

Effect of *Lippia Citriodora* on Anxiety Behaviour in Adult Male Rats

Maryam Eidi^{1*}, Ali Ilchizadeh Kavgani², Saleh Shahabzadeh², Zahra Sasaninezhad³, Reza Ghahramani⁴, Mostafa Hamidi Nomani⁴

¹Department of Biology, School of Biological Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

²Young Researcher's and Elite Club, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³Department of Genetic, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁴Young Researcher's and Elite Club, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

Received: 22 Oct, 2013 Accepted: 8 Jan, 2014

Abstract

Background and Objectives: Anxiety is as a common disorder can be treated with botanical medicines. Herbal medicine and complementary and alternative medicine have widespread usage among individuals with mood and anxiety disorders. The benefit effect of *Lippia citriodora* is proposed for treatment of various neurological diseases. In the present study the effect of *Lippia citriodora* extract on anxiety behavior was evaluated in adult male rats by elevated plus maze.

Materials and Methods: In experimental study, *Lippia citriodora* extract at doses 50, 100, 200 and 300 mg/kg was administrated in adult male rats, interperitoneally. The control group was treated saline as vehicle. 30 minutes after treatment, anxiolytic effect of plant was evaluated by elevated plus maze during 300 s.

Results: Treatment of *Lippia citriodora* hydro-ethanolic extract at dose 200 mg/kg increased staying in open arm and ratio of open arm entries to whole arms entries (%OAE) and at doses 50, 100 and 200 mg/kg reduced ratio of time of first entry to open arm to time of first entry to whole arms (%OAT).

Conclusion: Extract of *Lippia citriodora* leaves has anxiolytic effect in rats and the effect may be related to flavonoids and interaction with GABAergic system.

Keywords: *Lippia citriodora*, Anxiety, Elevated plus-maze, Rat

*Corresponding author:

E-mail: maryameidi@gmail.com

مقاله پژوهشی

اثر عصاره هیدروالکلی برگ به لیمو بر رفتار اضطرابی در موش های صحرایی نر بالغ

مریم عیدی^{۱*}، علی ایلچی زاده کاوگانی^۲، صالح شهاب زاده^۲، زهرا ساسانی نژاد^۲، رضا قهرمانی^۳، مصطفی حمیدی نعمانی^۴

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
^۲باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۳گروه ژنتیک، واحد پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۴باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

دریافت: ۹۲/۷/۳۱ پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۸

چکیده

زمینه و اهداف: اضطراب کمبود شایع و اختلال روانی است که با طب گیاهی قابل درمان است. طب گیاهی و طب مکمل در میان افرادی که از اختلالات اضطراب رنج می برند، کاربرد وسیعی دارند. اثر مفید گیاه به لیمو برای درمان بیماری های عصبی مختلف پیشنهاد شده است. در مطالعه حاضر، اثر عصاره هیدروالکلی برگ به لیمو بر رفتار اضطرابی در موش های صحرایی نر بالغ توسط ماز مرتفع + شکل مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در مطالعه تجربی حاضر، عصاره هیدروالکلی برگ به لیمو در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به روش درون صفاقی به موش های صحرایی نر بالغ تیمار شد. گروه کنترل سالین را بعنوان حلال دریافت کردند. اثر ضد اضطرابی عصاره هیدروالکلی برگ به لیمو ۳۰ دقیقه بعد از تزریق درون صفاقی عصاره با استفاده از ماز مرتفع + شکل به مدت ۳۰۰ ثانیه مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد تیمار عصاره هیدروالکلی برگ به لیمو در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب افزایش زمان سپری شدن در بازوهای باز و افزایش درصد نسبت تعداد ورود به بازوهای باز بر دفعات ورود به کل بازوها (% Open Arm Entries, %OAE) شده و در غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب کاهش درصد نسبت زمان ورود به بازوهای باز بر زمان وزود به کل بازوها (% Open Arm Time, %OAT) می گردد.

نتیجه گیری: بنابراین، عصاره هیدروالکلی برگ گیاه به لیمو دارای اثر اضطراب زدایی در موش های صحرایی است که این اثر احتمالا بواسطه دارا بودن ترکیبات فلاونوئیدی و رابطه متقابل با سیستم گاباژیک می باشد.

کلید واژه ها: به لیمو، اضطراب، ماز مرتفع + شکل، موش صحرایی

*ایمیل نویسنده رابط: maryameidi@gmail.com

مقدمه

Lam. از خانواده ی شاه پسند (Verbenaceae) (۳) درختچه ای به ارتفاع ۱/۵ تا ۲ متر است. گیاه به لیمو از تیره Verbenaceae بطور خودروی در امریکای جنوبی رشد می کند و در مراکش، جنوب اروپا و آفریقای شمالی کشت می شود. برگ های این گیاه به صورت کشیده و به رنگ سبز کم رنگ بصورت دسته های سه تایی روی ساقه قرار می گیرند. جنس *Lippia* دارای بیش از ۲۰۰ گونه است که در این بین، جنس *L. citriodora* دارای اهمیت

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان بیماری ها در انسان قدمتی طولانی دارد. تخمین زده می شود بیشتر از ۱۰٪ از هزاران گونه گیاهی شناخته شده کاربرد دارویی دارند (۱). سازمان بهداشت جهانی برآورد کرده که حدود ۸۰٪ جمعیت جهان، از گیاهان دارویی برای جنبه هایی از مراقبت های بهداشتی خود استفاده می کنند (۲). گیاه به لیمو (*Lemon verbena*) گیاهی دارویی با نام علمی *Lippia citriodora* (*Aloysia triphylla*)

خشک تا زمان آزمایش در فریزر یخچال نگهداری گردید. پودر حاصله از گیاه با اتانل ۸۰ درصد مخلوط شد و سپس عصاره الکلی گیاه با استفاده از دستگاه سوکسله (Suxhlet) تهیه و توسط دستگاه روتاری (Rotary) خشک گردید. در پژوهش تجربی حاضر از ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم و در ۶ گروه استفاده گردید. تعداد حیوانات در هر گروه ۸ سر رت بود. حیوانات به آب و غذا دسترسی مداوم داشتند و در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی بین ۴۰ تا ۶۰ درصد با درجه حرارت کنترل شده ۲۳ ± نگهداری شدند. هر حیوان یک بار مورد استفاده قرار می گرفت. گروه های مورد آزمایش عبارت بودند از: گروه سالم: هیچ تیماری را دریافت نکردند (n=8).

گروه سالین: سالین را بعنوان حلال عصاره گیاه دریافت کردند (n=8). گروه های تجربی: عصاره هیدروالکلی به لیمو را در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم/کیلوگرم دریافت کردند (n=8). تست رفتاری مورد استفاده بر اساس روش Pellow می باشد (۱۱). تست ماز مرتفع + شکل (Elevated plus maze, EPM) از جنس پلاکسی گلاس و دارای دو بازوی باز و دو بازوی بسته است. طول و عرض هر دو بازوی باز و بسته به ترتیب ۵۰ و ۱۰ سانتی متر است. محل اتصال دو بازو، فضایی مربع شکل به اندازه ۱۰ × ۱۰ سانتی متر می باشد. این مجموعه روی پایه ای به ارتفاع ۵۰ سانتی متر از سطح زمین قرار دارد. ۳۰ دقیقه پس از تزریق درون صفاقی عصاره گیاه، رفتار شبه اضطرابی به کمک ماز مرتفع بررسی شد. حیوانات به مدت ۳۰۰ ثانیه در ماز قرار داشته و اجازه داشتند آزادانه در بازوهای باز و بسته حرکت کنند. در این مدت زمان سپری شده در بازوی باز، تعداد دفعات ورود به بازوهای باز و بسته بعنوان ملاک فعالیت حرکتی حیوانات، درصد زمان سپری شده در بازوی باز (% Open Arm Time, %OAT) و درصد ورود به بازوی باز (% Open Arm Entries, %OAE) به عنوان عوامل استاندارد ارزیابی اضطراب به این صورت محاسبه شدند: %OAT: زمان ورود به بازوی باز تقسیم بر زمان ورود به کل بازوها × ۱۰۰، %OAE: دفعات ورود به بازوی باز تقسیم بر کل دفعات ورود به بازوها × ۱۰۰. داده ها توسط نرم افزار SPSS به روش آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Dunnett آنالیز شده و نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم شدند. مرز استنتاج آماری $p < 0.05$ بود.

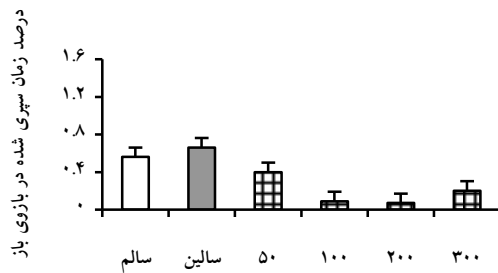
یافته ها

نتایج تحقیق حاضر نشان داد تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی برگ به لیمو در غلظت ۲۰۰ ($p < 0.01$) میلی گرم بر کیلوگرم موجب افزایش معنی دار زمان سپری شدن حیوانات در بازوهای باز در مقایسه با گروه کنترل (سالین) می گردد (نمودار ۱). نتایج تحقیق حاضر نشان داد تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی به لیمو در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب افزایش معنی دار تعداد ورود به بازوهای باز و بسته در مقایسه با گروه کنترل (سالین) نمی گردد (نمودار ۲).

ویژه ای می باشد. این گیاه بومی آمریکای جنوبی است که به طور وسیع در باغ های کشورهای اروپایی کشت می شود. امروزه این گیاه در شمال کشورمان کشت و کار می شود و گونه های بومی نیز از جنس *Lippia* در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری کشورمان وجود دارد. برگ آن در اثر مالش بوی عطر لیمو متضاد می کند (۳). ترکیبات اسانس برگ های به لیمو تهیه شده از عطاری تهران شامل ژرانیول، نرول، نرال، ژرانیال، لیمونن و او۱-سینثول، اسپاتولنول و آلفا-کورکومن می باشند (۴). عمده ترین ترکیبات اسانس در برگ به لیمو لیمونن، او۱-سینثول، ژرانیال، نرال، بتا-گوانین، اسپاتولنول و سایوفیلن اکسید گزارش شده است (۵). برگ های به لیمو دارای ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و فیل پروپانوئیدها می باشند. همچنین گزارش شده عصاره به لیمو دارای دو نوع ایریدوئید (iridoids) به نام verbenalin و hastatoside است (۶). در فرهنگ گیاه درمانی ایران، برگ های این گیاه به صورت دم کردنی به منظور آرام بخشی، ضد تشنج و برطرف کننده تپش قلب و سرگیجه مصرف دارد. برگ ها و اندام رویشی این گیاه دارای خاصیت تب بر، مسکن، ضدنفخ و کمک کننده به هضم غذا می باشد. چای به لیمو فوق العاده آرام بخش و تسکین دهنده اعصاب است (۷). در مراکش، جنوب اروپا و افریقای شمالی، برگ های گیاه به مقدار زیادی بعنوان چای برای خواص آنتی اسپاسمودیک و هضم کننده و آروماتیک استفاده می شود. همچنین، گیاه به لیمو یک وسیله سستی برای درمان سرماخوردگی، تب و اسپاسم است و برای درمان تب، درد معده، هضم و معایب معدی - روده ای نیز کاربرد دارد. این گیاه دارای خاصیت دیورتیک، ضدالتهای و ضدردی نیز می باشد (۸). عصاره آبی گیاه به لیمو دارای خواص آنتی ژنوتوکسیک و محافظت علیه آسیب ژنتیکی است (۹). علاوه بر این محصولات به لیمو و ترکیبات آن بصورت غذا نیز می تواند طبقه بندی گردد. اضطراب یکی از شایع ترین اختلالات روانی است که تعداد زیادی از افراد جوامع مختلف را مبتلا می سازد. اضطراب یک احساس ناراحت کننده است که خطری نامعلوم و مبهم را تداعی می کند. این حالات ذهنی که همه ما بارها تجربه کرده ایم با علائم جسمی و بدنی مانند فشردگی قفسه سینه، احساس تنگی و فشردگی در گلو، اشکال در تنفس، تپش قلب، گیجی، آشفتگی روانی و عرق کردن همراه است (۱۰). با توجه به اهمیت گیاه به لیمو در صنایع داروسازی، پزشکی، آرایشی و بهداشتی و از آنجایی که تاکنون مطالعه دقیقی در مورد اثر ضد اضطرابی این گیاه انجام نگرفته است. این پژوهش به منظور بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ به لیمو بر رفتار اضطرابی در موش های صحرایی نر نژاد ویستار انجام گرفت.

مواد و روش ها

در پژوهش تجربی حاضر، ابتدا برگ گیاه به لیمو (*Lippia citriodora*) از عطاری خریداری شده و شناسایی تاکسونومیک آن در هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انجام گرفت. گیاه در حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد در سایه خشک شده و توسط آسیاب مکانیکی به صورت پودر تبدیل گردید. پودر

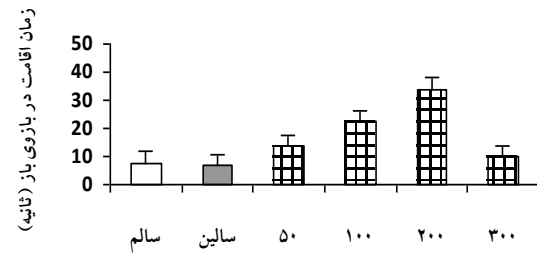


عصاره (میلی گرم/کیلوگرم)

نمودار ۴: اثر تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی به لیمو در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر OAT% در موش های صحرایی نر نژاد ویستار. هر ستون $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$ را برای ۸ موش صحرایی نشان می دهد

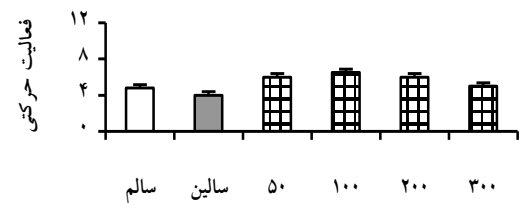
بحث

اضطراب یک مکانیسم سازشی مهم حیاتی برای زیست ارگانیسم است، ولی اضطراب زیاد می تواند بسیار ناتوان کننده باشد و علائم اضطراب خلق کننده فشارهای اجتماعی - اقتصادی در جوامع مدرن است. اضطراب زیاد از نظر کلینیکی اغلب به شکل کمبودهای مجزا ارائه می شود که بسیار معمول بوده و اغلب با سایر بیماری های پزشکی و روانی دیده می شود (۱۲). در حال حاضر، دو نوع درمان برای معایب اضطرابی در دسترس است که شامل درمان رفتاری - شناختی و عوامل فارماکولوژیک می باشند. بلوکرهای بتا یا بنزودیازپین ها برای معایب اضطرابی قابل پیش بینی و محدود به زمان استفاده می شوند، در حالی که مهارکننده های جذب مجدد سروتونین انتخابی، مهار کننده های انتخابی جذب مجدد سروتونین - نوراپی نفرین، عوامل ضد افسردگی سه حلقه ای، buspirone یا مهار کننده های مونوآمین اکسیداز برای معایب اضطراب مزمن یا راجعه استفاده می شوند (۱۳). در سال های اخیر، گیاهان دارویی و مکمل های غذایی برای درمان اضطراب ملایم تا متوسط مطرح شده اند. داده ها از موثر بودن بعضی گیاهان متداول و مکمل های غذایی حمایت می کنند. در برخی از این محصولات، پتانسیل مفید بودن بیشتر از ضرر آن برای کاربرد کوتاه مدت در بیماران دچار اضطراب است، ولی مطالعات جدی در این زمینه وجود ندارد (۱۴). مدارک متعددی از مطالعات مولکولی، حیوانی و کلینیکی اثبات کرده اند که کمپلکس رسپتور GABA_A نقش مرکزی در مدولاسیون اضطراب دارد. در حالی که عوامل درمانی در دسترس که روی این رسپتور اثر دارند (مانند بنزودیازپین ها)، اضطراب زدهای موثری هستند. استفاده از این عوامل بخاطر اثرات جانبی، مقاومت و پتانسیل اعتیادآورشان محدود شده اند (۱۵). در حال حاضر، محصولات طبیعی با منشاء گیاهی وجود دارند که بر عملکرد رسپتورهای یونوتروپیک GABA_A موثر هستند. کلاس های شیمیایی اصلی چنین محصولات طبیعی شامل فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، فنول ها و الکل های پلی استیلنیک می باشند (۱۶). ارتباط متقابل فلاونوئیدها با جایگاه های مدولاتوری بنزودیازپینی روی رسپتورهای GABA_A منتهی به توجه زیاد روی فلاونوئیدها بعنوان مدولاتورهای مثبت این



عصاره (میلی گرم/کیلوگرم)

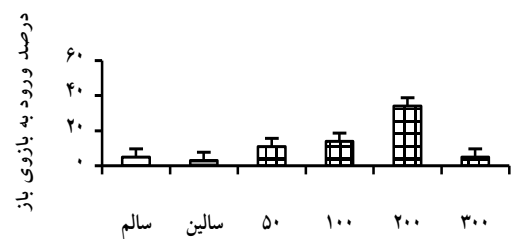
نمودار ۱: اثر تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی به لیمو در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر زمان اقامت در بازوی باز در ماز + شکل مرتفع در موش های صحرایی نر نژاد ویستار. هر ستون $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$ را برای ۸ موش صحرایی نشان می دهد



عصاره (میلی گرم/کیلوگرم)

نمودار ۲: اثر تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی به لیمو در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر فعالیت حرکتی در ماز + شکل مرتفع در موش های صحرایی نر نژاد ویستار. هر ستون $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$ را برای ۸ موش صحرایی نشان می دهد

نتایج تحقیق حاضر نشان داد تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی به لیمو در غلظت ۲۰۰ ($p < 0.01$) میلی گرم بر کیلوگرم موجب افزایش معنی دار OAT% در موش های صحرایی در مقایسه با گروه کنترل (سالین) می گردد (نمودار ۳).



عصاره (میلی گرم/کیلوگرم)

نمودار ۳: اثر تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی به لیمو در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر OAT% در موش های صحرایی نر نژاد ویستار. هر ستون $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$ را برای ۸ موش صحرایی نشان می دهد

نتایج تحقیق حاضر نشان داد تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی به لیمو در غلظت های ۵۰، ($p < 0.01$)، ۱۰۰، ($p < 0.01$) و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنی دار OAT% در موش های صحرایی در مقایسه با گروه کنترل (سالین) می گردد (نمودار ۴).

شود (۲۲). یک مطالعه فارماکولوژیکی نشان داد گیاه به لیمو (*Lippia alba*) یکی از معمول ترین درمان ها برای بی خوابی و اضطراب در برزیل است. گیاه *Lippia alba* در برزیل بخاطر دارا بودن اثرات مسکن استفاده می شود (۲۳). خواص مسکن گیاه وابسته به حضور روغن های فرار و ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره هیدرواتانلی آن می باشد (۲۴). *Hennebelle* و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸ نشان دادند ترکیبات *citral*، *myrcene* و *limonene* موجود در *Lippia alba* دارای اثرات اضطراب زدایی در موش است (۲۵). برخی از فلاونوئیدهای گیاهی مانند *apigenine* و *cirsiliol* با رسپتورهای بنزودیازپینی رابطه متقابل دارند (۲۶). این رابطه متقابل در کمپلکس رسپتور $GABA_A$ که غشاءهای عصبی را هیپرپلاریزه می کند، براه اندازنده اثرات شل کننده عضلات، ضد تشنج، مسکن و اضطراب زدا می باشد (۲۷). عملکرد درمانی سایر گونه های *Aloysia* (*Aloysia triphilla*) و *Aloysia polystachya* نیز شامل مسکن، تب دار، اضطراب زدا، دیورتیک، آنتی اسپاسمودیک می باشند که بواسطه وجود ترکیبات فلاونوئیدی است (۲۸).

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر کاربرد سنتی عصاره هیدرواتانلی گیاه به لیمو را در کاهش اضطراب تایید می کند. مکانیسم اثر آن احتمالا بواسطه دارا بودن ترکیبات فلاونوئیدی از طریق رابطه متقابل با رسپتورهای گابا می باشد. برای تعیین مکانیسم اثر آن تحقیقات بیشتری باید با استفاده از آگونیست و آنتاگونیست های گابا انجام گیرد.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا بواسطه تامین امکانات لازم برای انجام این پژوهش سپاسگزاری می شود.

رسپتورها شده است (۱۷). گیاه به لیمو بطور طبیعی در امریکای جنوبی رشد می کند و در اواخر قرن هفدهم در اروپا معرفی شده است (۱۸). کاربرد سنتی این گیاه شامل استفاده از آن در طب سنتی بعنوان درمان بی خوابی و اضطراب و یک عامل ضد درد و مسکن می باشد (۱۹). اخیرا، روغن اسانسی این گیاه بعنوان یک بیهوش کننده برای حیوانات آبری نیز استفاده شده است (۲۰). این گیاه دارای خواص آنتی اکسیدانی بوده و فعالیت قوی برای گیر انداختن رادیکال های سوپراکسید و فعالیت متوسطی برای گیر انداختن رادیکال های هیدروکسیل دارد (۱۹). از آنجایی که برگ های به لیمو نیز دارای ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و فینیل پروپانوئیدها می باشند، تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ به لیمو (*Lippia citriodora* Lam.) انجام شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار درون صفاقی عصاره هیدروالکلی برگ به لیمو موجب افزایش زمان سپری شده در بازوهای باز ماز مرتفع + شکل در موش های صحرایی نر می گردد. از سوی دیگر تیمار عصاره موجب افزایش درصد ورود به بازوی باز (OAE) و کاهش درصد زمان سپری شده در بازوی باز (OAT) در مقایسه با گروه کنترل می گردد. بنابراین تیمار عصاره گیاهی موجب کاهش اضطراب در موش های صحرایی تیمار شده با استفاده از مدل اضطراب ماز + شکل می گردد. در توافق با نتایج تحقیق حاضر، اثر اضطراب زدایی سایر گونه های جنس *Aloysia* مورد بررسی قرار گرفته است. *Aloysia virgata* یک گیاه طبی مورد استفاده در طب سنتی برای انواعی از بیماری هاست و هیچ اطلاعاتی از اثر این گیاه روی رفتار جانوری وجود ندارد. در بولیوی، پاراگوئه و آرژانتین این گیاه برای اثرات ضدنفخ، معرق، محرک، اشتهاآور، نیروبخش، ضدزکام و ضدرماتیسم استفاده می گردد (۲۱). *Marder* و *Wasowski* اولین بار نشان دادند که ترکیبات دی ترپتوئیدی فیلوکلادان نورواکتیو در *Aloysia virgata* وجود دارد. یکی از این دی ترپن ها دارای اثر اضطراب زدایی در موش در تست های ماز مربعی شکل و تاریکی/روشنایی است که احتمالا توسط ارتباط متقابل با جایگاه اتصال بنزودیازپینی رسپتور $GABA_A$ میانجی گری می

References

- Moerman DE. An analysis of the food plants and drug plants of native North. *American Journal of Ethnopharmacology* 1996; **52**: 1-2.
- Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 1999; **12**(4): 564-582.
- Mozaffarian M. *A Dictionary of Iranian plant names*. Farhange Moaser Press, 2008; PP: 740.
- Mojab F, Javidnia K, Zarghi A, Yamohamadi M. Study of chemical constituent oil of *Lippia citriodora* H. B. K. *J Medicinal Plants* 2003; **4**: 41-47.
- Rezaie MB, Jaymand K. Study of chemical constituent oil of *Lippia citriodora* H. B. K. *Pajouhesh va Sazandegi in Agron and Horti* 2002; **53**: 13-15.
- Valento P, Andrade PB, Areias F, Ferreres F, Seabra RM. Analysis of vervain flavonoids by HPLC/Diode array detector method. Its application to quality control. *J Agric Food Chem* 1999; **47**: 4579-4582.
- Argyropoulou CC, Daferera D, Tarantilis PA. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (Verbenaceae) at two developmental stages. *Plant Geno Evol* 2007; **35**: 831-837.
- Pascual ME, Slowing K, Carretero E, Snchez Mata D, Villar A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *J Ethnopharmacol* 2001; **76**: 201-214.
- Zamorano-Ponce E, Morales C, Ramos D, Sepúlveda C, Cares S, Rivera P, et.al. Anti-genotoxic effect of *Aloysia triphylla* infusion against acrylamide-induced

- DNA damage as shown by the comet assay technique. *Mutat Res* 2006; **603**: 145-150.
10. Bueno CH, Zangrossi H, Viana MB. The inactivation of the basolateral nucleus of the rat amygdala has an anxiolytic effect in the elevated T-maze and light/dark transition tests. *Braz J Med Biol Res* 2005; **38**: 1697-1701.
11. 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. *Journal of Neuroscience Methods* 1985; **14**: 149-167.
12. Liberzon I, Phan KL, Khan S, Abelson JL. Role of the GABA_A receptor in anxiety: evidence from animal models, molecular and clinical psychopharmacology, and brain imaging studies. *Curr Neuropsychopharmacol* 2003; **1**: 267-283.
13. Pillay NS, Stein DJ. Emerging anxiolytics. *Expert Opin Emerg Drugs* 2007; **12**: 541-554.
14. Ernst E. 2006. Herbal remedies for anxiety- a systematic review of controlled clinical trials. *Phytomedicine* 2006; **13**: 205-208.
15. Lader MH. Limitations on the use of benzodiazepines in anxiety and insomnia: are they justifying? *Eur Neuro psychopharmacology* 1999; **9**: 399-405.
16. Johnston GAR, Hanrahan JR, Chebib M, Duke RK, Mewett KN. Modulation of ionotropic GABA receptors by natural products of plant origin. *Adv Pharmacol* 2006; **54**: 285-316.
17. Marder M, Paladini AC. GABA_A-receptor ligands of flavonoid structure. *Curr Top Med Chem* 2002; **2**: 853-867.
18. Carnat A, Carnat AP, Fraisse D, Lamaison JL. The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. *Fitoterapia* 1999; **70**(1): 44-49.
19. Valentão P, Fernandes E, Carvalho F, Andrade PB, Seabra RM, Bastos ML. Studies on the antioxidant activity of *Lippia citriodora* infusion: a scavenging effect on superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Biol Pharm Bull* 2002; **25**: 1324-1327.
20. Cunha MA, Silva BF, Delunardo FAC, Benovit FC, Gomes LC, Heinzmann BM, et.al. Anesthetic induction and recovery of Hippocampus reidi exposed to the essential oil of *Lippia alba*. *Neotrop Ichthyol* 2011; **9**: 683-688.
21. Bassols G, Gurni A, Especies del género Lippia utilizadas en medicina popular Latino Americana. *Dominguezia* 1996; **13**, 7-24.
22. Wasowski C, Marder M. Central nervous system activities of two diterpenes isolated from *Aloysia virgata*. *Phyto Medicine* 2011; **18**: 393-401.
23. Wannmacher L, Fuchs FD, Paoli CL. Plant employed in the treatment of anxiety and Insomnia. I. An Ethnopharmacological Survey in Porto Alegre, Brazil. *Fitoterapia* 1990; **61**: 445-448.
24. Zétola M, De Lima TCM, Sonaglio D, González-Ortega G, Limberger RP, Petrovick PR, et.al. CNS activities of liquid and spray-dried extracts from *Lippia alba* /Verbenaceae (Brazilian false melissa). *Journal of Ethno Pharmacology* 2002; **82**: 207-215.
25. Hennebelle T, Sahpaz S, Joseph H, Bailleul F. Ethno pharmacology of *Lippia alba*. *Journal of Ethno pharmacology* 2008; **116**: 211-222.
26. Avallone R, Zanolli P, Puia G, Kleinschnitz M, Schreier P, Baraldi M. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *Matricaria chamomilla*. *Biochemical Pharmacology* 2001; **59**: 1387-1394.
27. Haefely W, Facklam M, Schoch P, Martin JR, Bonetti EP, Moreau JL, et.al. Partial agonists of benzodiazepine receptors for the treatment of epilepsy, sleep, and anxiety disorders. In: Biggio G, Concas A, Costa E. (Eds). *GABAergic Synaptic Transmission*. Raven Press, New York, 1992; PP: 379-394.
28. Hellin-Ibarrola MC, Ibarrola DA, Montalbetti Y, Kennedy ML, Heinichen O, Campuzano M, et.al. The anxiolytic-like effects of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae) in mice. *J Ethnopharmacol* 2006; **105**: 400-408.