

## مقاله پژوهشی

بررسی اثر ضد اضطرابی عصاره هیدروالکلی خرفه (*Oleracea Portulaca L.*) در موش

## صحرایی در طی سمیت با بیسفنول A

داود فضلی<sup>۱\*</sup>، غلامحسن واعظی<sup>۲</sup>، بهناز برزگرزاده نمرور<sup>۳</sup>، یوسف علیپور علیایی<sup>۳</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

\*مسئول مکاتبات: fazlibio57@gmail.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1948529.1350

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۸

## چکیده

بیسفنول A یک ماده شیمیایی بالقوه مختل‌کننده غدد درون‌ریز است که در صنایع پلاستیک بصورت وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرد و اثرات مخرب آن بر سیستم‌های مختلف بدن اثبات شده است. انسان بدلیل اینکه این ماده می‌تواند از مواد پلیمری آزاد شود و وارد منابع آبی و غذایی گردد، در معرض خطر بیشتری قرار دارد. گیاه خرفه (*Oleracea Portulaca L.*) با دارا بودن انواع ترکیبات فیتوشیمیایی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌تواند اثرات سمی بیسفنول را تعدیل نموده و بهبود بخشد. در این تحقیق، ۴۹ سررت نر بالغ نژاد ویستار به صورت تصادفی در هفت گروه ۷ تایی به شرح زیر تقسیم شدند: گروه کنترل، شاهد (دریافت‌کننده ۵۰۰ میکروگرم روغن ذرت/کیلوگرم وزن بدن)، گروه دریافت‌کننده سم (۵۰۰ میکروگرم/کیلوگرم وزن بدن بیسفنول A)، کنترل مثبت (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی گیاه خرفه)، ۳ گروه تیمار دریافت‌کننده خرفه (۵۰۰ میکروگرم بیسفنول A + ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم عصاره هیدروالکلی گیاه خرفه/کیلوگرم وزن بدن). تزریق‌ها به صورت داخل صفاقی و به مدت ۱۴ روز پیاپی انجام گردید. تست اضطراب توسط ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع در روز آخر انجام گرفت. داده‌ها در نرم‌افزار آماری SPSS طی آنالیز واریانس یک طرفه با تست تعقیبی توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. این تحقیق نشان داد در گروه‌های تیمار شده با خرفه زمان سپری شده در بازوی باز (OAT) و درصد دفعات ورود به بازوی باز (OAE) به‌عنوان شاخص‌های اضطراب افزایش معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) را در مقایسه با گروه کنترل دارد. نتایج حاکی از اثر وابسته به دوز عصاره هیدروالکلی خرفه در کاهش حالت اضطراب است. همچنین داده‌های تجزیه و تحلیل نشان داد که خرفه می‌تواند اثرات سمی BPA را بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: بیسفنول، خرفه، اضطراب، ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع.

## مقدمه

اضطراب به طور کلی به عنوان حالتی از نگرانی بی‌دلیل یا نامناسب تعریف می‌شود که اغلب با بی‌قراری، تنش، حواس پرتی، تحریک‌پذیری و اختلالات خواب همراه است (۱). طبق آمار حدود یک هشتم جمعیت جهان تحت تاثیر یک نوع اختلال اضطرابی قرار دارند. افراد مبتلا به اختلالات اضطرابی

اضطراب به طور کلی به عنوان حالتی از نگرانی بی‌دلیل یا نامناسب تعریف می‌شود که اغلب با بی‌قراری، تنش، حواس پرتی، تحریک‌پذیری و اختلالات خواب همراه است (۱). طبق آمار حدود یک هشتم جمعیت جهان تحت تاثیر یک نوع اختلال اضطرابی قرار دارند. افراد مبتلا به اختلالات اضطرابی

رفتار شبه‌اضطرابی، نقص‌های شناختی، اختلال یادگیری، حافظه، افسردگی، بیش‌فعالی و رفتارهای هیجانی با رفتار افتراقی در بین جنس‌های نر و ماده دارد (۶، ۱۸، ۳۰، ۳۵، ۴۲).

امروزه گیاهان دارویی بخش مهمی از طب سنتی بسیاری از کشورها را تشکیل می‌دهند و در رویکردهای جدید درمانی نیز دارای ارزش و جایگاه ویژه‌ای می‌باشند. گیاه خرفه با نام علمی *Oleracea Portulaca L.* گیاهی یک‌ساله از خانواده *Portulacaceae* است. این گیاه در مناطق جنوبی کشور به عنوان یک سبزی مهم مورد کشت قرار می‌گیرد و به پرپین مشهور است و در بسیاری از کشورهای دنیا برای اهداف گوناگون از جمله تغذیه انسان، صنایع تبدیلی و دارویی کاربرد دارد (۳۷).

نتایج بررسی مطالعات نشان می‌دهند که عصاره‌های آبی و الکلی بخش‌های مختلف گیاه خرفه بر روی سیستم عصبی دارای اثرات مختلفی از قبیل کاهش فعالیت لوکوموتور، فعالیت شل‌کنندگی عضلانی، فعالیت ضد تشنجی، ضد اضطراب و اثرات ضد دردی می‌باشند (۸، ۱۱، ۱۹، ۲۱، ۲۲، ۲۵، ۳۲، ۳۶).

همچنین این گیاه به دلیل داشتن آنزیم‌هایی در ریشه قادر است بیسفنول A را به واسطه داشتن گروه‌های فنل، به سرعت از آب برداشت کند (۱۷).

مواد موثره این گیاه شامل اگزالیک اسید، کینامیک اسید، کافئیک اسید، مالئیک اسید، اسید سیتریک، کومارین‌ها، فلاونوئیدها، آلانین، تانن، آلفا لینولئیک اسید می‌باشد و مشخص شده که آلكالوئیدها از جمله مهم‌ترین مواد شیمیایی این گیاه می‌باشد. خرفه منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند آلفا توکوفرول، اسید آسکوربیک و گلوکوتایون ویتامین A، B1، B2، C، E، بتا کاروتن و سایر اسید آمینه‌های ضروری است (۱)، (۲). از آنجا که نتایج متفاوتی از اثرات بیسفنول بر رفتار شبه اضطرابی منتشر شده است و از طرفی طبق

احتمال بیشتری برای ابتلا به سایر بیماری‌ها مانند افسردگی، سوء مصرف مواد مخدر، آسم و بیماری‌های قلبی عروقی دارند. از گذشته داروهای آرام‌بخش و ضد اضطراب یکی از پرمصرف‌ترین اقلیم دارویی محسوب می‌گردند. اکثر این داروهای ضد اضطرابی دارای اثرات تسکین‌دهنده، خواب‌آور و شل‌کننده عضلانی می‌باشند و مصرف آنها می‌تواند باعث وابستگی جسمی و اعتیاد روانی گردد (۳، ۵، ۳۸). رفتارهای اضطرابی به دنبال ایجاد تغییرات در عملکرد مغز و فرآیندهای نورواندوکرینی مانند تغییر در عملکرد سیستم لیمبیک و فعال شدن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-قشر آدرنال، باعث تغییر در سطوح پلاسمایی هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی می‌شود. این هورمون‌ها با مداخله در اعمال مغزی، پاسخ‌های لازم در رابطه با اضطراب را ایجاد کنند (۳۹)، (۴۳).

اغلب مطالعات نوروشیمیایی اضطراب بر روی سروتونین، نوراپینفرین و گابا متمرکز است و داروها می‌توانند با تغییر سطوح این انتقال‌دهنده‌های عصبی در مغز یا با دخالت در عمل گیرنده‌های آنها، اثرات ضد اضطرابی را اعمال کنند (۴، ۴۱).

بیسفنول A (BPA) یکی از مواد شیمیایی مختل‌کننده سیستم اندوکرینی شبه‌استروژنی است که در همه جا در بین انسان‌ها و حیات وحش پراکنده می‌باشد (۲۰). این ماده بطور گسترده در ساخت محصولات پلاستیکی از قبیل کاغذهای حرارتی، بسته‌بندی مواد غذایی و در بسیاری از محصولات پلاستیکی از قبیل مصالح ساختمانی، تجهیزات پزشکی، تجهیزات ورزشی، لوازم الکتریکی، اسباب بازی‌ها و ... استفاده می‌گردد (۷).

مطالعات نشان داده است که BPA رشد عصبی را مختل نموده و اثرات طولانی مدت رفتاری در مدل‌های حیوانی و انسان از قبیل افزایش پرخاشگری،

بررسی‌های ما تاکنون اثرات همزمان بیسفنول A و عصاره خرفه بررسی نگردیده است لذا در این تحقیق بر آن شدیم تا اثرات ضداضطرابی دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه خرفه را بر روی مدل تجربی اضطراب در رت‌های در معرض بیسفنول A بر اساس مدل ماز بعلاوه‌های شکل مرتفع Elevated Plus Maze) مورد سنجش قرار دهیم.

#### مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۴۹ سر رت نر بالغ ( $10 \pm 250$  گرم) به عنوان مدل آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفت. رت‌ها از حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند تهیه گردیدند و به مدت یک هفته قبل از تیمار جهت سازگاری با محیط آزمایشگاهی، به آزمایشگاه انتقال پیدا کردند. حیوانات در طول آزمایش تحت شرایط کنترل شده (دمای  $3 \pm 22$  درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی) قرار گرفتند. پودر بیسفنول A خریداری شده از شرکت سیگما در روغن ذرت در غلظت ۵۰۰ میکروگرم تهیه گردید.

برای تهیه عصاره الکی گیاه خرفه از روش‌های استاندارد عصاره‌گیری استفاده گردید. پس از جمع‌آوری گیاه خرفه توسط متخصص علوم گیاهی شناسایی شد. سپس خشک و بخش‌های هوایی گیاه آسیاب شد و الکل طبی ۹۶ درصد به پودر به دست آمده اضافه گردید. به مخلوط حاصله حدود ۷۲ ساعت فرصت داده شد تا خوب خیس بخورد. پس از صاف کردن سانتریفوژ شد و پس از قرار دادن در حمام آب گرم (برای تبخیر الکل) با قرار دادن عصاره در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد فوراً آبگیری انجام شد. عصاره مذکور به علت دارا بودن ترکیبات کاروتینوئیدی و روغنی به صورت کاملاً خشک و پودر مانند نیست (۹، ۴۸).

رت‌ها به طور تصادفی به ۷ گروه هفت‌تایی تقسیم شدند: گروه کنترل، شاهد (۵۰۰ میکروگرم/کیلوگرم روغن ذرت)، گروه دریافت‌کننده سم (۵۰۰ میکروگرم/کیلوگرم بیسفنول A)، کنترل مثبت (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره هیدروالکلی گیاه خرفه)، ۳ گروه تیمار دریافت‌کننده خرفه (۵۰۰ میکروگرم/کیلوگرم بیسفنول A + ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره هیدروالکلی گیاه خرفه). تمام تزریقات از طریق روش درون صفاقی و طی ۱۴ روز پیاپی انجام شد. در روز آخر تیمار، برای ارزیابی اضطراب از دستگاه ماز به علاوه مرتفع که یک مدل استاندارد برای بررسی رفتار اضطرابی در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه از جنس پلکسی‌گلاس بوده و شامل دو بازوی باز (هر یک  $35 \times 5$  سانتی‌متر) و دو بازوی بسته (هر یک  $15 \times 135 \times 5$  سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی ( $5 \times 5$  سانتی‌متر) است که ۴ بازو را به هم مرتبط می‌کند. این دستگاه حدود ۴۰ سانتی‌متر از کف اتاق بالاتر قرار می‌گیرد. این مدل تجربی بدلیل اینکه برای سنجش اضطراب غیرشرطی می‌باشد لذا نیازی به آموزش و یادگیری توسط حیوان ندارد. رت‌ها یک ساعت قبل از شروع آزمون‌های اضطراب سنجی از محل تیمار به آزمایشگاه سنجش اضطراب منتقل می‌شدند. ۳۰ دقیقه بعد از دریافت تزریقات بصورت درون صفاقی، هر حیوان در وسط کفه مرکزی رو به روی یک بازوی باز در دستگاه قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه از حرکات و رفتار حیوان فیلم تهیه گردید. بعد از بازبینی فیلم‌ها پارامترهای زیر اندازه‌گیری شد:

- تعداد دفعات ورود حیوان به بازوی باز
- تعداد دفعات ورود حیوان به بازوی بسته
- مدت زمانی که حیوان در بازوی باز باقی می‌ماند.
- مدت زمانی که حیوان در بازوی بسته باقی می‌ماند.
- سپس برای هر حیوان درصد ورود به بازوی باز (Open are enteris = OAE%) و درصد زمان ماندن

در بازوی باز (Open arm time = OAT%) از طریق فرمول زیر محاسبه شد.

- درصد مدت زمان ماندن حیوان در بازوی باز به زمان سپری شده در کل بازوها (درصد زمان ماندن در بازوی باز)

- درصد تعداد ورودی حیوان به بازوهای باز نسبت به تعداد ورودی‌ها به کل بازوها (درصد تعداد ورودی به بازوی باز)

افزایش معنی‌دار این شاخص‌های نشان دهنده کاهش رفتار اضطرابی است (۳۴).

### نتایج

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها برای شاخص درصد تعداد ورود به بازوی باز در جدول ۱ و نمودار ۱ نشان داده شده است. طبق این نتایج در تمام گروه‌ها در

مقایسه با گروه کنترل، تعداد دفعات ورود به بازوی باز (OAE) افزایش داشته است ولی فقط در گروه‌های تیمار با بیسفنول بعلاوه خرفه ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ نسبت به گروه کنترل و بیسفنول از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < ۰/۰۵$ ). نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها برای شاخص درصد زمان سپری شده در بازوی باز در جدول ۱ و نمودار ۲ نشان داده شده است. طبق این نتایج در تمام گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل، درصد زمان سپری شده در بازوی باز (OAT) افزایش داشته است ولی فقط در گروه‌های تیمار با بیسفنول بعلاوه خرفه ۵۰ و ۱۵۰ نسبت به گروه کنترل از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < ۰/۰۵$ ). همچنین درصد OAT در گروه خرفه نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p < ۰/۰۵$ ).

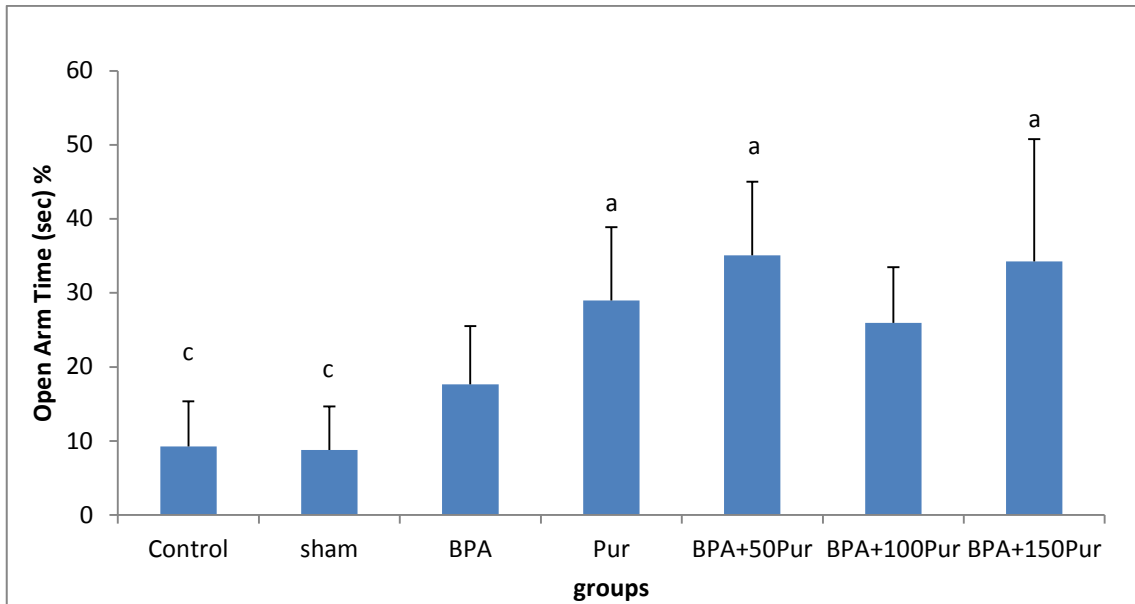
جدول ۱- میانگین و انحراف معیار OAT و OAE در بین گروه‌های مورد آزمایش با استفاده از آزمون Anova

درصد مدت زمان سپری شده در بازوی باز (OAT)	درصد تعداد دفعات ورود به بازوی باز (OAE)	
۹/۲۸۸±۶/۰۶ <sup>c</sup>	۲۹/۹۹±۴/۵۶	کنترل
۸/۷۷±۵/۸۹ <sup>c</sup>	۲۹/۲۵۰±۵/۱۴	شاهد
۱۷/۶۵±۷/۸۶	۳۲/۶۲۲±۹/۸۱	بیسفنول ۵۰۰
۲۸/۹۹۲±۹/۸۹ <sup>a</sup>	۳۹/۷۲۰±۱۳/۸۷	خرفه ۱۰۰ میلی‌گرم
۳۵/۰۹±۹/۹۴ <sup>a</sup>	۵۳/۴۲±۳/۱۵ <sup>a,b</sup>	بیسفنول + خرفه ۵۰ میلی‌گرم
۲۵/۹۶±۷/۵	۵۰/۱۸±۴/۷۹ <sup>a,b</sup>	بیسفنول + خرفه ۱۰۰ میلی‌گرم
۳۴/۲۶±۱۶/۵۲ <sup>a</sup>	۵۱/۴۲±۳/۱۹ <sup>a,b</sup>	بیسفنول + خرفه ۱۵۰ میلی‌گرم

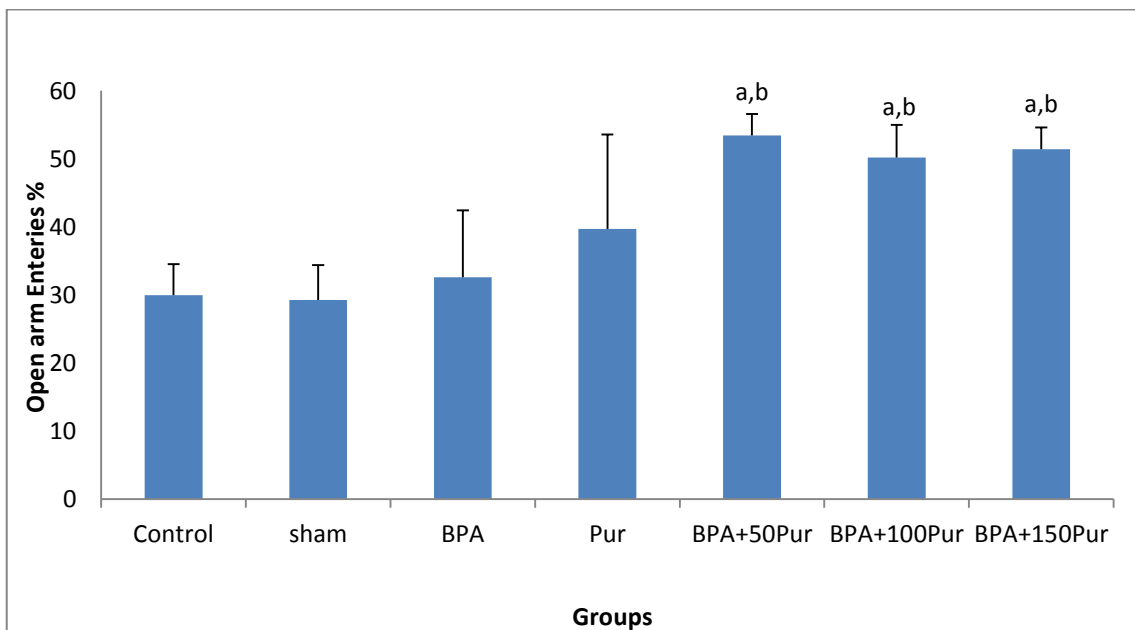
a: نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین سایر گروه‌ها و گروه کنترل ( $p < ۰/۰۵$ ), b: نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین سایر گروه‌ها و گروه بیسفنول

c: نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین سایر گروه‌ها و گروه خرفه ( $p < ۰/۰۵$ ), OAE: تعداد دفعات ورود به بازوی باز، OAT:

تعداد دفعات ورود به بازوی باز



نمودار ۱- درصد تعداد ورود به بازوی باز. OAT: تعداد دفعات ورود به بازوی باز، pur: عصاره خرفه، BPA: عصاره خرفه



نمودار ۲- درصد زمان سپری شده در بازوی باز (OAT). OAT: تعداد دفعات ورود به بازوی باز، pur: عصاره خرفه، BPA: عصاره خرفه

### بحث

درصد زمان سپری شده در بازوی باز و همچنین درصد ورود به بازوی باز در گروه‌های تیمار شده با بیسفنول بعلاوه عصاره خرفه ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی-گرم/کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل افزایش یافته و به استثنای گروه بیسفنول بعلاوه خرفه ۱۰۰ در

ماز بعلاوه مرتفع از سال ۱۹۸۶ توسط File و Pellow جهت ارزیابی اثرات اضطراب زایی و اضطراب زدایی داروها به کار گرفته شده است و امروزه در مطالعات رفتار اضطرابی در حیوانات آزمایشگاهی درای کاربرد زیادی می‌باشد (۳۴، ۴۹). طبق نتایج این تحقیق

به دلیل شل‌کنندگی عضلانی ایجاد شده به دنبال یون پتاسیم، دارای اثرات ضداضطرابی باشد (۱۶، ۲۷، ۳۱، ۳۶).

از طرف دیگر بر اساس نتایج مطالعات قبلی میزان استرس اکسیداتیو در اختلالاتی از قبیل استرس و اضطراب بالا می‌باشد (۲۳). به دلیل وجود فیتوآنتی-اکسیدان‌های متعدد در گیاه خرفه، به نظر می‌رسد یکی دیگر از مکانیسم‌های این گیاه در کاهش اضطراب با فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه مرتبط باشد. طبق نتایج این تحقیق درصد زمان سپری شده در بازوی باز و همچنین درصد ورود به بازوی باز در گروه‌های تیمار شده با بیسفنول نسبت به گروه کنترل افزایش یافته ولی این افزایش فقط در شاخص OAT از لحاظ آماری معنی دار بوده است ( $p < 0/05$ ). این نتایج حاکی از آن است که بیسفنول بر روی رفتارهای اضطرابی رت‌ها تاثیر کاهشی داشته است. این داده‌ها مشابه مطالعه Farabollini و همکاران (۱۹۹۹) است که قرار گرفتن در معرض BPA قبل از تولد باعث افزایش درصد ورود و همچنین زمان سپری شده در بازوی باز در موش‌های نر گردیده بود (۱۲). احتمالاً بیسفنول از طریق تغییرات در سیستم دوپامینرژیک و گیرنده‌های  $D_1$ ،  $D_2$ ، DAT و N-methyl-NMDA باعث کاهش اضطراب در موش‌ها می‌گردد (۱۲، ۴۲).

نتایج منتشر شده در مورد اثرات BPA بر اضطراب در جوانندگان جوان عموماً فعالیت اضطراب زا را نشان می‌دهد، اما شواهد موجود محدود است و اثرات جنسی در این سن متناقض است (۲۴، ۴۶).

به عنوان مثال برخی مطالعات به افزایش رفتار شبه اضطرابی در فقط در موش‌های نر جوان C57BL/6 J اشاره دارند (۱۰، ۲۷).

ولی نتایج مطالعات دیگر عکس این نتایج را نشان داده است (۱۵). برخی مطالعات نیز از عدم تاثیر

شاخص OAT، در سایر گروه‌ها افزایش هر دو شاخص OAT و OAE از لحاظ آماری معنی دار بوده است ( $p < 0/05$ ). این نتایج حاکی از آن است که عصاره خرفه باعث کاهش رفتارهای اضطرابی رت‌ها شده است.

بررسی نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهند که عصاره‌های آبی و الکلی بخش‌های مختلف گیاه خرفه بر روی سیستم عصبی دارای اثرات مختلفی از قبیل کاهش فعالیت لوکوموتور، فعالیت شل‌کنندگی عضلانی، فعالیت ضدتشنجی و اثرات ضددردی می‌باشند (۸، ۳۲، ۳۵).

همسو با نتایج این مطالعه، گرجی و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که استفاده از عصاره آبی تخم خرفه در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در موش‌ها در مقایسه با گروه کنترل در تعداد ورود و مدت زمان ماندن در بازوی باز (بر حسب ثانیه) دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (۲۶).

همچنین در بررسی دیگری نشان داده شده است که عصاره آبی ساقه و برگ گیاه خرفه با دوزهای ۱۰۰۰-۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بصورت تزریق داخل صفاقی و خوراکی در موش‌ها باعث ایجاد شل‌کنندگی در عضلات اسکلتی می‌گردد که این اثرات با دیازپام (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بصورت داخل صفاقی) و کلرودیازپوکساید (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بصورت داخل صفاقی) و دانترولن (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بصورت خوراکی) که بعنوان داروهای ضد اضطراب و شل‌کننده عضلات استفاده می‌شود، قابل مقایسه بوده و حتی در تزریق داخل صفاقی اثرات بهتری نسبت به آنها نشان داده است (۳۲).

بدلیل اینکه عصاره گیاه خرفه منبع غنی برای یون پتاسیم است لذا این احتمال وجود دارد که گیاه خرفه از طریق تاثیر بر سیستم عصبی مرکزی و محیطی و یا

3. Bandelow B., Michaelis S. 2015. Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 17(3): 327.
4. Beirami E., Oryan S., Valizadegan F., Zarrindast M. 2012., Performance Evaluation of Interference Morphine and  $\beta$ -Adrenergic System of Dorasal Hippocampus on Anxiety-Related Behaviour in Male Wistar rat. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 22(91): 50-59. (in Persian)
5. Bonyani A., Sajjadi S. E., Rabbani M. 2018. Anxiolytic effects of *Lippia citriodora* in a mouse model of anxiety. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 13(3): 205.
6. Braun J.M. 2017. Early-life exposure to EDCs: role in childhood obesity and neurodevelopment. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(3): 161-173.
7. Casas M., Chevrier C., Den Hond E., Fernandez M. F., Pierik F., Philippat C., Vrijheid M. 2013. Exposure to brominated flame retardants, perfluorinated compounds, phthalates and phenols in European birth cohorts: ENRIECO evaluation, first human biomonitoring results, and recommendations. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 216(3): 230-242.
8. Chan K., Islam M.W., Kamil M.A., Radhakrishnan R., Zakaria, M.N.M., Habibullah, M., Attas A. 2000. The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *sativa* (Haw.) Celak. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(3): 445-451.
9. Changizi-Ashtiyani S., Zarei A., Taheri S., Rasekh F., Ramazani M. 2013. The effects of *Portulaca oleracea* alcoholic extract on induced hypercholesterolemia in rats. *Zahedan Journal of Medical Sciences*, 15(6): 34-39. (in Persian)
10. Cox K. H., Gatewood J. D., Howeth C., Rissman E.F. 2010. Gestational exposure to bisphenol A and cross-fostering

بیسفنول بر اضطراب (۱۳، ۱۴، ۲۹، ۳۳، ۴۰، ۴۴، ۴۵) و برخی مطالعات دیگر نیز به کاهش رفتارهای اضطرابی در هر دو جنس موش‌های ICL در معرض بیسفنول A اشاره نموده‌اند (۲۸).

این اختلافات ممکن است به انتخاب دوزهای متفاوت، مسیر مصرف، دوره مصرف این دوزها، سن قرار گرفتن در معرض بیسفنول و جنسیت حیوانات مربوط شود.

### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق و بررسی نتایج سایر مطالعات به نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکلی گیاه خرفه دارای اثرات ضد اضطرابی بوده و میتواند اثرات احتمالی بیسفنول A بر اضطراب را تعدیل نموده و می‌تواند در رویکرد جدید درمانی، جایگزین مناسبی بجای داروهای ضد اضطراب باشد. همچنین به دلیل اینکه اثرات عصاره خرفه و همچنین بیسفنول وابسته به دوز می‌باشد، پیشنهاد می‌گردد اثرات آنها در دوزهای متفاوت نیز بررسی گردد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق در آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز مرند انجام گرفته است. نویسندگان مقاله لازم می‌دانند از مساعدت‌های مسئولین و کارکنان محترم مرکز تقدیر و تشکر نمایند.

### منابع

1. Antony C. 2001. Purslane (*Portulaca Oleracea*). *Personal care magazine*, 2(4): 7-15.
2. Arruda S.F., Siqueira E.M., Souza E.M. 2004. Malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) and purslane (*Portulaca oleracea*) leaves reduce oxidative stress in vitamin A-deficient rats. *Annals of nutrition and metabolism*, 48(4): 288-295.

18. Inadera H. 2015. Neurological effects of bisphenol A and its analogues. *International Journal of Medical Sciences*, 12(12): 926.
19. Kamal Uddin M., Juraimi A.S., Hossain M.S., Un A., Ali M., Rahman M.M. 2014. Purslane weed (*Portulaca oleracea*): a prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes. *The Scientific World Journal*, 2014: 1-6.
20. Kobroob A., Peerapanyasut W., Chattipakorn N., Wongmekiat O. 2018. Damaging effects of bisphenol A on the kidney and the protection by melatonin: emerging evidences from in vivo and in vitro studies. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018: 1-16
21. Lee C. H., Yoon B. H., Ryu J. H., Jung J.W. 2009. Anxiolytic-like effects of *Portulaca oleracea* L. using the elevated plus-maze in mice. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 9(2): 135-141.
22. Liang X., Li L., Tian J., Wu Y., Gao P., Li D., Song S. 2014. A rapid extraction and analysis method for the simultaneous determination of 26 bioflavonoids in *Portulaca oleracea* L. *Phytochemical Analysis*, 25(6): 537-543.
23. Malekirad A. A., mojtabaee M. 2018. Investigating the Effect of Milk - Dodder on Emotional, Cognitive, Behavioral and Physical Components of Anxiety. *Complementary Medical Journal*, 8(1): 2218-2223.
24. Matsuda S., Matsuzawa D., Ishii D., Tomizawa H., Sutoh, C., Nakazawa K., Shimizu E. 2012. Effects of perinatal exposure to low dose of bisphenol A on anxiety like behavior and dopamine metabolites in brain. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 39(2): 273-279.
25. Miladi-Gorgi H., Vafaei A. A., Rashidy-Pour A., Taherian A. A., Jarrahi M., Emami-Abargoie M. 2010. Investigation of anxiolytic effects of the affect behaviors in juvenile mice. *Hormones and behavior*, 58(5): 754-761.
11. Dkhil M.A., Moniem A.E.A., Al-Quraishy S., Saleh R.A. 2011. Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(9): 1589-1593.
12. Farabollini F., Porrini S., Dessi-Fulgheri F. 1999. Perinatal exposure to the estrogenic pollutant bisphenol A affects behavior in male and female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 64(4): 687-694.
13. Fujimoto T., Kubo K., Aou S. 2006. Prenatal exposure to bisphenol A impairs sexual differentiation of exploratory behavior and increases depression-like behavior in rats. *Brain Research*, 1068(1): 49-55.
14. Gioiosa L., Fissore E., Ghirardelli G., Parmigiani S., Palanza P. 2007. Developmental exposure to low-dose estrogenic endocrine disruptors alters sex differences in exploration and emotional responses in mice. *Hormones and Behavior*, 52(3): 307-316.
15. Gioiosa L., Parmigiani S., Vom Saal F. S., Palanza P. 2013. The effects of bisphenol A on emotional behavior depend upon the timing of exposure, age and gender in mice. *Hormones and Behavior*, 63(4): 598-605.
16. Habtemariam S., Harvey A.L., Waterman P. G. 1993. The muscle relaxant properties of *Portulaca oleracea* are associated with high concentrations of potassium ions. *Journal of Ethnopharmacology*, 40(3): 195-200.
17. Imai S., Shiraishi A., Gamo K., Watanabe I., Okuhata H., Miyasaka H., Hirata K. 2007. Removal of phenolic endocrine disruptors by *Portulaca oleracea*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 103(5): 420-426.



- adult anxiety and aggression in gonadally intact male rats. *Hormones and Behavior*, 53(4): 580-588.
34. Pellow S., File S.E. 1986. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 24(3): 525-529.
35. Perera F., Vishnevetsky J., Herbstman J.B., Calafat A.M., Xiong W., Rauh V., Wang S. 2012. Prenatal bisphenol a exposure and child behavior in an inner-city cohort. *Environmental Health Perspectives*, 120(8): 1190-1194.
36. Radhakrishnan R., Zakaria M.N.M., Islam M.W., Chen H.B., Kamil M., Chan K., Al-Attas A. 2001. Neuropharmacological actions of *Portulaca oleracea* L v. *sativa* (Hawk). *Journal of Ethnopharmacology*, 76(2): 171-176.
37. Rashed A.N., Afifi F.U., Disi A.M. 2003. Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(2-3): 131-136.
38. Regier D.A., Rae D.S., Narrow W.E., Kaelber C.T., Schatzberg A.F. 1998. Prevalence of anxiety disorders and their comorbidity with mood and addictive disorders. *The British Journal of Psychiatry*, 173(S34): 24-28.
39. Rosen J. B., Schulkin J. 1998. From normal fear to pathological anxiety. *Psychological Review*, 105(2): 325.
40. Ryan B.C., Vandenberg J.G. 2006. Developmental exposure to environmental estrogens alters anxiety and spatial memory in female mice. *Hormones and Behavior*, 50(1): 85-93.
41. Sandford J.J., Argyropoulos S.V., Nutt D.J. 2000. The psychobiology of anxiolytic drugs: Part 1: Basic neurobiology. *Pharmacology and Therapeutics*, 88(3): 197-212.
- aqueous extract of *Portulaca oleracea* in mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 3: 57-57.
26. Miladi-Gorji H., Vafaei A. A., Rashidy-Pour A., Taherian A. A., Jarrahi M., Emami-Abarghoie M., Sadeghi H. 2006. Anxiolytic effects of *Portulaca oleracea* aqueous extracts in mice. *Journal of Medicinal Plants*, 5(19): 23-28. (in Persian)
27. Mohamed A.I., Hussein A.S. 1994. Chemical composition of purslane (*Portulaca oleracea*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 45(1): 1-9.
28. Nakamura K., Itoh K., Dai H., Han L., Wang X., Kato S., Fushiki S. 2012. Prenatal and lactational exposure to low-doses of bisphenol A alters adult mice behavior. *Brain and Development*, 34(1): 57-63.
29. Negishi T., Kawasaki K., Suzaki S., Maeda H., Ishii Y., Kyuwa S., Yoshikawa Y. 2004. Behavioral alterations in response to fear-provoking stimuli and tranylcypromine induced by perinatal exposure to bisphenol A and nonylphenol in male rats. *Environmental Health Perspectives*, 112(11): 1159-1164.
30. Palanza P., Nagel S.C., Parmigiani S., & Vom Saal F. S. 2016. Perinatal exposure to endocrine disruptors: sex, timing and behavioral endpoints. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 7: 69-75.
31. Parry O., Marks J. A., Okwuasaba F. K. 1993. The skeletal muscle relaxant action of *Portulaca oleracea*: role of potassium ions. *Journal of Ethnopharmacology*, 40(3): 187-194.
32. Parry O., Okwuasaba F. K., Ejike C. 1987. Skeletal muscle relaxant action of an aqueous extract of *Portulaca oleracea* in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 19(3): 247-253.
33. Patisaul H.B., Bateman H.L. 2008. Neonatal exposure to endocrine active compounds or an ER $\beta$  agonist increases

46. Wolstenholme, J. T., Rissman, E. F., and Connelly, J. J. 2011. The role of Bisphenol A in shaping the brain, epigenome and behavior. *Hormones and Behavior*, 59, 296-305.
47. Xiang L., Xing D., Wang W., Wang R., Ding Y., Du L. 2005. Alkaloids from *Portulaca oleracea* L. *Phytochemistry*, 66: 2595-2601.
48. Zarei A., Changizi Ashtiyani S., Taheri S. 2014. The effects of hydroalcoholic extract of *Portulaca Oleracea* on the serum concentration of Hepatic enzymes in Rats. *Iranian South Medical Journal*, 17(5): 889-899. (in Persian)
49. Zarrindast M. R., Homayoun H., Babaie A., Etminani A., Gharib B. 2000. Involvement of adrenergic and cholinergic systems in nicotine-induced anxiogenesis in mice. *European Journal of Pharmacology*, 407(1-2): 145-158.
42. Tian Y. H., Baek J. H., Lee S. Y., Jang C. G. 2010. Prenatal and postnatal exposure to bisphenol a induces anxiolytic behaviors and cognitive deficits in mice. *Synapse*, 64(6): 432-439.
43. Vafaei A.A., Taherian A.A., Sobhaninejad M.S. 2009. Evaluation of interaction of Corticosterone and verapamil on anxiety related behavior in mice. *Pharmaceutical Sciences*, 15(3): 219-26. (in Persian)
44. Wolstenholme J.T., Goldsby J.A., Rissman E.F. 2013. Transgenerational effects of prenatal bisphenol A on social recognition. *Hormones and Behavior*, 64(5): 833-839.
45. Wolstenholme J.T., Taylor J.A., Shetty S.R., Edwards M., Connelly J.J., Rissman E. F. 2011. Gestational exposure to low dose bisphenol A alters social behavior in juvenile mice. *PLoS One*. 6(9): e25448.

## The Evaluation of Anxiolytic Effect of Hydroalcoholic *Portulaca Oleracea* Extract on Rats during Bisphenol A Toxicity

Davoud Fazli<sup>1\*</sup>, Gholamhassan Vaezi<sup>2</sup>, Behnaz Barzegarzadeh Nemrouz<sup>3</sup>, Yusuf Alipour Aliai<sup>3</sup>

- 1- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Payam Noor University, Tehran, Iran
- 2- Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
- 3- Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran

### Abstract

Bisphenol A is a potentially endocrine-disrupting chemical agent which is widely used in plastic industries and its wrecking effects on various body organs have been proved. Human is more exposed to BPA because it can be released from polymeric materials and enter water and food sources. Purslane is a plant with different kinds of phytochemical compounds and antioxidant and anti-inflammatory effects could modify and improve the toxic effects of BPA. Forty nine rats were randomly divided into 7 groups: control group, experiment group (receiving 500 µg of corn oil / kg BW), toxin-receiving group (500 µg of bisphenol A/kg BW), positive control (100 mg of hydroalcoholic extract of *portulaca oleracea*/kg BW), 3 treatment groups receiving purslane hydroalcoholic extract (500 µg of bisphenol A + 50, 100, 150 mg of hydroalcoholic extract of purslane hydroalcoholic extract/ kg BW, respectively). All injections are done by i.p rout in 14 consecutive days. Anxiety test is performed by elevated plus maze apparatus in the last day. Data was analyzed in SPSS statistical software by one-way ANOVA with Tukey posttest. The findings of the study indicated a significant increase ( $p \leq 0.05$ ) in the amount of Open Arm Time (OAT) and Open Arm Entries (OAE) as anxiety parameters in purslane treated groups compared with control group. The results indicate the dose-dependent effect of hydroalcoholic extract of purslane on the reduction of anxiety state. Also analyzed data showed that purslane can improve BPA toxic effects.

**Keywords:** Bisphenol, Purslane, Anxiety, Elevated Plus Maze.

