

بررسی اثر رزمارینیکاسید بر افسردگی توسط آزمون‌های شنای اجباری و آویزان کردن از دم در مدل موش کوچک آزمایشگاهی در مقایسه با سیتالوپرام

چکیده:

داروهای ضدافسردگی رایج دارای عوارض گوناگون و گاه جدی می‌باشند که می‌توانند سبب عدم تحمل و قطع خودسرانه مصرف دارو از سوی بیمار شوند. در این تحقیق اثرات ضدافسردگی رزمارینیکاسید در موش‌های سوری به کمک آزمون شنای اجباری (FST) و آزمون آویزان کردن از دم (TST) بررسی شد. **روش کار:** به این منظور تزریق داخل صفاقی رزمارینیکاسید با دوزهای ۵۰، ۲۰، ۱۰ mg/kg و ۵ mg/kg در ۵ گروه از موش‌ها و همچنین گاواژ سوسپانسیون سیتالوپرام با دوزهای ۱۵ mg/kg در ۲ گروه و تزریق نرمال‌سالین در گروه کنترل به مدت ۷ روز انجام و سپس آزمون‌های FST و TST انجام شد. میانگین $\pm$ خطای استاندارد داده‌های بدست آمده از هر گروه بطور جداگانه با یکدیگر توسط آزمون ANOVA یک طرفه تجزیه و تحلیل شده و در هر تست مقدار $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. **یافته‌ها:** رزمارینیکاسید در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ mg/kg در هر دو آزمون FST و TST دارای اثرات ضدافسردگی معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین بود ($P < 0.05$) و همچنین در گروه دریافت‌کننده سیتالوپرام ۱۵ mg/kg به همراه ۵۰ mg/kg رزمارینیکاسید تفاوت معنی‌داری در اثرات ضدافسردگی در مقایسه با گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین مشاهده گردید ($P < 0.01$). دوز ۵۰ mg/kg رزمارینیکاسید اثرات ضدافسردگی قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل نداشت. **نتیجه‌گیری:** یافته‌ها حاکی از آن است که رزمارینیکاسید در دوزهای کم و متوسط دارای اثرات مشهود و قابل توجه ضدافسردگی در مقایسه با گروه کنترل نرمال‌سالین بوده اما برتری مشهودی در مقایسه با سیتالوپرام ندارد. در دوز بالای رزمارینیکاسید اثر ضدافسردگی مشاهده نگردید که می‌تواند از غلبه اثرات آرامبخش آن نشأت گرفته باشد. لذا می‌توان نتیجه گرفت که اثرات ضدافسردگی این ماده، وابسته به دوز نبوده و از منحنی دوز-پاسخ U شکل پیروی می‌کند. **واژگان کلیدی:** رزمارینیکاسید، موش سوری، افسردگی، سیتالوپرام، Forced Tail Suspension Test، Swimming test.

حسن امانپور^۱، مهدی صابری^۲،
فاطمه سالم^۲، مهدی مشهدی اکبربوجار^{۲*}

^۱ کمیته تحقیقات و فناوری دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

^۲ گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران.

* نشانی نویسنده مسئول:

تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، دانشکده داروسازی

نشانی الکترونیک:

mahdimashhadi@yahoo.com

مقدمه:

افسردگی یک بیماری رایج ناتوان کننده و خطرناک می باشد که زندگی شخص و رفتار او را متأثر می کند و بسیاری از مردم در اقصی نقاط دنیا (بیش از ۳۵۰ میلیون نفر) از آن رنج می برند (۱). داروهای ضدافسردگی سه حلقه ای مانند آمی تریپتیلین و همچنین مهارکننده های انتخابی بازجذب سروتونین نظیر سیتالوپرام، پرکاربردترین داروهای ضدافسردگی در درمان این بیماری اند که عوارض شناخته شده بسیاری به ویژه اثرات ضد موسکاربینی، افت فشار خون وضعیتی، اختلالات خواب، دیس ریتمی قلبی و اختلالات جنسی به همراه دارند (۲ و ۳). با توجه به عوارض جانبی متعدد داروهای رایج ضدافسردگی که می توانند موجب قطع مصرف دارو توسط بیمار شوند و همچنین هزینه های گزاف برای تهیه آنها، محققان در پی یافتن داروهای جدیدی در زمینه درمان این بیماری هستند تا پذیرش بهتر و عوارض کمتری نسبت به داروهای موجود داشته باشند (۴ و ۵).

گیاهان دارویی و داروهای مشتق شده از آنها از دیرباز به عنوان منابع مهم درمانی به وسیله بشر شناخته شده اند. امروزه نیز با توجه به پذیرش بهتر و سهولت دسترسی به این داروها، تمرکز زیادی بر استفاده و تحقیق در مورد خواص آنها خصوصاً در درمان افسردگی وجود دارد (۶). گیاهان، غنی از متابولیت های ثانویه و فیتوشیمیایی هستند که از هر دو منابع غذایی و دارویی به دست می آیند (۷). در این میان، شناسایی و بررسی اثرات اجزای شیمیایی اصلی و مؤثر گیاهان در بروز این اثرات، تلاش برای جداسازی و تقویت آنها از طریق انجام مطالعات ساختمان - اثر، فرمولاسیون بهینه و به کارگیری روش های تجویز مناسب، اهمیت اساسی دارد. بدیهی است که

آشنایی با مکانیسم های مولکولی دخیل در عملکرد اجزای مؤثر آنها نیز به این روند کمک بسزایی خواهد کرد (۸ و ۹).

رزماری نیک اسید به عنوان یک ترکیب خالص فنولی (استر متشکل از کافئیک اسید و ۳ و ۴- دی هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید) از گیاه رزماری و اغلب گیاهان خانواده Boraginaceae و زیر خانواده Nepetoideae و همچنین پوست سیب جدا شده است (۱۰). این ترکیب به جهت دارا بودن خواص زیستی متعدد مانند اثر ضد ویروسی و ضد باکتریایی، اثر ضد تب و ضد التهاب، خصلت آنتی اکسیدانی و ضد اضطراب در مطالعات فارماکولوژیک مختلف مورد توجه بوده است (۱۱). مطالعه حیوانی صورت گرفته توسط Jin و همکاران نشان داده است که اثرات افزایش دهنده بیان BDNF توسط رزماری نیک اسید در رت می تواند در درمان افسردگی کمک کننده باشد (۱۲). اثرات ضد اضطراب رزماری نیک اسید در دوزهای مختلف بصورت متفاوت بروز می کند، به طوری که منحنی دوز - پاسخ آن در این مورد U شکل خواهد بود و دوزهای بالای آن (۸ mg/kg) در موش اثرات محرک روانی داشته است (۱۳ و ۱۴).

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ضدافسردگی رزماری نیک اسید در موش کوچک آزمایشگاهی با دو آزمون شنای اجباری (FST) و آویزان کردن از دم (TST) در مقایسه با سیتالوپرام خواهد بود.

مواد و روش ها

وسایل و مواد شیمیایی

وسایل و مواد بکار رفته در این پژوهش شامل: ماده استاندارد رزماری نیک اسید با خلوص بالای ۹۰ درصد

جدول ۱. دوز دریافتی گروه‌های مطالعه

گروه	Control	Sham	۱	۲	۳	۴	۵	۶
دوز	1ml	-	0.5ml RA	0.25ml RA	0.125ml	0.05ml	0.05ml	0.05ml
داروی	solvent		(50mg/kg)	(20mg/kg)	RA	RA	Citalopram	Citalopram
دریافتی					(10mg/kg)	(5mg/kg)	(15mg/kg)	(15mg/kg)
								+ 0.5ml RA
								(50mg/kg)

*RA: Rosmarinic acid

دوزهای رزمارینیک اسید از حدود 0.1LD₅₀ آغاز شده (گروه ۱) و در هر گروه دوزها به نصف کاهش داده شد تا زمانی که دیگر اثر ضدافسردگی مشاهده نگردید (گروه ۵) (۱۶ و ۱۷).

آزمون‌های ارزیابی افسردگی

آزمون شنای اجباری (Forced swimming test, FST)

در این آزمون زمان بی‌حرکتی (Immobility time) معادل افسردگی و کاهش آن به عنوان اثر ضدافسردگی در نظر گرفته می‌شود. موش‌ها بعد از تزریق یا گاوژ دارو، به طور جداگانه در ظرفی به ابعاد ۸×۱۲×۲۵ سانتی‌متر که حاوی آب با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد، قرار داده شدند. به صورت قراردادی، قطع حرکات دست و پا به عنوان زمان بی‌حرکتی در نظر گرفته شد. کل آزمون ۶ دقیقه بوده که ۲ دقیقه اول برای تطابق حیوان با محیط در نظر گرفته شد و در ۴ دقیقه بعد نیز زمان بی‌حرکتی ثبت گردید (۱۸).

رفتار شناکردن (Swimming) توسط کورنومتر با حرکات دورانی حیوان در استوانه شیشه‌ای برحسب ثانیه ثبت و ضبط گردید. رفتار صعود (Climbing) نیز همان صعود حیوان از دیواره‌های استوانه بود که توسط کورنومتر و بر حسب ثانیه ثبت شد (۱۹).

خریداری شده از شرکت سیگما-آلدیش (آمریکا)، سیتالوپرام هیدروبروماید خریداری شده از شرکت داروسازی سبحان‌دارو (ایران)، سرنگ انسولین، قفس‌های نگهداری حیوانات با اندازه ۱۳×۱۳/۵×۲۴ سانتی‌متر ساخت شرکت تجهیز گستر امید ایرانیان، ترازوی دیجیتال ساخت شرکت نوآوران تجهیز ایران بود.

جمعیت (حیوانات) مورد آزمایش

برای انجام این تحقیق از موش‌های سفید سوری نر از نژاد NMRI در محدوده وزنی ۲۰-۳۰ گرم استفاده شد. موش‌های مورد استفاده از حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) تهیه و در آزمایشگاه فارماکولوژی دانشکده داروسازی نگهداری شدند. حیوانات در ۸ گروه ۶تایی در قفس‌های مخصوص نگهداری و موش‌ها پیش از آزمایش توزین شدند. لازم به ذکر است تمام آزمایش‌ها در طول دوره روشنایی انجام گرفت.

مطابق با مطالعات مشابه قبلی که با آزمون FST انجام گرفته‌است (۱۵)، آزمایش در ۸ گروه که در هر گروه، ۶ موش سوری نر جهت انجام آزمایش وجود داشت، انجام گرفت. موش‌های سوری تحت تزریق داخل صفاقی رزمارینیک‌اسید و گاوژ سیتالوپرام قرار گرفتند. تزریقات داخل صفاقی و گاوژ به شرح جدول ۱ بود.

آزمون معلق ماندن از دم (Tail suspension test, TST)

از این آزمون به عنوان تستی تکمیلی از آزمون FST استفاده شد، بدین صورت که از پایه‌های فلزی به ارتفاع ۷۰ سانتی‌متر دم موش توسط یک تکه چسب کاغذی تثبیت گردید. سپس آزمون با یک حرکت شدید موش آغاز شده و بدنبال آن موش که از دم آویخته شده کاملاً بی‌حرکت، غیرفعال و بدون عکس‌العمل گردید. زمان بی‌حرکتی با کرنومتر به مدت ۴ دقیقه ثبت شد و کل زمان معلق بودن ۶ دقیقه بوده و زمانی که حیوان هیچ حرکتی از خود نشان ندهد به کمک کرنومتر ثبت گردید (۲۰).

گروه‌های آزمایش**گروه ۱: گروه اول رزمارینیک‌اسید یا بیشینه دوز رزمارینیک‌اسید**

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه ۵۰ mg/kg رزمارینیک‌اسید به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۲: گروه دوم رزمارینیک‌اسید

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه ۲۰ mg/kg رزمارینیک‌اسید به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۳: گروه سوم رزمارینیک‌اسید

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه ۱۰ mg/kg رزمارینیک‌اسید به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۴: گروه چهارم رزمارینیک‌اسید یا کمینه دوز رزمارینیک‌اسید

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه ۵ mg/kg رزمارینیک‌اسید به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۵: گروه سیتالوپرام یا کنترل مثبت

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه ۱۵ mg/kg سیتالوپرام (سوسپانسیون) به صورت خوراکی (گاواژ) دریافت کردند.

گروه ۶: گروه ترکیب سیتالوپرام و بیشینه دوز رزمارینیک‌اسید (Mix)

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه ۵۰ mg/kg رزمارینیک‌اسید به صورت داخل صفاقی و به علاوه ۱۵ mg/kg سیتالوپرام (سوسپانسیون) به صورت خوراکی (گاواژ) دریافت کردند.

گروه ۷: گروه شم (Sham)

تعداد ۶ موش سوری نر نژاد NMRI بدون مداخله خاصی در آزمون‌ها شرکت داده شدند و تمام سایر شرایط نگهداری آنها با سایر گروه‌ها یکسان بوده‌است.

گروه ۸: گروه کنترل دریافت‌کننده نرمال سالین یا شاهد

تعداد ۶ موش سوری نر نژاد NMRI به مدت ۷ روز، روزانه ۱ ml نرمال سالین به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

تجزیه و تحلیل آماری

تمام داده‌ها بصورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (SE) از موش‌های مورد آزمایش در هر گروه بیان شد و برای تجزیه و تحلیل آماری نیز از آزمون واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) با post hoc LSD استفاده شد.

در این مطالعه از برنامه SPSS نسخه ۲۴ و Microsoft Excel 2016 جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و ترسیم نمودارها استفاده گردید و در هر مورد ارزش P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار محسوب گردید.

ملاحظات اخلاقی

دسترسی آزادانه و مداوم حیوانات به آب و غذا، دوره ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت مناسب از آغاز تا پایان آزمایشات رعایت شد. تعداد حیوانات در هر قفس حدود ۱۰ عدد و سایر پروتکل‌های اخلاقی مصوب کمیته اخلاق دانشگاه

تأثیر دوزهای مختلف رزمارینیک اسید بر مدت زمان شناکردن در آزمون شنای اجباری

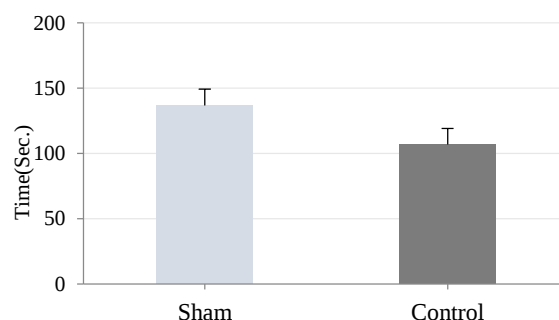
نتایج این مطالعه نشان داد که دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ mg/kg رزمارینیک اسید در مقایسه با گروه کنترل به شکل معنی داری سبب افزایش مدت زمان شناکردن می شوند ($P < 0.01$). اما این سه دوز در مقایسه با یکدیگر و نیز در مقایسه با گروه دریافت کننده ۱۵ mg/kg سیتالوپرام، تفاوت معنی داری در افزایش مدت زمان شناکردن در آزمون شنای اجباری نداشته اند. دوز ۵۰ میلی گرم رزمارینیک اسید به همراه سیتالوپرام ۱۵ mg/kg نیز توانست بصورت معنی داری مدت زمان شناکردن را در مقایسه با گروه کنترل افزایش دهد ($P < 0.05$). اما در مقایسه با گروه دریافت کننده ۱۵ mg/kg سیتالوپرام و نیز دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ mg/kg و حتی دوز ۵۰ mg/kg رزمارینیک اسید تفاوت معنی داری در مدت زمان شناکردن ایجاد نکرد. همچنین نتایج نشان داد دوز ۵۰ mg/kg رزمارینیک اسید سبب افزایش معنی داری در مدت زمان شناکردن در مقایسه با گروه کنترل نگردید اما در مقایسه با گروه های دریافت کننده دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ mg/kg رزمارینیک اسید ($P < 0.01$) و همچنین گروه دریافت کننده ۱۵ mg/kg سیتالوپرام ($P < 0.05$) دارای تفاوت معنی داری در مدت زمان شناکردن بود. در گروه های دریافت کننده رزمارینیک اسید به همراه سیتالوپرام، تفاوت معنی داری در مقایسه با گروه دریافت کننده سیتالوپرام و یا اثر هم افزایی مشاهده نگردید. (نمودار ۲).

بقیه ا. (عج) در نگهداری و حمل و نقل حیوانات رعایت شد. این طرح با کد اخلاقی IR.BMSU.REC.1398.345 مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا. (عج) قرار گرفته است.

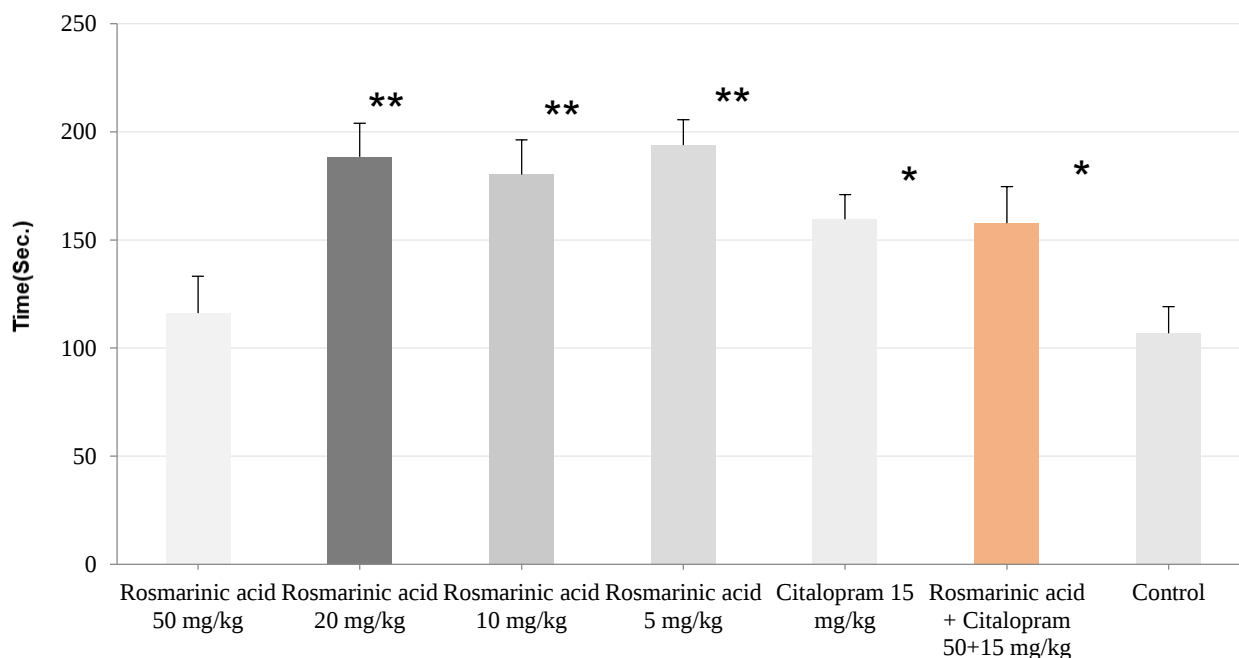
نتایج

مقایسه گروه کنترل دریافت کننده نرمال سالین و گروه شم از نظر مدت زمان شناکردن در آزمون شنای اجباری

نتایج مطالعه حال حاضر نشان داد که گروه کنترل نرمال سالین (دریافت روزانه ۱ میلی لیتر نرمال سالین درون صفاقی به مدت ۷ روز) در مقایسه با گروه شم در زمان شناکردن تفاوت معنی داری ندارند (نمودار ۱). از این رو در مقایسه ها تنها گروه کنترل دریافت کننده نرمال سالین، ملاک خواهد بود و از گروه شم صرف نظر گردید.



نمودار ۱. مقایسه مدت زمان شناکردن با استفاده از تست شنای اجباری در طی ۶ دقیقه در گروه کنترل دریافت کننده یک میلی لیتر نرمال سالین داخل صفاقی بطور روزانه و گروه شم در موش کوچک آزمایشگاهی نر. نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SE}$ بیان شده است.



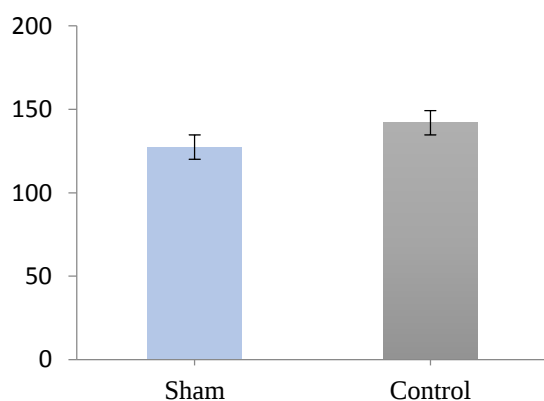
نمودار ۲. مقایسه دوزهای مختلف رزمارینیک اسید داخل صفاقی بطور روزانه و رزمارینیک اسید به همراه سیتالوپرام خوراکی بطور روزانه بر مدت زمان شناکردن با استفاده از آزمون شنای اجباری در موش کوچک آزمایشگاهی نر (n=6) در مدت زمان ۶ دقیقه. داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SE}$ بیان شده‌اند. * و ** به ترتیب، $P < 0.05$ و $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل مثبت و دریافت‌کننده نرمال‌سالین.

مقایسه گروه کنترل دریافت‌کننده نرمال‌سالین و

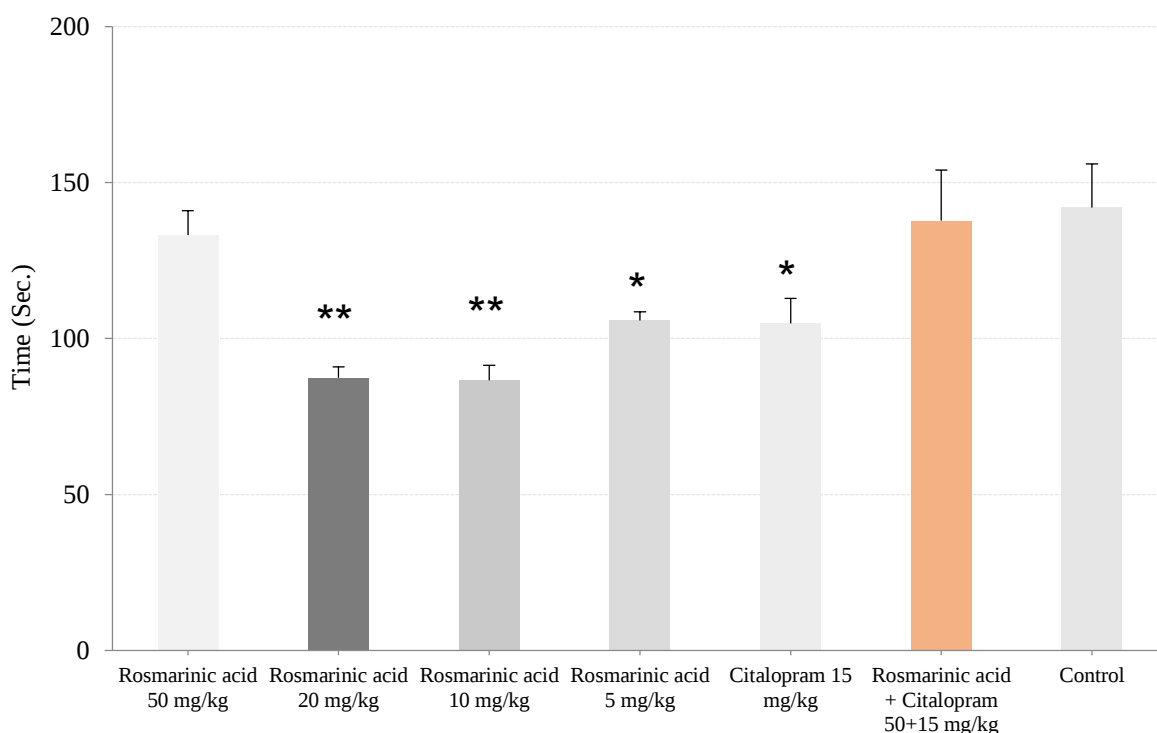
گروه شم از نظر مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون

آویزان کردن از دم

نتایج مطالعه حال حاضر نشان داد که گروه کنترل دریافت‌کننده نرمال‌سالین (دریافت روزانه ۱ میلی‌لیتر نرمال‌سالین درون صفاقی به مدت ۷ روز) در مقایسه با گروه شم در مدت زمان بی‌حرکتی تفاوت معناداری ندارند (نمودار ۳). از این رو در مقایسه‌ها تنها گروه کنترل دریافت‌کننده نرمال‌سالین مدنظر قرار گرفت و از گروه شم صرف نظر گردید.



نمودار ۳. مقایسه مدت‌زمان بی‌حرکتی با استفاده از آزمون آویزان کردن از دم در طی ۶ دقیقه در گروه کنترل دریافت‌کننده یک میلی‌لیتر نرمال‌سالین داخل صفاقی بطور روزانه و گروه شم در موش کوچک آزمایشگاهی نر. نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SE}$ بیان شده است.



نمودار ۴. مقایسه دوزهای مختلف رزمارینیک اسید و رزمارینیک اسید به علاوه سیتالوپرام خوراکی بر مدت زمان بی حرکتی با استفاده از تست آویزان کردن از دم در موش کوچک آزمایشگاهی نر در مدت زمان ۶ دقیقه ($n=6$).
* و ** به ترتیب نشانگر $P<0.05$ و $P<0.01$ در مقایسه با گروه کنترل مثبت و دریافت کننده نرمال سالین به شکل $\text{Mean} \pm \text{SE}$ بیان شده است.

تأثیر دوزهای مختلف رزمارینیک اسید بر مدت زمان بی حرکتی در تست آویزان کردن از دم

نتایج این مطالعه نشان داد که دوزهای ۱۰ و ۲۰ mg/kg رزمارینیک اسید در مقایسه با گروه کنترل به شکل معنی داری سبب کاهش مدت زمان بی حرکتی در تست آویزان کردن از دم می شوند ($P<0.01$) اما این سه دوز در مقایسه با یکدیگر و نیز در مقایسه با گروه دریافت کننده ۱۵ mg/kg سیتالوپرام، تفاوت معنی داری در کاهش مدت زمان بی حرکتی در این آزمون نداشته اند. دوز ۵۰ mg/kg رزمارینیک اسید به همراه سیتالوپرام خوراکی با دوز ۱۵ mg/kg نیز توانست بصورت معناداری مدت زمان

بی حرکتی را در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد ($P<0.05$)، اما در مقایسه با گروه دریافت کننده ۱۵ mg/kg سیتالوپرام خوراکی و نیز دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ mg/kg و حتی دوز ۵۰ mg/kg رزمارینیک اسید تفاوت معنی داری در مدت زمان بی حرکتی ایجاد نکرد. همچنین نتایج نشان داد دوز ۵۰ mg/kg رزمارینیک اسید سبب کاهش معنی داری در مدت زمان بی حرکتی در مقایسه با گروه کنترل نگردید اما با گروه های دریافت کننده دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ mg/kg رزمارینیک اسید ($P<0.01$) و همچنین گروه دریافت کننده ۱۵ mg/kg سیتالوپرام ($P<0.05$) دارای تفاوت معنی داری در مدت زمان بی حرکتی بود (نمودار ۴).

بحث و نتیجه گیری

افسردگی و اضطراب شایع‌ترین اختلالات عصبی روانپزشکی هستند که به عنوان یکی از نگرانی‌های بهداشت جهانی در نظر گرفته شده‌اند. داروهای ضد اضطراب و ضد افسردگی مانند بنزودیازپین‌ها، مهارکننده‌های انتخابی باز جذب سروتونین، مهارکننده‌های مونوآمین اکسیداز و داروهای ضد افسردگی سه حلقه‌ای، اولین خط مورد استفاده در درمان اختلالات اضطرابی و افسردگی هستند. البته این داروها در برخی موارد فاقد اثربخشی هستند و زمان پاسخ درمانی آنها تأخیری بوده و علی‌رغم عوارض جانبی متعدد و سوء مصرف گسترده، بازار تجویز و فروش آنها همچنان در حال رشد است (۲۱).

با گذشت زمان، شیوه‌های سنتی استفاده از مواد شیمیایی طبیعی و گیاهی به عنوان درمان‌های جایگزین برای داروهای شیمیایی برای درمان بسیاری از شرایط پاتولوژیک، از جمله اضطراب و دیگر اختلالات روانپزشکی پدیدار شده است. مطالعات پیش بالینی اخیر نشان داده است که ترکیبات فنولی مانند رزمارینیک‌اسید، در درمان اختلالات عصبی-روانی گوناگون از جمله اضطراب و افسردگی مؤثر است. علاوه بر این، رزمارینیک‌اسید در بسیاری از مطالعات اثرات فارماکولوژیک مختلفی از جمله اثرات محافظتی قلبی، کبدی، محافظ ریه، آنتی اکسیدانی، ضد التهاب و درد و محافظت‌کننده عصبی نشان داده است (۲۲-۲۴).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات ماده رزمارینیک‌اسید بر افسردگی در مدل موش کوچک آزمایشگاهی و مقایسه اثرات آن با اثرات سیتالوپرام خوراکی با استفاده از دو

آزمون شنای اجباری و تست آویزان کردن از دم بوده است. در این آزمون‌ها مولفه‌های گوناگونی دخیل هستند که مهمترین آنها عبارتند از فاکتور مورد بررسی (بطور مثال زمان آغاز بی‌حرکتی یا مدت زمان شنا یا صعود و ...) و جنس مدل آزمایشگاهی (موش صحرایی یا موش کوچک آزمایشگاهی) و حتی نژاد آن (موش‌های کوچک سوئیسی، NMRI و ...) و بازه زمانی مورد بررسی (کل زمان آزمون یا چهار دقیقه آخر یا دو دقیقه نخست و ...) و نیز مکانیسم اثر ماده مورد مطالعه که البته هر چهار عامل یاد شده بطور درهم تنیده‌ای با یکدیگر در ارتباطند (۲۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در آزمون شنای اجباری، رزمارینیک‌اسید در دوزهای کم و متوسط بطور روزانه، نسبت به گروه کنترل دریافت‌کننده نرمال‌سالین و گروه سیتالوپرام، مدت زمان شنا کردن را بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد. اما دوز بالای رزمارینیک‌اسید، علی‌رغم انتظار اولیه مبنی بر اثرات مشهود و بارزتر، تفاوت معنی‌داری با گروه سیتالوپرام و نرمال‌سالین نداشت. تجویز روزانه رزمارینیک‌اسید داخل صفاقی در دوزهای کم و متوسط در موش کوچک آزمایشگاهی در چهار دقیقه پایانی آزمون FST، بطور معنی‌داری سبب افزایش مدت زمان شنا کردن در مقایسه با گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین داخل صفاقی گردید.

با این حال این پارامتر در مقایسه با سیتالوپرام که یک مهارکننده انتخابی باز جذب سروتونین (SSRI) است بطور معنی‌داری تغییر نیافت که البته اثر تمامی داروهای ضد افسردگی بر این مولفه مشابه است و هدف از مطالعه

رفتاری و حیوانی مشابه صورت گرفته توسط Takeda و همکاران نشان داد که مشتقات کافئیک اسید از جمله رزمارینیک اسید می‌توانند ناهنجاری‌های عاطفی ناشی از استرس را مهار کنند (۳۲).

درمجموع می‌توان گفت اثرات ضدافسردگی رزمارینیک اسید، وابسته به دوز نبوده و از منحنی دوز-پاسخ U شکل پیروی می‌کند.

پیشنهادهات

۱- برای بررسی دقیق‌تر مکانیسم عمل رزمارینیک‌اسید می‌توان از آنتاگونیست‌های اختصاصی سروتونین و یا دوپامین و یا نوراپی‌نفرین که سبب القای اثرات افسردگی می‌شوند و یا حتی تخلیه‌کننده‌های ذخایر کاتکول‌آمین مانند رزپرین نیز در مطالعاتی مشابه بهره برد.

۳- برای بررسی دقیق‌تر مکانیسم عمل رزمارینیک اسید می‌توان از گروه‌های کنترل دیگر دریافت‌کننده داروهای ضدافسردگی مهارکننده آنزیم مونوآمین‌اکسیداز انتخابی و یا غیر انتخابی بهره برد.

۴- برای بررسی اینکه کدامیک از متابولیت‌های رزمارینیک‌اسید تاثیر ضدافسردگی بهتری دارند و یا اینکه آیا تاثیر ضدافسردگی رزمارینیک‌اسید با تاثیر متابولیت‌های آن تفاوت مشهودی دارد، بهتر است در مطالعاتی مشابه، گروه‌های دریافت‌کننده متابولیت‌های رزمارینیک‌اسید (مانند کافئیک اسید، ۳ و ۴-دی هیدروبنزیلاکتیک اسید، فرولیک اسید، متاکوماریک اسید، پارا-کوماریک اسید، ۳-۰-متیل رزمارینیک‌اسید و حتی سینامیک اسید) مورد بررسی و مقایسه قرار گیرند.

نیز تمایز بین مکانیسم داروها و ماده مورد مطالعه نبوده‌است (۲۶).

در آزمون آویزان کردن از دم نیز نتایج مشابهی مشاهده شد. دوزهای کم و متوسط رزمارینیک‌اسید نسبت به گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین و گروه سیتالوپرام، مدت زمان تحرک و تقلا را بطور معنی‌داری افزایش دادند. اما دوز بالای رزمارینیک‌اسید، با اینکه انتظار می‌رفت اثر مشهود و بارزتری داشته باشد، تفاوت معنی‌داری با گروه سیتالوپرام و نرمال‌سالین نداشت. به تازگی، مطالعه رفتاری Yu و همکاران نشان داده است که رزمارینیک اسید می‌تواند به طور موثر رفتارهای حاصل از آسیب عصبی ناشی از التهاب عصبی را کاهش دهد و اثرات محافظتی آن از مسیر پیام‌رسانی Nrf2، که استرس اکسیداتیو سلولی، التهاب، آسیب عملکرد تنفسی میتوکندری و عدم تعادل اتوفاژی را کاهش می‌دهد، حاصل می‌شود (۲۷).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد اثرات ضدافسردگی رزمارینیک‌اسید در دوز کم و متوسط طی تجویز داخل صفاقی و بطور روزانه در موش کوچک آزمایشگاهی با سیتالوپرام قابل توجه و مشهود است. البته در این مدل دوزهای بالای رزمارینیک‌اسید اثر ضدافسردگی نداشت. با توجه به یافته‌های قبلی، این ماده بر سیستم گابائریک و گیرنده‌های آدنوزین اثرات تقویت‌کننده داشته و خواب‌آوری و آرام‌بخشی حاصل از آن در دوزهای بالا، احتمالاً بر مولفه‌هایی که بیانگر اثرات ضدافسردگی آن هستند، غلبه کرده و از این رو اثر مشهود ضدافسردگی در این دوزها مشاهده نگردیده است (۳۰ و ۳۱). مطالعه

۵- برای بررسی تفاوت اثر ایزومرهای فضایی مختلف رزمارینیک اسید می‌توان ایزومر $R-(+)$ و نیز $S-(-)$ این ماده و یا حتی ایزومر E و Z (سیس و ترانس نسبت به پیوند دوگانه در قسمت مولد کافئیک اسید) بطور جداگانه مورد بررسی قرار گیرند.

قدردانی و تشکر

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا. (عج) به دلیل حمایت مالی جهت انجام این مطالعه در قالب پایان نامه دوره دکتری عمومی داروسازی تشکر و قدردانی می‌شود.

- 1- Massart R MR, Lanfumey L. Beyond the monoaminergic hypothesis: Neuroplasticity and epigenetic changes in a transgenic mouse model of depression. *Philos. Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2012; 367(1601): 2485-94.
- 2- Tripathi Adarsh AA, Avinash Desousa, Dipesh Bhagabati, Nilesh Shah, Roy Abraham Kallivayalil. Prescription pattern of antidepressants in five tertiary care psychiatric centres of India. *Indian J Med Res* 2016; 143(4): 507-13.
- 3- Edinoff AN, Akuly HA, Hanna TA, Ochoa CO, Patti SJ, Ghaffar YA, et al. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Adverse Effects: A Narrative Review. *Neurology International*. 2021;13(3):387-401.
- 4- Luo L, Nong Wang, J., Kong, L.D., Jiang, Q.G., Tan, R.X., 2000. Antidepressant effects of Banxia Houpu decoction, a traditional Chinese medicinal empirical formula. *J. Ethnopharmacol.* 73, 277–281. 23(9): 1336-8.
- 5- Fishback JA RM, Xu YT, Matsumoto RR. Sigma receptors: potential targets for a new class of antidepressant drug. *Pharmacology & therapeutics*. 2010;127(3):271-82.
- 6- Yeung KS, Hernandez M, Mao JJ, Haviland I, Gubili J. Herbal medicine for depression and anxiety: A systematic review with assessment of potential psycho-oncologic relevance. *Phytotherapy Research*. 2018;32(5):865-91.
- 7- Rawat D SS, Naik RA, Chhonker SK, Mehrotra A, Koiri RK. An overview of natural plant products in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Anticancer Agents Med Chem*; 2018.
- 8- Amawi H ACJ, Tiwari AK. Cancer chemoprevention through dietary flavonoids: What's limiting? *Chin J Cancer*; 2017. 19: 50.
- 9- Wang Y, Shi YH, Xu Z, Fu H, Zeng H, Zheng GQ. Efficacy and safety of Chinese herbal medicine for depression: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of psychiatric research*. 2019;117:74-91.
- 10- Luo C, Zou L, Sun H, Peng J, Gao C, Bao L, Ji R, Jin Y, Sun S. A review of the anti-inflammatory effects of rosmarinic acid on inflammatory diseases. *Frontiers in pharmacology*. 2020;11:153.
- 11- Amoah SK SL, Kratz JM, Biavatti MW. Rosmarinic acid—pharmaceutical and clinical aspects. *Planta medica*. 2016 Mar;82(05):388-406.
- 12- Jin X LP, Yang F, Zhang YH, Miao D. Rosmarinic acid ameliorates depressive-like behaviors in a rat model of CUS and Up-regulates BDNF levels in the hippocampus and hippocampal-derived astrocytes. *Neurochemical research*. 2013;38(9):1828-37.
- 13- Pereira P TD, Oliveira P, da Silva Brum FL, Nascimento Picada J, Ardenghi P. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. *Pharmacol Res* 2005;52: 199-203.
- 14- Takeda H TM, Inazu M, Egashira T, Matsumiya T. Rosmarinic acid and caffeic acid produce antidepressant-like effect in the forced swimming test in mice. *Eur J Pharmacol* 2002; 449: 261-7.
- 15- Abbasi MS, Bekhradi R, Asgharpanah J, Abbasi MF, Maleki AN. Antidepressant effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Lavandula officinalis* in forced swim test and tail suspension test in male mice. *Arak Medical University Journal*. 2013; 16(9).
- 16- Baranauskaite J, Sadauskiene I, Liekis A, Kasauskas A, Lazauskas R, et al. Natural compounds rosmarinic acid and carvacrol counteract aluminium-induced oxidative stress. *Molecules*. 2020;25(8):1807.
- 17- Grigoletto J, de Oliveira CV, Grauncke AC, de Souza TL, Souto NS, de Freitas ML, et al. Rosmarinic acid is anticonvulsant against seizures induced by pentylenetetrazol and pilocarpine in mice. *Epilepsy & Behavior*. 2016;62:27-34.
- 18- Can A, Dao DT, Arad M, Terrillion CE, Piantadosi SC, Gould TD. The mouse forced swim test. *Journal of Visualized Experiments*. 2012; 29(59):e3638.
- 19- Costa AP, Vieira C, Bohner LO, Silva CF, da Silva Santos EC, et al. A proposal for refining the forced swim test in Swiss mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2013;45:150-5
- 20- Can A, Dao DT, Terrillion CE, Piantadosi SC, Bhat S, Gould TD. The tail suspension test. *Journal of Visualized Experiments*. 2012; 28(59):e3769.
- 21- Lawrence PJ, Murayama K, Creswell C. Systematic review and meta-analysis: anxiety and depressive disorders in offspring of parents with anxiety disorders. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. 2019;58(1):46-60.
- 22- Moradi M, Mashhadi Akbar Boojar M, Saberi M, Salkuyeh HR, Ghorbani M, Amanpour H, Salem F. Comparison of Analgesic Effect of Rosmarinic Acid With Piroxicam in Mice. *International Journal of Basic Science in Medicine*. 2022;7(1):28-33.

- 23- Guo C, Liu F. Cardioprotective effect of rosmarinic acid against myocardial ischaemia/reperfusion injury via suppression of the NF- κ B inflammatory signalling pathway and ROS production in mice. *Pharmaceutical Biology*. 2021;59(1):220-9.
- 24- Fachel FN, Schuh RS, Veras KS, Bassani VL, Koester LS, et al. An overview of the neuroprotective potential of rosmarinic acid and its association with nanotechnology-based delivery systems: A novel approach to treating neurodegenerative disorders. *Neurochemistry International*. 2019;122:47-58.
- 25- Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology*. 2005;177(3):245-55.
- 26- Dahchour A. Anxiolytic and antidepressive potentials of rosmarinic acid: A review with focus on antioxidant and anti-inflammatory effects. *Pharmacological Research*. 2022; 9:106421.
- 27- 26. Yu Y, Li Y, Qi K, Xu W, Wei Y. Rosmarinic acid relieves LPS-induced sickness and depressive-like behaviors in mice by activating the BDNF/Nrf2 signaling and autophagy pathway. *Behavioural Brain Research*. 2022; 433:114006.
- 28- Arunrut T, Alejandre H, Chen M, Cha J, Russo-Neustadt A. Differential behavioral and neurochemical effects of exercise, reboxetine and citalopram with the forced swim test. *Life sciences*. 2009;84(17-18):584-9.
- 29- Kuœmider M, Solich J, Pasach P, Dziedzicka-Wasylewska M. Effect of citalopram in the modified forced swim test in rats. *Pharmacological reports*. 2007;59(785):785-8.
- 30- Kim TH, Bormate KJ, Custodio RJ, Cheong JH, Lee BK, Kim HJ, Jung YS. Involvement of the adenosine A1 receptor in the hypnotic effect of rosmarinic acid. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;146:112483.
- 31- Grigoletto J, de Oliveira CV, Grauncke AC, de Souza TL, Souto NS, de Freitas ML, Furian AF, Santos AR, Oliveira MS. Rosmarinic acid is anticonvulsant against seizures induced by pentylentetrazol and pilocarpine in mice. *Epilepsy & Behavior*. 2016;62:27-34.
- 32- Takeda H, Tsuji M, Miyamoto J, Matsumiya T. Rosmarinic acid and caffeic acid reduce the defensive freezing behavior of mice exposed to conditioned fear stress. *Psychopharmacology*. 2002;164(2):233-5.