپامین نیز می‌شود که این مشاهدات با تحقیقات قبلی در رابطه با اثرات ایجاد افسردگی توسط رزپین هم‌خوانی دارد.

رزپین یک آلکالوئید گیاهی است که اثر مهاری بر بازجذب مونوآمین‌ها داشته و باعث تخلیه نوروترانسمیترهای مونوآمینی در مغز حیوانات آزمایشگاهی و ایجاد یک سندرم شبه افسردگی می‌شود [۱۱].

## مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

## تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

و نورآدرنالین نقش تعیین‌کننده‌ای در پاتوفیزیولوژی افسردگی ایفا می‌کنند. عوامل دیگری، به‌ویژه استرس اکسیداتیو در بروز افسردگی نقش اساسی دارند [۱۸].

در مطالعات دیگری تزریق رزپین باعث افزایش مدت زمان بی‌حرکتی در تست شنای اجباری و القای افسردگی و همچنین موجب افزایش مالون دی‌آلدهید در مغز موش‌ها شده است [۱۹].

## نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد رزپین زمان بی‌حرکتی را در آزمون‌های رفتاری شنای اجباری و معلق ماندن دم به‌طور معناداری افزایش داد. دز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره در مقایسه با کنترل منفی زمان بی‌حرکتی را در آزمون شنای اجباری به‌طور معناداری کاهش داد ( $P=0/001$ ). در آزمون معلق ماندن دم، دز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره در مقایسه با کنترل منفی افزایش معنادار نشان داد ( $P=0/001$ ).

دز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را در مقایسه با کنترل منفی به‌طور معناداری افزایش داد ( $P<0/01$ ). دز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ظرفیت مالون دی‌آلدهید مغز را در مقایسه با کنترل منفی به‌طور معناداری کاهش داد ( $P=0/001$ ).

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد عصاره الکلی گیاه شاه افسر در افسردگی ایجادشده با تجویز رزپین در موش‌های سوری اثرات ضد افسردگی دارد که احتمالاً این اثرات را به واسطه داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و مواد مؤثره مفید از خود نشان می‌دهد که نیازمند تحقیقات گسترده و عمیق بیشتری است. احتمالاً می‌توان با مطالعات بیشتر در آینده از عصاره گیاه شاه افسر به عنوان دارو و مکمل غذایی برای درمان افسردگی و علائم مشابه استفاده کرد.

## ملاحظات اخلاقی

## پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه توسط کمیته اخلاق زیستی دانشگاه پیام نور با کد اخلاق IR.PNU.REC.1400.273 تصویب شد.

## حامی مالی

این پژوهش هیچ‌گونه کمک مالی از سازمان‌های دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

## References

- [1] Jaisoorya TS, Bhaskarapillai B, Manoj L, Sunil Kumar G, Gokul GR, Thennarasu K. Risk estimates of anxiety and depressive disorders among primary care patients with chronic medical illness - A Indian study. *Asian Journal of Psychiatry*. 2022; 74:103190. [DOI:10.1016/j.ajp.2022.103190] [PMID]
- [2] Brailovskaia J, Margraf J. The relationship between burden caused by coronavirus (COVID-19), addictive social media use, sense of control and anxiety. *Computers in Human Behavior*. 2021; 119:106720. [DOI:10.1016/j.chb.2021.106720] [PMID]
- [3] Mohammadi M, Vaisi-Raygani A, Jalali R, Ghobadi A, Salari N. [Prevalence of depression in soldiers of Iranian military centers: A meta-analysis (Persian)]. *Ebnesina*. 2020; 21(4):34-40. [Link]
- [4] Al-Snafi AE. Chemical constituents and pharmacological effects of *Melilotus officinalis*-A review. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 2019; 11(6):1-10. [DOI:10.22159/ijcpr.2019v11i6.36338]
- [5] Ilhan M, Ali Z, Khan IA, Küpeli Akkol E. A new isoflavane-4-ol derivative from *Melilotus officinalis* (L.) Pall. *Natural Product Research*. 2019; 33(13):1856-61. [DOI:10.1080/14786419.2018.1477152] [PMID]
- [6] Stefanović OD, Tešić JD, Čomić LR. *Melilotus albus* and *Dorycnium herbaceum* extracts as source of phenolic compounds and their antimicrobial, antibiofilm, and antioxidant potentials. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2015; 23(3):417-24. [DOI:10.1016/j.jfda.2015.01.003] [PMID]
- [7] Mahdian Dehkordi F, Kaboutari J, Zendeheel M, Javdani M. The antinociceptive effect of artemisinin on the inflammatory pain and role of GABAergic and opioidergic systems. *The Korean Journal of Pain*. 2019; 32(3):160-7. [DOI:10.3344/kjp.2019.32.3.160] [PMID]
- [8] Rashidi A, Jahandideh A, Hassanpour S, Asghari A. Anti-nociceptive mechanisms of *Melilotus officinalis* linn. Ethanoic extract in mice: Involvement of opioidergic, nitrenergic and muscarinic receptors. *Journal of Basic and Clinical Pathophysiology*. 2020; 8(2):7-14. [DOI:10.22070/jbcp.2020.13683.1136]
- [9] Matraszek-Gawron R, Chwil M, Terlecka P, Skoczylas MM. Recent studies on anti-depressant bioactive substances in selected species from the genera *hemerocallis* and *gladiolus*: A systematic review. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*. 2019; 12(4):172. [DOI:10.3390/ph12040172] [PMID]
- [10] Lori-Gooini Z, Rabiei Z, Farhadi B, Bijad E, Azomon E, Rafieian-M, et al. [Investigation of chemical compounds and effects of *Achillea wilhelmsii* L essential oil on antioxidant and malondialdehyde levels of serum and brains of reserpined mice (Persian)]. *Iranian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2018; 2(3):166-76. [Link]
- [11] Ikram H, Haleem DJ. Repeated treatment with reserpine as a progressive animal model of depression. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017; 30(3):897-902. [PMID]
- [12] Salehi B, Gültekin-Özgüven M, Kirkin C, Özçelik B, Morais-Braga MFB, Carneiro JNP, et al. Antioxidant, antimicrobial, and anticancer effects of anacardium plants: An ethnopharmacological perspective. *Frontiers in Endocrinology*. 2020; 11:295. [DOI:10.3389/fendo.2020.00295] [PMID]
- [13] Zarghami Moghadd P, Zolfaghari MR, Allah Ghaemi E, Mazandarani M, Mansourian AR, Taheri SA. Negative performance of root extract of *Onosma dichroanthum* Boiss. on the burn wound healing in an animal model. *Archives of Clinical Microbiology*. 2011; 2(5):1-5. [DOI: 10.3823/238]
- [14] Rehman MU, Qureshi A, Baloch, MM. Extraction of hydroxyapatite from caprine bones and its anti-bacterial study. *Mehran University Research Journal of Engineering and Technology*. 2021; 40(4):867-73. [DOI:10.22581/muet1982.2104.16]
- [15] Mazandarani M, Makari S, Bajian GR, Zarghami MP, ABRODI M. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *heracleum gorganicum* Rech. F. in Golestan Province of Iran. *Iranian Journal of Plant Physiology*. 2012; 2(2):381-6. [DOI: 10.30495/ijpp.2012.540771]
- [16] Abdollahi M, Farzamfar B, Salari P, Khoram Khorshid HR, Larijani B, Farhadi M, et al. Evaluation of acute and sub-chronic toxicity of Semelil (ANGIPARSTM), a new phytotherapeutic drug for wound healing in rodents. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008; 16(1):7-14. [Link]
- [17] Hillhouse TM, Porter JH. A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*. 2015; 23(1):1-21. [DOI:10.1037/a0038550] [PMID]
- [18] Baek SE, Lee GJ, Rhee CK, Rho DY, Kim DH, Huh S, et al. Decreased total antioxidant activity in major depressive disorder patients non-responsive to antidepressant treatment. *Psychiatry Investigation*. 2016; 13(2):222-6. [DOI:10.4306/pi.2016.13.2.222] [PMID]
- [19] Rabiei Z, Movahedi E, Rafieian Kopaei M, Lorigooini Z. [Anti-depressant effects of *trifolium pratense* hydroalcoholic extract in mice (Persian)]. *Iranian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2018; 2(1):24-33. [Link]

This Page Intentionally Left Blank