

اثر عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون بر اضطراب موش صحرایی نر

مریم نیک سخن*^۱، دکتر نسرين حیدریه^۲، مریم نجفی فرد^۱، معصومه نجفی فرد^۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم. ۲- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم.

چکیده

زمینه و هدف: اضطراب شایع ترین اختلالات روحی روانی است که موجب اختلال در زندگی روزانه و رنج انسان می گردد. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون (*Pimpinella anisum*) بر اضطراب موش صحرایی نر انجام گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به ۶ گروه ۷ تایی شامل کنترل منفی (بدون تزریق)، کنترل مثبت (دریافت کننده سالین) و آزمایش (دریافت کننده دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ mg/kg/bw عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون) تقسیم شدند. تزریقات یک بار و به صورت داخل صفاقی انجام گردید. ۳۰ دقیقه بعد از تزریق با استفاده از ماز به علاوه ای مرتفع و به مدت ۵ دقیقه شاخص های ارزیابی اضطراب شامل مدت زمان حضور و تعداد ورود به بازوی باز مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با دوزهای ۲۵۰ و ۳۰۰ mg/kg/bw به طور معنی داری سبب افزایش مدت زمان حضور در بازوی باز و کاهش مدت زمان حضور در بازوی بسته در ماز به علاوه ای مرتفع در مقایسه با گروه کنترل گردید ($P < 0.05$). همچنین عصاره با دوز ۳۰۰ mg/kg/bw سبب افزایش تعداد ورود به بازوی باز و کاهش تعداد ورود به بازوی بسته در ماز به علاوه ای مرتفع در مقایسه با گروه کنترل گردید ($P < 0.05$). هیچیک از دوزهای عصاره اثر معنی داری بر میزان فعالیت های حرکتی نداشت.

نتیجه گیری: عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با مقادیر ۲۵۰ و ۳۰۰ mg/kg/bw اضطراب را در موش های صحرایی کاهش می دهد.

کلید واژه ها: اضطراب، گیاه انیسون، ماز به علاوه ای مرتفع، موش صحرایی

* نویسنده مسئول: مریم نیک سخن، پست الکترونیکی maryamnicksokhan@yahoo.com

نشانی: قم، بلوار ۱۵ خرداد، دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، گروه فیزیولوژی، تلفن ۰۲۵۳-۷۷۸۰۰۰۱، نمابر ۳۷۷۷۰۰۱

وصول مقاله: ۹۲/۱۱/۵، اصلاح نهایی: ۹۳/۴/۲۹، پذیرش مقاله: ۹۳/۴/۳۰

مقدمه

مهم ترین نوروترانسمیتر تحریکی در سیستم عصبی مرکزی بوده و اثرات آن از طریق گیرنده های موجود در غشاء به نام گیرنده های یونوتروپیک و گیرنده های متابوتروپیک اعمال می شود. غلظت گلوتامات در دستگاه عصبی به مراتب بیشتر از سایر بافت های بدن بوده و در انتقال سیناپسی، ایجاد تغییرات طولانی مدت در تحریک پذیری سلول های عصبی و تکامل سلول های عصبی دخالت دارد. باوجود اثرات زیاد گلوتامات در عملکرد فیزیولوژیک سلول های عصبی، همچنین این ترکیب یک نوروتوکسین قوی است و در بسیاری از اختلالات دستگاه عصبی مرکزی شامل اختلالات نورودژنراتیو، اسکمی و ضربه دخالت دارد (۷).

استرس اکسیداتیو در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن از یک سو و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می شود. به منظور مقابله با رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن، مکانیسم های دفاع آنتی اکسیدانی طراحی شده است تا اثرات زیانبار این عوامل مهاجم

اضطراب طبیعی یک پاسخ سازشی هیجانی به محرک های تنش زای فیزیولوژیکی، روانی و اجتماعی است که هر فرد در زندگی آن را تجربه می کند (۲۱). اضطراب پاتولوژیک شایع ترین اختلالات روحی روانی است که موجب اختلال در زندگی روزانه و رنج انسان می گردد. برای درمان آن از بنزودیازپین ها و باربیتورات ها استفاده می شود (۳). اضطراب عبارت از یک احساس منتشر، ناخوشایند و مبهم هراس و دلواپسی با منشاء ناشناخته و شامل عدم اطمینان، درماندگی و برانگیختگی فیزیولوژیک است که با یک یا چند حس جسمی مانند تهوع، تنگی قفسه سینه، طپش قلب، تعریق و سردرد همراه است (۴). در روند تعدیل این پدیده، چندین گیرنده مانند سروتونین، گابا و کاتکول آمین ها و هورمون های جنسی نقش دارند (۵). گابا مهم ترین نوروترانسمیتر مهار مغز است. اتصال گابا به گیرنده، کانال یون کلسیم را باز می کند و باعث مهار و هیپرپلاریزاسیون نورون می شود (۶). از سوی دیگر گلوتامات

(شرکت دام پارس تهران) تغذیه شدند. آب و غذای کافی در تمام مدت نگهداری به جز زمان آزمایش در اختیار حیوان قرار گرفت و از هر موش یکبار در آزمایش استفاده گردید. یک هفته قبل از آزمایش همه موش‌ها روزانه به مدت ۵ دقیقه نوازش شدند تا از استرس اضافی در هنگام آزمایش ممانعت شود. برای سازگاری با محیط موش‌ها دو ساعت قبل از آزمایش از محل نگهداری به اتاق تست آورده شدند و طی آزمایش و قبل از آن سعی شد که محیطی آرام و کم استرس برایشان فراهم گردد.

برای تهیه عصاره، دانه‌های انیسون بر اثر کوبیدن به پودر تبدیل شد. ۵۰۰ گرم از پودر حاصله را درون کیسه پارچه‌ای تمیز و سپس درون دستگاه سوکسله (soxhleeextractor) قرار دادیم. درون بالن سوکسله ۳۰۰ میلی لیتر الکل ۷۰ درجه ریخته و دستگاه را به مدت ۲۴ ساعت روشن گذاشتیم تا عصاره آن کاملاً گرفته شد.

در مرحله بعد عصاره توسط کاغذ صافی واتمن بوخنر صاف شد. سپس با استفاده از دستگاه حذف حلال در خلا (روتاری) و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و فشار ۲۷۵ میلی متر جیوه عمل جداسازی حلال الکل تا به دست آمدن یک عصاره غلیظ ادامه یافت. عصاره غلیظ حاصله از داخل بالن خارج گردید و عصاره داخل بشر در دسیکاتور قرار گرفت تا عصاره خشک گردید (۱۶).

حیوانات به ۶ گروه ۷ تایی زیر تقسیم شدند (۱۷):

(۱) گروه کنترل منفی: حیوانات این گروه بدون تزریق فقط مورد آزمون قرار گرفتند.

(۲) گروه کنترل مثبت: دریافت کننده ۰/۵ میلی لیتر محلول سرم فیزیولوژیک (سالین).

(۳) گروه آزمایش اول: یک دریافت از عصاره هیدروالکی دانه گیاه انیسون به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن.

(۴) گروه آزمایش دوم: یک دریافت از عصاره هیدروالکی دانه گیاه انیسون به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن.

(۵) گروه آزمایش سوم: یک دریافت از عصاره هیدروالکی دانه گیاه انیسون به میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن.

(۶) گروه آزمایش چهارم: یک دریافت از عصاره هیدروالکی دانه گیاه انیسون به میزان ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن.

تزریقات به صورت داخل صفاقی انجام شد. ۳۰ دقیقه بعد از تزریق با استفاده از مازبه‌علاوه‌ای مرتفع و به مدت ۵ دقیقه شاخص‌های ارزیابی اضطراب شامل مدت زمان حضور و تعداد ورود به بازوی باز مورد ارزیابی قرار گرفت.

تست ماز به‌علاوه‌ای مرتفع یک مدل غیرشرطی برای تولید و سنجش اضطراب و تعیین اثرات اضطراب‌زایی و ضد اضطرابی داروهاست. این دستگاه شامل دو بازوی باز و بسته مقابل هم با طول ۴۰ سانتی متر و عرض ۱۰ سانتی متر است و دیوارهای بسته توسط

را خنثی نموده یا به حداقل برساند. برخی از اجزای این سیستم دفاعی نظیر آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز است. برخی نیز از طریق مواد غذایی مختلف تامین می‌شوند. استرس اکسیداتیو عامل مؤثری در ایجاد بیماری‌های مختلف در سیستم اعصاب مرکزی است که می‌تواند موجب تسریع روند پیری و رفتارهای وابسته به اضطراب گردد (۸).

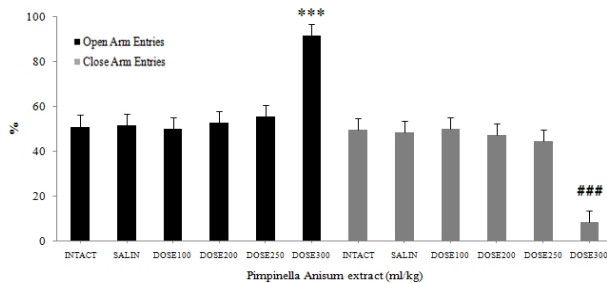
گیاه انیسون یا بادیان رومی با نام علمی *Pimpinellaanisum* گیاهی متعلق به خانواده Umbelliferae و از تیره چتریان Apiacea دارای ریشه راست دوکی شکل، ساقه بی کرک و استوانه‌ای به ارتفاع ۵۰-۳۰ سانتی متر است که در نواحی شمال غربی و جنوب غربی ایران، هند، ترکیه و سایر مناطق گرمسیر جهان یافت می‌شود (۹). انیسون یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی است و دارای خواص ضد درد، ضد باکتری، ضد ویروسی و شیرافزایی بوده و مصرف آن در رفع سردردهای میگرنی، سرگیجه، سرفه، آسم، برونشیت، گرفتگی عضلانی و کولیک‌های همراه نفخ اثرات مفیدی دارد (۹). عمده خواص درمانی این گیاه مربوط به میوه آن است که حاوی ترکیبات شیمیایی مختلف بوده و کاربردهای بسیار متنوعی دارد (۹). ترکیبات شاخص این گیاه را آنتول، متیل کایکول انیس کتون، کولین، انیس آلدئید، انیسیک اسید، دی آنتول و کومارین تشکیل می‌دهد (۱۰ و ۱۱). همچنین دارای فلاونوئیدهایی از جمله آپی‌ژنین، لوتئولین، لیمونن، لینالول، کامفور، کامفن، آلفاپینن، روتین و فیل پروپانوئیدهایی نظیر ترنس آنتول، متیل اوژنول، آنیس آلدئید، سزکونی ترپن‌های بی‌زابولین و هیماکالین و مونوترپن‌های هیدروکربن شامل آلفاپینن، کامفن، میرسن و آلفاترینین است (۱۴-۱۲). در مورد اثرات عصاره دانه انیسون بر اضطراب گزارشی دیده نشد. لذا با توجه به اثرات فلاونوئیدها بر اضطراب و جایگاه آنها بر روی گیرنده‌های گابا (۱۵)؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکی دانه گیاه انیسون بر اضطراب موش صحرایی نر انجام گردید.

روش بررسی

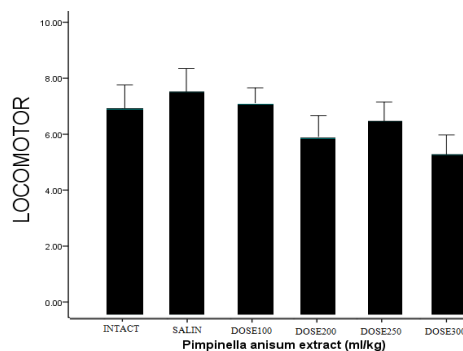
این مطالعه تجربی روی ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 230 گرم خریداری شده از انستیتو پاستور کرج در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم طی سال ۱۳۹۲ انجام شد.

پروتکل اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. موش‌ها پس از انتقال به اتاق نگهداری حیوانات تا ۲۴ ساعت تحت هیچ نوع آزمایشی قرار نگرفتند. درجه حرارت اتاق پرورش حیوانات ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد بود. نور به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم شد. در طول مدت آزمایش موش‌ها از آب لوله کشی شهری تصفیه شده و غذای فشرده

میزان فعالیت حرکتی دو گروه کنترل منفی و گروه کنترل مثبت تفاوت آماری معنی داری نداشت. همچنین بین چهار گروه دریافت کننده عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون نسبت به گروه کنترل مثبت در میزان فعالیت حرکتی تفاوت آماری معنی داری یافت نشد (نمودار ۳).



نمودار ۲: میانگین و انحراف معیار درصد دفعات ورود به بازوی باز و بسته ماز به علاوهای مرتفع گروه‌های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با مقادیر ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل منفی (INTACT) و گروه کنترل مثبت (SALIN)
 $P < 0.001$ ###، $P < 0.001$ ***، $n = 7$



نمودار ۳: میانگین و انحراف معیار فعالیت حرکتی (تعداد کل دفعات ورود به بازوی باز و بسته) در ماز به علاوهای مرتفع گروه‌های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با مقادیر ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل منفی (INTACT) و گروه کنترل مثبت (SALIN)
 $P < 0.001$ ###، $P < 0.001$ ***، $n = 7$

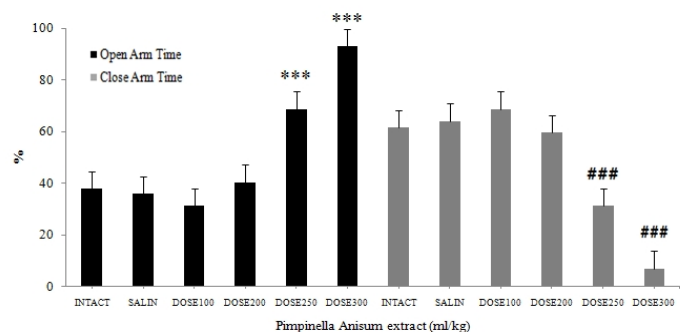
بحث

با توجه به نتایج این مطالعه عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با دوزهای ۲۵۰ و ۳۰۰ mg/kg/bw به طور معنی داری سبب افزایش مدت زمان حضور در بازوی باز و کاهش مدت زمان حضور در بازوی بسته در ماز به علاوهای مرتفع در مقایسه با گروه کنترل گردید ($P < 0.05$). همچنین عصاره با دوز ۳۰۰ mg/kg/bw سبب افزایش تعداد ورود به بازوی باز و کاهش تعداد ورود به بازوی بسته در ماز به علاوهای مرتفع در مقایسه با گروه کنترل گردید ($P < 0.05$). هیچیک از دوزهای عصاره اثر معنی داری بر میزان فعالیت‌های حرکتی نداشت.

دیوار ۴۰ سانتی متری احاطه شده است. در مرکز نیز مربع ۱۰×۱۰ سانتی متری قرار گرفته است. این وسیله ۷۰ سانتی متر بالاتر از سطح زمین قرار گرفته و یک لامپ ۱۰۰ واتی در ارتفاع ۱۲۰ سانتی متری در آن تعبیه شده است. در ابتدای تست، هر موش در وسط دستگاه قرار گرفت؛ به طوری که سر آن به طرف بازوی باز بود و به مدت پنج دقیقه شاخص‌های اضطراب شامل درصد زمان سپری شده در بازوی باز و بسته و نیز درصد دفعات ورود به بازوی باز و بسته ثبت و ارزیابی گردید. میزان فعالیت‌های حرکتی شامل تعداد کل دفعات ورود به بازوی باز و بسته به واسطه مشاهده مستقیم ثبت گردید (۱۸). داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-11 و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و توکی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بین گروه‌های کنترل منفی و کنترل مثبت در مدت زمان حضور در بازوی باز و بسته تفاوت آماری معنی داری وجود نداشت. موش‌های دریافت کننده دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون در مقایسه با گروه کنترل مثبت تفاوت آماری معنی داری را نشان ندادند. موش‌های دریافت کننده دوزهای ۲۵۰ و ۳۰۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون افزایش آماری معنی داری را در مدت حضور در بازوی باز و کاهش آماری معنی داری را در مدت حضور در بازوی بسته در مقایسه با گروه کنترل مثبت نشان دادند ($P < 0.001$) (نمودار یک).



نمودار ۱: میانگین و انحراف معیار درصد مدت سپری شده در بازوی باز و بسته ماز به علاوهای مرتفع گروه‌های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با مقادیر ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل منفی (INTACT) و گروه کنترل مثبت (SALIN)
 $P < 0.001$ ###، $P < 0.001$ ***، $n = 7$

موش‌های دریافت کننده دوز ۳۰۰ mg/kg افزایش آماری معنی داری را در تعداد دفعات ورود به بازوهای باز و کاهش آماری معنی داری را در تعداد دفعات ورود به بازوهای بسته نسبت به گروه کنترل مثبت نشان دادند ($P < 0.001$) (نمودار ۲).

ضد اضطرابی ایجاد کند. علاوه بر آپی ژنین فلاونوئید گلیکوزید دیگری به نام لوتنولین در انیسون وجود دارد و احتمالاً اثرات این ماده هم از طریق واسطه‌گری سیستم گابائوژیک اعمال می‌شود. لیمونن، مونوترپن تک حلقه‌ای که از طریق گردش خون محیطی وارد مغز شده و به گیرنده‌های GABAA متصل می‌گردد و در پی فعال شدن این گیرنده‌ها اثرات ضد اضطرابی ایجاد می‌کند (۲۵). از سوی دیگر گلو تامات مهم‌ترین نوروترانسمیتر تحریکی در سیستم عصبی مرکزی بوده که اثرات آن از طریق گیرنده‌های موجود در غشاء به نام گیرنده‌های یونوتروپیک و متابوتروپیک اعمال می‌شود. بلو که کردن تحریک گلو تامات می‌تواند اثرات ضد اضطرابی داشته باشد و لینالول مونوترپن خطی، عامل دیگری است که دارای اثر کاهندگی بر فعالیت سیستم عصبی مرکزی بوده و مستقیماً در اتصال NMDA با گلو تامات تداخل کرده و باعث بروز اثرات آرامبخشی و تسکینی می‌شود (۲۶). عصاره دانه انیسون دارای اثرات آنتی اکسیدانی قوی بوده و می‌تواند سیستم اعصاب مرکزی را در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت کند. طی تحقیقی خواص آنتی اکسیدانی عصاره آبی و الکلی انیسون با استفاده از آزمون آنتی اکسیدان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی (حتی بالاتر از آنتی اکسیدان‌های مصنوعی) مشاهده شد (۲۷). به نظر می‌رسد محتوای بالای انیسون از ترکیب‌های پلی فنلی آنتی اکسیدانی (۱۲) به کاهش استرس اکسیداتیو و احتمالاً کاهش اضطراب منجر می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با مقادیر ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم اثر ضد اضطرابی روی موش‌های صحرایی دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم مریم نیک سخن برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی جانوری از دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم بود. بدین وسیله از همکاری و حمایت‌های آقای دکتر محمدحسین نیک سخن در اجرای این مطالعه تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Clement Y, Chapouthier G. Biological bases of anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*. 1998 Sep;22(5):623-33.
2. Clément Y, Calatayud F, Belzung C. Genetic basis of anxiety-like behaviour: a critical review. *Brain Res Bull*. 2002 Jan; 57(1):57-71.
3. Finn DA, Rutledge-Gorman MT, Crabbe JC. Genetic animal models of anxiety. *Neurogenetics*. 2003 Apr;4(3):109-35.
4. Johnston GA, Chebib M, Hanrahan JR, Mewett KN. GABA(C) receptors as drug targets. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*. 2003 Aug;2(4):260-8.

در مطالعه وفایی و همکاران عصاره آبی میوه گیاه فلوس با دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن باعث کاهش سطح اضطراب موش کوچک آزمایشگاهی گردید (۱۹). در مطالعه میلادی گرجی و همکاران دوزهای ۰/۰۵، ۰/۱۰ و ۰/۱۵ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن از عصاره آبی برگ اسفناج مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج نشان داد که این عصاره در دوزهای بالاتر دارای اثرات ضد اضطرابی است (۲۰). در مطالعه رضایی و همکاران عصاره سنبل الطیب با بیشترین پاسخ در دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن اثرات تسکینی و ضد اضطراب بهتری در مقایسه با دیازپام در موش‌های ماده نژاد ویستار نشان داد (۲۱).

مطالعات نقش سیستم‌های نوروشیمیایی وسیعی را در پدیده اضطراب نشان داده‌اند؛ اما سیستم گابائوژیک و گیرنده گابا A از مهم‌ترین سیستم‌های درگیر در اضطراب به‌شمار می‌آیند که با اتصال لیگاند به گیرنده، کانال کلری باز شده و باعث مهار و هیپرپلاریزاسیون نورون می‌شود (۶). علاوه بر این، مطالعه *in vivo* بر روی مغز موش‌ها نشان داده که اسانس روغنی انیسون باعث فعال شدن گیرنده‌های مهاری گابائوژیک شده و این اثر تحریکی به خصوص بر روی زیر گروه گیرنده‌های GABAA است (۲۲). در تحقیقی دیگر انیسون سبب کاهش تشنج ناشی از پنتیلن ترازول (PTZ) شد و این امر مربوط به نقش مهاری استراگول موجود در انیسون بر روی سیناپس‌ها بود که احتمالاً این نقش مهاری سبب افزایش فعالیت سیستم گابا شده و به دنبال فعال شدن این سیستم اضطراب کاهش یافته است (۲۳).

فلاونوئیدها به عنوان لیگاند رسپتورهای GABAA در سیستم عصبی مرکزی بوده و در نتیجه احتمالاً شبیه بنزودیازپین‌ها عمل می‌کنند (۱۵). این فرضیه با مطالعات رفتاری انجام شده بر روی رفتار اضطرابی، آرامبخشی و تشنج در مدل‌های جانوری تایید می‌شود (۲۴). فلاونوئید گلیکوزید آپی ژنین قادر به عبور از سد خونی - مغزی است و به عنوان تنظیم کننده مثبت و آلوستوتیک سبب تقویت اثرات گابا بر روی گیرنده گابا شده و برخلاف دیازپین‌ها وابستگی ایجاد نمی‌کند. دانه گیاه انیسون نیز به دلیل دارا بودن آپی ژنین می‌تواند با کاهش دادن فعالیت نورونی اثر

5. Enoch MA. The role of GABAA receptors in the development of alcoholism. *Pharmacol Biochem Behav*. 2008 Jul; 90(1):95-104.
6. Kittler JT, Moss SJ. Modulation of GABAA receptor activity by phosphorylation and receptor trafficking: implications for the efficacy of synaptic inhibition. *Curr Opin Neurobiol*. 2003 Jun; 13(3):341-7.
7. Shahraki A. [Metabotropic glutamate receptors and their ligands applications in neurological and psychiatric disorders]. *Physiol Pharmacol*. 2011; 15(1): 72-89. [Article in Persian]
8. Miladi Gorgi H, Safakhah H, Haghighi S. [Anxiolytic effects of the aqueous extracts of spinach leaves in mice]. *Sci J Kurdistan*

Univ Med Sci. 2010; 15(2): 43-50. [Article in Persian]

9. Zargari A. [Medical Plants]. 6th. Tehran: The University of Tehran Publication. 1995; pp: 502-7. [Persian]

10. Orav A, Raal A, Arak E. Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries. Nat Prod Res. 2008 Feb;22(3):227-32.

11. Yamini Y, Bahramifar N, Sefidkon F, Saharkhiz MJ, Salamifar E. Extraction of essential oil from *Pimpinella anisum* using supercritical carbon dioxide and comparison with hydrodistillation. Nat Prod Res. 2008 Feb;22(3):212-8.

12. Samojlik I, Mijatović V, Petković S, Skrbić B, Božin B. The influence of essential oil of aniseed (*Pimpinella anisum*, L.) on drug effects on the central nervous system. Fitoterapia. 2012 Dec; 83(8):1466-73.

13. Szabadics J, Erdélyi L. Pre- and postsynaptic effects of eugenol and related compounds on *Helix pomatia* L. neurons. Acta Biol Hung. 2000;51(2-4):265-73.

14. Samojlik I, Mijatović V, Petković S, Skrbić B, Božin B. The influence of essential oil of aniseed (*Pimpinella anisum*, L.) on drug effects on the central nervous system. Fitoterapia. 2012 Dec; 83(8):1466-73.

15. Fernández SP, Wasowski C, Loscalzo LM, Granger RE, Johnston GA, Paladini AC, et al. Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides. Eur J Pharmacol. 2006 Jun; 539(3):168-76.

16. Samsam Shariat H. [Qualitative and Quantitative evaluation of the active constituents and control methods for medicinal Plants]. 1st. Esfahan: Mani Publication. 1992; pp: 10-21. [Persian]

17. Heidari MR, Ayeli M. [Effects of methyl alcoholic extract of *Pimpinella anisum* L. on picrotoxin induced seizure in mice and its probable mechanism]. Sci J Kurdistan Univ Med Sci. 2005; 10(3):1-8. [Article in Persian]

18. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of

anxiety in the rat. J Neurosci Methods. 1985 Aug;14(3):149-67.

19. Vafaei AA, Miladi-Gorgi H, Moghimi HR, Ameri M. [The effect of fruit *Cassia fistula* aqueous extract on sleeping time and the level of anxiety in mice]. J Gorgan Uni Med Sci. 2011; 12(4):1-6. [Article in Persian]

20. Miladi Gorgi H, Safakhah H, Haghighi S. [Anxiolytic effects of the aqueous extracts of spinach leaves in mice]. Sci J Kurdistan Univ Med Sci. 2010; 15(2): 43-50. [Article in Persian]

21. Rezaei A, Pashazadeh M, Ahmadiadeh C, Jafari B, Jalilzadeh Hedayati M. [Study of sedative and anxiolytic effect of herbal extract of *Nardostachys jatamansi* in comparison with Diazepam in rats]. J Med Plants. 2010; 9(4):169-74. [Article in Persian]

22. Sahraei H, Ghoshooni H, Hossein Salimi S, Mohseni Astani A, Shafaghi B, Falahi M, et al. The effects of fruit essential oil of the *Pimpinella anisum* on acquisition and expression of morphine induced conditioned place preference in mice. J Ethnopharmacol. 2002 Apr;80(1):43-7.

23. Pourgholami MH, Majzoob S, Javadi M, Kamalinejad M, Fanaee GH, Sayyah M. The fruit essential oil of *Pimpinella anisum* exerts anticonvulsant effects in mice. J Ethnopharmacol. 1999 Aug; 66(2):211-5.

24. Marder M, Paladini AC. GABA(A)-receptor ligands of flavonoid structure. Curr Top Med Chem. 2002 Aug;2(8):853-67.

25. Murakami S, Matsuura M, Satou T, Hayashi S, Koike K. Effects of the essential oil from leaves of *Alpinia zerumbet* on behavioral alterations in mice. Nat Prod Commun. 2009 Jan; 4(1):129-32.

26. Re L, Barocci S, Sonnino S, Mencarelli A, Vivani C, Paolucci G, et al. Linalool modifies the nicotinic receptor-ion channel kinetics at the mouse neuromuscular junction. Pharmacol Res. 2000 Aug; 42(2):177-82.

27. Gulcin I, Oktay M, Kirecci E, Kufrevioglu OI. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. Food Chemistry 2003 Nov; 83(3): 371-82.

Original Paper

Effect of hydro-alcholic extract of *Pimpinella anisum* seed on anxiety in male rat

Niksokhan M (B.Sc)*¹, Hedarieh N (Ph.D)²
Najafifard Maryam (B.Sc)¹, Najafifard Masoomeh (B.Sc)¹

¹M.Sc Student in Physiology, Islamic Azad University, Qom Branch, Qom, Iran.

²Assistant Professor, Department of Physiology, Islamic Azad University, Qom Branch, Qom, Iran.

Abstract

Background and Objective: Anxiety is a common psychological disorder. This study was carried out to evaluate the effect of hydro-alcholic extract of *Pimpinella anisum* seed on anxiety in male rat.

Method: In this experimental study, 42 male Wistar rats, randomly allocated into six groups including: negative control group (no injection), positive control (saline) and experimental groups (receiving doses 100, 200, 250, 300 mg/kg/bw of hydro-alcholic extract of *Pimpinella anisum* seed, intraperitoneally). Indices of anxiety including time spent in open arms and number of open arm entries were evaluated using elevated plus maze, 30 minutes after injection.

Results: At doses of 250 and 300 mg/kg/bw of hydro-alcholic extract of *Pimpinella anisum* seed, the time spent in open arms of maze were significantly increased and the time spent in maze close arms were decreased in compared to controls ($P<0.05$). At dose of 300 mg/kg/bw of *Pimpinella anisum* seed extract, number of open arm entries increased in compared to control group ($P<0.05$). None of the doses showed any significant effect on locomotor activities.

Conclusion: Hydro-alcholic extract of *Pimpinella anisum* seed with dosage of 250 and 300 mg/kg/bw reduces anxiety in male rats.

Keywords: Anxiety, *Pimpinella anisum*, Maze test, Rat

* **Corresponding Author:** Niksokhan M (B.Sc), E-mail: maryamniksokhan@yahoo.com

Received 25 Jan 2014

Revised 20 Jul 2014

Accepted 21 Jul 2014