

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی دانه انیسون بر اضطراب در موش صحرایی نر گنادکتومی شده

مریم نیک سخن¹، نسرين حیدریه²

1. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران (مؤلف مسؤول)، تلفن ثابت: 0253-7780001، maryamniksokhan@yahoo.com

2. استادیار فیزیولوژی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی قم، قم، ایران.

چکیده

مقدمه: اضطراب یک اختلال شایع بوده که جهت درمان آن راه حلها و داروهای مختلفی ارائه شده است. از آنجاکه گیاهان دارویی در مقایسه با داروهای شیمیایی عوارض کمتری ایجاد می کنند، در این پژوهش تاثیر عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون (*Pimpinella anisum*) بر رفتار شبه اضطرابی موش های صحرایی نر گنادکتومی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی از 32 سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار با میانگین وزنی 20 ± 230 گرم استفاده شد. حیوانات بعد از جراحی (گنادکتومی) به گروه های کنترل مثبت (دریافت کننده سالین) و آزمایش (دریافت کننده دوزهای 250، 300 و 400 mg/kg عصاره هیدروالکلی دانه انیسون) تقسیم شدند. کلیه تزریقات به صورت حاد و داخل صفاقی انجام شد. 30 دقیقه بعد از تزریق با استفاده از ماز بعلاوه مرتفع و به مدت 5 دقیقه شاخص های ارزیابی اضطراب (مدت زمان حضور در بازوی باز و تعداد ورود به بازوی باز) مورد بررسی و ثبت قرار گرفتند. داده ها توسط آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون توکی (Tukey) تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: نتایج نشان داد عصاره در دوزهای 300 و 400 mg/kg بصورت معنی داری سبب افزایش مدت زمان حضور در بازوی باز ماز بعلاوه مرتفع در مقایسه با گروه کنترل مثبت (دریافت کننده سالین) شد. همچنین عصاره در دوز 400 mg/kg سبب افزایش تعداد ورود به بازوی باز ماز بعلاوه مرتفع در مقایسه با گروه کنترل مثبت (دریافت کننده سالین) گردید. هیچ یک از دوزهای عصاره تأثیر معنی داری بر میزان فعالیت های حرکتی نداشت.

نتیجه گیری: نتایج حاکی از آن است که عصاره هیدروالکلی دانه انیسون احتمالاً بدلیل وجود ترکیبات فیتواستروئید سبب سنتز و نورواستروئید در مغز شده و در نتیجه با افزایش تحریک گیرنده های GABA سبب کاهش اضطراب می شوند.

واژه های کلیدی: اضطراب، ماز بعلاوه مرتفع، عصاره انیسون، گنادکتومی.

وصول مقاله: 93/12/9 اصلاحیه نهایی: 94/4/6 پذیرش: 94/4/7

مقدمه

یکی از اختلالات روانی رایج در انسان اضطراب پاتولوژی می باشد که عبارت از یک احساس منتشر، ناخوشایند و مبهم هراس و دلوپسی با منشأ ناشناخته است و شامل عدم اطمینان، درماندگی و برانگیختگی فیزیولوژیک بوده که با یک یا چند حس جسمی مانند تهوع، تنگی قفسه سینه، طپش قلب، تعریق، سردرد و ... همراه است (1). در روند تعدیل این پدیده، چندین گیرنده مانند سروتونین، گابا و کاتکول آمینها و هورمونهای جنسی نقش دارند (2). گابا مهمترین نوروترانسمیتر مهار مغز است. اتصال گابا به گیرنده، کانال کلری را باز می کند و باعث مهار و هیپرپلاریزاسیون نورون می شود (3). از سوی دیگر فعالیت ژنومی استروژن نیز بوسیله دو گیرنده درون سلولی $ER\alpha$ و $ER\beta$ انجام شده که فعالیت $ER\beta$ باعث کاهش اضطراب در گونه های مختلف می شود (4).

فیتواستروژنها ترکیبات پلی فنولیک غیراستروئیدی هستند که اثراتی شبیه استروژن ایجاد می کنند و بطور انتخابی به رسپتورهای آلفا و بتای استروژنی متصل می شوند. علاوه بر این، توسط گیرنده گابا A هم عمل کرده (5و6) و در کاهش اضطراب نقش دارند (7و6). مصرف فیتواستروژنها در درمان بیماریهای وابسته به سن مانند بیماری های قلبی، سرطان سینه، پوکی استخوان و پروستات و علائم یائسگی مانند گرگرفتگی کاربرد دارد (8).

گیاه انیسون یا بادیان رومی با نام علمی *Pimpinella anisum* گیاهی متعلق به خانواده *Umbelliferae*، و از تیره چتریان *Apiacea*، دارای ریشه راست دوکی شکل، ساقه بی کرک و استوانه ای به ارتفاع 30-50 سانتی متر است که در نواحی شمال غربی و جنوب غربی ایران، همچنین در هند، ترکیه و سایر مناطق گرمسیر جهان یافت می شود.

انیسون یکی از قدیمی ترین گیاهان دارویی است و دارای خواص ضد درد، ضدباکتری، ضدویروسی، شیرافزایی و قاعده آوری بوده و مصرف آن در رفع سردردهای میگرنی،

سرفه، آسم، برونشیت، گرفتگی عضلانی و آرام بخشی اثرات مفیدی دارد. عمده خواص درمانی این گیاه مربوط به میوه آن می باشد که حاوی ترکیبات شیمیایی مختلف بوده و کاربرد های بسیار متنوعی دارد (9).

ترکیبات شاخص این گیاه را فیتواستروژن های آنتول، دی آنتول، کومارین و ترکیبات استروئیدی استیگماسترول، استیگماستریل استئارات، استیگماسترول پالمیتات تشکیل می دهند (10و11). همچنین کولین، انیس آلدنید، انیسیک اسید و متیل کاویکول و انیس کتون ترکیبات دیگر موجود در این گیاه می باشند (12و11). علاوه بر این دارای فلاونوئیدهایی از جمله آپی ژنین، لوتئولین، لیمونن، لینالول، کامفور، کامفن، آلفاپینن، روتین و فنیل پروپانئید هایی نظیر ترنس آنتول، متیل اوژنول، آنیس آلدنید، سزکونی ترین های بیزابولین و هیماکالین و مونوترپن های هیدروکربن شامل آلفاپینن، کامفن، میرسن، آلفا ترپین است (13-15).

شواهدی وجود دارد که تأثیر آندروژن ها را بر اضطراب و رفتارهای شناختی در جوندگان و انسان، نشان می دهد. مطالعات نشان داده که رسپتور هورمون های استروئیدی در هیپوکامپ، هیپوتالاموس و کورتکس مخ (16) وجود دارد و در بروز احساسات و تنظیم رفتارها نقش دارند. در پژوهش دیگری پیشنهاد شده است اثرات ضد اضطرابی تستوسترون به دلیل متابولیته شدن به نورواستروئید و اثر بر گیرنده GABA در مغز بوده و تجویز آندروژن ها در موش های صحرایی نر گنادکتومی سبب کاهش اثرات ضد اضطرابی می شود (17).

با توجه به نقش تستوسترون و اثرات ضد اضطرابی فیتواستروژنها (7) و جایگاه آنها بر روی گیرنده های گابا (6)، و از آنجایی که گیاه انیسون نیز حاوی این نوع ترکیبات بوده (12و11) و تاکنون اثرات احتمالی آن بر اضطراب مورد بررسی قرار نگرفته است، می توان شواهد مربوط به فیتواستروژنها را بدان تعمیم داد. در این مطالعه اثر

عصاره هیدروالکلی دانه انیسون بر اضطراب موش های صحرایی نرگنادکتومی شده، مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی بود و در آن از 32 موش صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar) با وزن 20 ± 230 گرم، از انستیتو پاستور کرج خریداری و استفاده شد.

حیوانات تا 24 ساعت تحت هیچ نوع آزمایشی قرار نگرفتند. درجه حرارت اتاق پرورش حیوانات 22-24 درجه سانتیگراد و نور بصورت 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی تنظیم شد. در طول مدت آزمایش موشها از آب لوله کشی تصفیه شده شهر و غذای فشرده ساخت شرکت دام پارس تهران تغذیه شدند. آب و غذای کافی در تمام مدت نگهداری بجز زمان آزمایش در اختیار حیوان قرار گرفت و از هر موش یکبار در آزمایش استفاده شد. یک هفته قبل از آزمایش همه موش ها روزانه به مدت 5 دقیقه نوازش شدند تا از استرس اضافی در هنگام آزمایش ممانعت شود. جهت سازگاری با محیط 2 ساعت قبل از آزمایش موش ها از محل نگهداری به اتاق تست آورده شدند و در طی آزمایش و قبل از آن سعی شد که محیطی آرام و کم استرس برایشان فراهم گردد.

گیاه مورد استفاده در این تحقیق انیسون یا بادیان رومی با نام علمی *Pimpinella anisum* گیاهی متعلق به خانواده Umbelliferae، و از تیره چتریان Apiacea بود (9) جنس و گونه این گیاه به تایید متخصصین بخش گیاه شناسی منابع طبیعی استان قم رسید. برای تهیه عصاره، دانه های انیسون را کوبیده تا به صورت پودر در آمد. 500 گرم از پودر حاصل را درون کیسه پارچه ای تمیز قرار داده و درون دستگاه سوکسله (soxhlet extractor) گذاشته شد. سپس درون بالن سوکسله 300 سی سی الکل 70 درجه ریخته و دستگاه را به مدت 24 ساعت روشن گذاشته و 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 40 درجه سانتیگراد و فشار 275 mmHg، عمل جداسازی حلال الکل تا به دست آمدن یک عصاره غلیظ ادامه یافت، آنگاه عصاره غلیظ بدست آمده از داخل بالن خارج گردید و عصاره داخل بشر در دسیکاتور قرار گرفت تا عصاره خشک شد (18).

در این پژوهش حیوانات به گروه های 8 تایی تقسیم شدند که شامل:

1- گروه کنترل مثبت (Salin) گنادکتومی: حیوانات این گروه جراحی شده و 1 mg/kg محلول سرم فیزیولوژیک (سالین)، در یافت کردند.

2- گروه های تجربی (Experimental) گنادکتومی: حیوانات شامل 3 زیر گروه که عصاره هیدرو الکلی دانه انیسون را با دوز های ۲۵۰، ۳۰۰ و 400 دریافت کردند (10).

تزریقات یک بار (حاد)، به صورت درون صفاقی (i.p) و در ساعت 11 صبح انجام شد. 30 دقیقه بعد از تزریق با استفاده از مازبه علاوه مرتفع و به مدت 5 دقیقه شاخص های ارزیابی اضطراب (زمان سپری شده در بازوی باز و بسته و دفعات ورود به بازوی باز و بسته) مورد ارزیابی قرار گرفت.

ماز به علاوه مرتفع (Elevated Plus Maze) یک مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، این دستگاه شامل دو بازوی باز و دو بازوی بسته مقابل هم بوده (40cm طول 10cm پهنا) و دیوارهای بسته توسط دیوار 40cm احاطه شده و در مرکز نیز مربع $10 \times 10 \text{ cm}$ قرار گرفته است. این وسیله 70cm بالاتر از سطح زمین قرار می گیرد و یک لامپ 100 واتی در ارتفاع 120 cm تعبیه شده است.

برای انجام تست، هر موش در وسط دستگاه بطوریکه سر آن به طرف بازوی باز باشد، قرار داده شد. مدت پنج دقیقه ای که حیوان آزادانه در قسمتهای مختلف ماز حرکت می کرد، زمان سپری شده در بازوی باز و بسته و دفعات ورود

نتایج

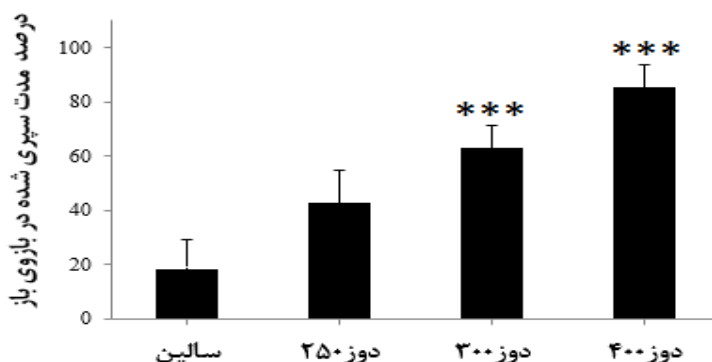
موش های دریافت کننده دوز 250mg/kg عصاره هیدرو الکلی دانه انیسون در مقایسه با گروه کنترل مثبت (دریافت کننده سالین) تفاوت معنی داری را در مدت حضور در بازوی باز نداشتند. موش های دریافت کننده دوز های 300mg/kg و 400 عصاره هیدرو الکلی دانه انیسون افزایش معنی داری را در مدت حضور در بازوی باز در مقایسه با گروه کنترل مثبت گنادکتومی نشان دادند ($P<0/001$) (نمودار 1). همچنین موش های دریافت کننده دوز 250mg/kg و 400 افزایش معنی داری در تعداد دفعات ورود به بازوهای باز نسبت به گروه کنترل مثبت گنادکتومی داشتند ($P<0/001$) (نمودار 2).

مقایسه آماری میانگین و انحراف معیار میزان فعالیت حرکتی (Locomotor) (تعداد کل دفعات ورود به بازوی باز و بسته) در ماز بعلاوه مرتفع نشان داد که بین گروه های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی دانه انیسون با دوزهای 250، 300، 400 و 400 نسبت به گروه کنترل مثبت گنادکتومی (دریافت کننده سالین) در میزان فعالیت حرکتی تفاوت معنی داری وجود نداشت (نمودار 3).

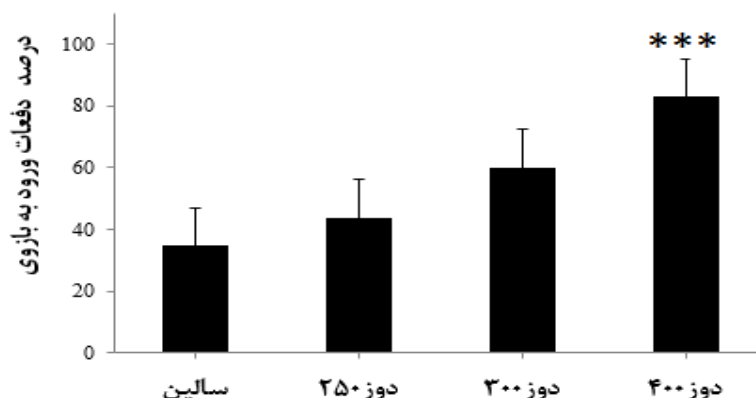
به بازوی باز و بسته با استفاده از کورنومتر اندازه گیری و ثبت شد. میزان فعالیت های حرکتی (تعداد کل دفعات ورود به بازوی باز و بسته) نیز بواسطه مشاهده مستقیم ثبت شد (18).

جراحی حیوانات (گنادکتومی GDX) بر اساس روش های بیان شده توسط WayneForth انجام شد. به منظور جراحی، ابتدا حیوانات با استفاده از هیدروکلرید کتامین (24mg/kg) و هیدروکلرید گزیلن (100- 120mg/kg) بیهوش شدند. 2 سانتی متر شکاف عرضی در اسکروتوم ایجاد شده و پوست عقب کشیده شد تا بیضه ها نمایان شدند. بیضه ها با فشار ملایمی در ناحیه لگنی قرار گرفتند. شریان اسپرماتیک فشرده شد و بیضه ها برداشته شدند. سپس اپی دیدیم و وازدفرا به درون اسکروتوم منتقل و محل شکاف با نخ بخیه و سوزن جراحی بخیه زده شد (20 و 19).

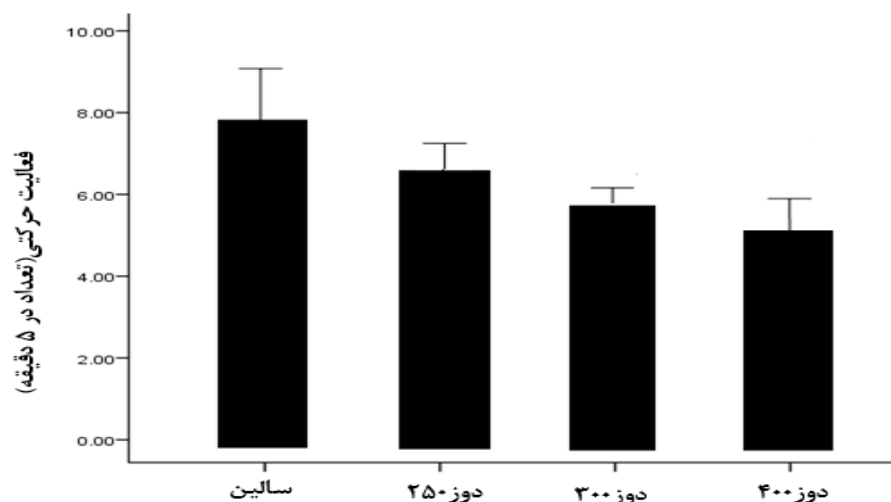
در هر سری از آزمایشها اثر دوزهای مختلف عصاره گیاه انیسون به صورت میانگین و میانگین خطای معیار (Mean SEM) برای هر گروه ثبت شد و داده ها توسط آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون توکی (Tukey) تجزیه و تحلیل شده و اختلاف با $P<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.



نمودار 1: میانگین و انحراف معیار درصد مدت سپری شده در بازوی باز ماز به علاوه ای مرتفع گروه های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با مقادیر 250 و 300 و 400 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل مثبت گنادکتومی (دریافت کننده سالین)، *** $P<0/001$ ، $n=8$



نمودار 2: میانگین و انحراف معیار دفعات ورود به بازوی باز ماز به علاوه ای مرتفع گروه های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با مقادیر 250 و 300 و 400 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل مثبت گنادکتومی (دریافت کننده سالین)، $P < 0.001$ ***، $n = 8$



نمودار 3: میانگین و انحراف معیار فعالیت حرکتی (تعداد کل دفعات ورود به بازوی باز و بسته در مدت 5 دقیقه) در ماز به علاوه ای مرتفع گروه های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با مقادیر 250، 300 و 400 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل مثبت گنادکتومی (دریافت کننده سالین) $n = 8$

بحث

معنی داری افزایش تعداد دفعات ورود به بازوی باز ماز به علاوه ای مرتفع را در مقایسه با گروه کنترل مثبت نشان داد. بنابراین عصاره دارای اثرات ضد اضطرابی در موش های نر گنادکتومی است.

تستوسترون، پلاستی سیتی سیناپسی را در هیپوکامپ موشهای صحرانی نر کاهش می دهد، سپس به استروژن تبدیل شده، روی رسپتورهای NMDA و GABA در هیپوکامپ، آمیگدال یا دیگر نواحی مغز قرار می گیرد. با توجه به اینکه

در این پژوهش، اثر عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون بر موشهای صحرایی نر گنادکتومی مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به نتایج این مطالعه، عصاره هیدروالکلی دانه گیاه انیسون با دوزهای 300 و 400 mg/kg بطور معنی داری سبب افزایش مدت زمان حضور در بازوی باز ماز به علاوه ای مرتفع در مقایسه با گروه کنترل مثبت (دریافت کننده سالین) شد. همچنین عصاره در دوز 400 mg/kg بطور

شدند، کاهش در میزان اضطراب داشتند و مشخص شد فیتواستروژنها مانند استروژن توسط گیرنده گابا A عمل می کنند (27و7).

همچنانکه اشاره شد فیتو استروژن ها گروهی از ترکیبات پلی فنولیک غیر استروئیدی هستند که اثراتی شبیه استروژن ایجاد می کنند و از طریق گیرنده بتا استروژن عمل کرده و باعث کاهش اضطراب در گونه های مختلف می شوند (5و6). اثرائسون نیز به عنوان یک فیتواستروژن بر روی اختلالات قاعدگی (دسیمنوره) مورد مطالعه قرار گرفته است (28).

با تزریق درون صفاقی عصاره انیسون در دوزهای mg/kg 300 و 400 از اضطراب گروه های مورد آزمایش بصورت معنی داری کاسته شد. با توجه به نقش تستوسترون (ضد اضطرابی) و کاهش آن در موش های گنادکتومی، این احتمال وجود دارد که برخی ترکیبات عصاره مثل فیتو استروژن ها، عملکردی مشابه نورواستروئید ها در مغز ایجاد کرده و با افزایش تحریک گیرنده های گابا سبب کاهش اضطراب می شوند. همچنین مختاری و همکاران در بررسی اثر عصاره الکلی چمچمه خرما بر میزان هورمون های جنسی نر نشان دادند که این عصاره دارای دو ترکیب فیتواستروئول و کومارین می باشد. این دو ترکیب اثرهای آنتی آندروژنی و استروژنیک دارند و احتمالاً از طریق اثر بر گیرنده های GABA_A باعث افزایش رهایش گاما- آمینوبوتیریک اسید در قشر پریفروناتال می گردد (29).

دانه انیسون حاوی ترکیبات شیمیایی مختلف از جمله روغن های فرار است و قسمت عمده این روغن را آنتول، دی آنتول، کومارین و ترکیبات استروئیدی و املاح آنها مانند استیگماستروئول تشکیل می دهد (10). وجود دی آنتول در عصاره انیسون، عامل اصلی خاصیت استروژنیکی است. دی آنتول از لحاظ ساختمان و فعالیت، مشابه ماده استروژنیک استیل بسترول می باشد و اعمال استروژنیک از جمله افزایش ترشح شیر و قاعده آوری را سبب می شود (30). مطالعات اخیر نشان داده اند استروژن و فیتواستروژن ها دارای خاصیت ضد اضطرابی هستند (7) و به نظر می رسد با توجه به وجود

GABA نوروترنسمیتر مهاری است، روند مهار اضطراب اتفاق می افتد (19)، بدین منظور در این پژوهش با خارج کردن گنادها (گنادکتومی) مهمترین منبع تستوسترون حذف گردید. گنادکتومی تحریک پذیری نورونی و تراکم سیناپسی را در هیپوکامپ کاهش داده و آسیب پذیری سلول را افزایش می دهد. این اطلاعات پیشنهاد می کند که هیپوکامپ هدف تستوسترون و متابولیت های آن بوده و خارج کردن بیضه ها (گنادکتومی GDX) که منبع اصلی آندروژن ها است، باعث کاهش غلظت تستوسترون و در پی آن کاهش رفتارهای تهاجمی و در نتیجه افزایش رفتار اضطرابی و ترس در نرها می شود (22 و 21 و 19). تزریق تستوسترون، برخی از اثرات گنادکتومی (GDX) را اصلاح می کند (19). نتایج بدست آمده از پژوهش خاکپای و همکاران نشان داد که گنادکتومی باعث کاهش ورود به بازوی باز و زمان سپری شده در بازوی بازمی گردد (19).

علاوه بر این در سالهای اخیر نقش ضد اضطرابی برخی عصاره های گیاهی مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه وفایی و همکاران عصاره آبی میوه گیاه فلوس با دوزهای 250 و 500 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث کاهش سطح اضطراب موش های کوچک آزمایشگاهی گردید (23). در مطالعه میلادی گرجی و همکاران دوزهای 0/5 و 0/10 و 0/15 میلی گرم بر کیلوگرم 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 (24). در مطالعه رضایی و همکاران عصاره سنبل الطیب با بیشترین پاسخ در دوز 200 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن اثرات تسکینی و ضد اضطراب بهتری در مقایسه با دیازپام در موش های ماده نژاد ویستار نشان داد (25). تاثیر اسانس روغنی انیسون بر روی مغز موش ها باعث فعال شدن گیرنده های مهاری گابا B₁ شده که این اثر تحریکی به خصوص بر روی زیر گروه گیرنده های GABA_A مشاهده گردید (26). در بررسی دیگری، موش هایی که با غذای غنی از فیتواستروژن (سویا) تغذیه

ژنین که به عنوان ترکیبات دارویی فعال و اثرگذار در سیستم عصبی مرکزی، دارای فعالیت استروژنیک نیز بوده و در بافت‌های هدف ویژه همانند مقلدهای استروژن عمل کرده و اثر ضد اضطرابی ایجاد می‌کند (32).

نتیجه گیری

تزریق دوزهای 300 و 400 میلی گرم بر کیلو گرم از عصاره دانه انیسون در موش‌های گناتومی توانست اثرات ضد اضطرابی ایجاد کند. احتمالاً وجود برخی ترکیبات عصاره مثل فیتو استرول‌ها، سبب کاهش اضطراب گردیده و این اثرات با واسطه تأثیر بر سیستم گابائوترژیک و گیرنده‌های استروژنی اعمال شده است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری و حمایت‌های آقای دکتر محمد حسین نیک سخن در اجرای این مطالعه تشکر و قدردانی می‌گردد.

دی آنتول و کومارین دردانه انیسون (10) بتوان فعالیت استروژنیک به آن نسبت داد که اثراتش را با واسطه تأثیر بر گیرنده‌های استروژن و سیستم گابائوترژیک اعمال می‌کند (5). فلاونوئیدها به عنوان لیگاند رسپتورهای $GABA_A$ در سیستم عصبی مرکزی بوده و در نتیجه احتمالاً شبیه بنزودیازپین‌ها عمل می‌کنند (31). این فرضیه با مطالعات رفتاری انجام شده بر روی رفتار اضطرابی، آرامبخشی و تشنج در مدل‌های جانوری تأیید می‌شود (32). گلیکوزید فلاونوئیدی آپی ژنین قادر به عبور از سد خونی-مغزی می‌باشد و به عنوان تنظیم‌کننده مثبت و آلوستوتیک سبب تقویت اثرات گابا بر روی گیرنده گابا می‌شود و برخلاف دیازپین‌ها وابستگی ایجاد نمی‌کند. دانه گیاه انیسون نیز به دلیل دارا بودن آپی ژنین می‌تواند با کاهش دادن فعالیت نورونی اثر ضد اضطرابی داشته باشد. علاوه بر آپی ژنین گلیکوزید فلاونوئیدی دیگری به نام لوتولین در انیسون وجود دارد و احتمالاً اثرات این ماده هم از طریق واسطه گری سیستم گابائوترژیک اعمال می‌شود. البته بعضی از فلاونوئیدهای موجود در عصاره انیسون نظیر آپی

Reference

1. Johnston GAR, Chebib M, Hanrahan JR, Mewett K. GABA C receptors as drug targets. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2003; 2: 260-268.
2. Enoch MA. The role of GABA A receptor in the development of alcoholism. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 90: 95-104.
3. Kittler JT, Moss SJ. Modulation of GABA A receptor activity by phosphorylation and receptor trafficking: implications for the efficacy of synaptic inhibition. *Curr Opin in Neurobiol* 2003; 13: 341-347.
4. Weiser MJ, Foradori CD, Handa RJ. Estrogen receptor beta in the brain: From form to function. *Brain Res* 2008; 57: 309-320.
5. Pourabbas S, Kesmati M, Rasekh A. Study of the anxiolytic effects of fennel and possible roles of both GABAergic system and estrogen receptors in these effects in adult female rat. *Physiology and Pharmacology* 2011; 15: 134-143. [In Persian]
6. Blasi C. Influence of benzodiazepines on body weight and food intake in obese and lean Zucker rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2000; 24: 561-577.
7. Lund TD, Lephart ED. Dietary soy phytoestrogens produce anxiolytic effect in the elevated plus-maze. *Brain Res* 2001; 913: 180-184.
8. Appt S E. Usefulness of the monkey model to investigate the role of soy in postmenopausal women's health. *ILAR J* 2004; 45: 200-211.
9. Zargari A. Medical Plants. 6th ed. Tehran: The University of Tehran Publication, 1995: 502-507. [In Persian]

10. Heidari MR, Ayeli M. Effects of methyl alcoholic extract of *Pimpinella anisum* L. on picrotoxin induced seizure in mice and its probable mechanism. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medicine Science* 2005; 10:1-8. [In Persian]
11. Orav A, Raal A, Arak E. Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries. *Nat Prod Res* 2008; 22: 227-232.
12. 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; 22: 212-8.
13. Isidora S, Mijatovic V, Petkovic S, Skrbic B, Bozin B. The influence of essential oil of aniseed (*Pimpinella anisum*, L.) on drug effects on the central nervous system. *Fitoterapia* 2012; 1466-1473.
14. Szabadics J, Erdelyi L. Pre- and postsynaptic effects of eugenol and related compounds on *Helix pomatia* L neurons. *Acta Biol Hung* 2000; 51: 265-273.
15. Samojlik I, Mijatović V, Petković S, Škrbić B, Božin B. Essential Oil of Aniseed (*Pimpinella anisum*, L.) Influences Effects of Drugs Acting in Central Nervous System in Mice. *Proceeding of 6th European Congress of Pharmacology*. 2012 Jul. 17-20, Granada, Spain.
16. Macluskus NJ, Lieberburg I, McEwen BS. The development of estrogen receptor systems in the rat brain: Perinatal development. *Brain Research* 1979; 178: 129-142.
17. Bitran D, Kellogg CK, Hilvers RJ. Treatment with an Anabolic-Androgenic Steroid Affects Anxiety-Related Behavior and Alters the Sensitivity of Cortical GABA Receptors in the Rat. *Hormones and Behavior* 1993; 27: 568-583.
18. Samsam Shariat H. Qualitative and quantitative evaluation of the active constituents and control methods for medicinal Plants. 1st ed. Esfahan: Many, 1992: 12-16. [In Persian]
19. Khakpay F, Rostami P, Peilevarian AA. The effect of gonadectomy and treatment with testosterone on fear behavior in gonadectomized rats. *Iranian Journal of Biology* 2006; 19: 341-347. [In Persian]
20. Waynforth HB, Flecknell PA. Experimental and surgical technique in the rat. 2nd ed. London: Academic Press London, 1992: 160-3.
21. Frye, CA, Paris JJ. Effects of neurosteroid actions at N-methyl-D-aspartate and GABA-A receptors in the midbrain ventral tegmental area for anxiety-like and mating behavior of female rats. *Psychopharmacology* 2011; 213: 93-103.
22. Edinger KL, Frye CA. Testosterone's anti-anxiety and analgesic effects may be due in part to actions of its 5α -reduced metabolites in the hippocampus. *Psychoneuroendocrinology* 2005; 30: 418-430.
23. 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. [In Persian]
24. Miladi Gorgi H, Safakhah H, Haghighi S. Anxiolytic effects of the aqueous extracts of spinach leaves in mice. *Sci J of Kurdistan Univ of Med Sci* 2010; 15(2): 43-50. [In Persian]
25. Rezaie A, Pashazadeh M, Ahmadizadeh 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: 169-74. [Article in Persian]
26. Sahraei H, Ghoshooni H, Hossein Salimi S. The effects of fruit essential oil of the *Pimpinella anisum* on acquisition and expression of morphine induced conditioned place preference in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2002; 180: 43-47.

27. 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 Meth* 1985; 14: 149-167.
28. Khoda Karami N, Moattar F, Ghahiri A. Comparison of effectiveness of an herbal drug (Celery, Saffron, Anise) and mephnamic acid capsule on primary dismenorrhea. *Ofoghe Danesh* 2008; 14: 11-19.
29. Mokhtari M, Sharifi A, Moghaddamnia D. Effect of alcoholic extract of date on changes of testis tissue, level of LH and FSH hormones and testosterone in male rat. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2006; 9: 265-271. [In Persian]
30. De Groot LJ, Jameson JL. *Endocrinology*. 4th ed. Philadelphia: Saunders, 2001: 123-6.
31. Fernandez SP. Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides. *European Journal of Pharmacology* 2006; 39: 168-176.
32. Marder M, Paladini AC. GABA-A-receptor ligands of flavonoid structure. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2002; 2: 853-867.