

## مطالعه اثر عصاره خرفه (*Portulaca oleracea L.*) و بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) بر

### تعدیل دوره خواب در موش کوچک آزمایشگاهی

حسین میلادی گرجی<sup>۱\*</sup>، عباسعلی وفایی<sup>۲</sup>، افسانه باقری<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری تخصصی و مربی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان

۲- استادی، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان

۳- پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان

\*آدرس مکاتبه: سمنان، کیلومتر ۵ جاده دامغان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

تلفن: ۳ - ۳۳۵۴۱۷۰ (۰۲۳۱) داخلی ۵۷۱، شماره: ۳۳۵۴۱۶۱ (۰۲۳۱)

پست الکترونیک: miladi331@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۲۶

تاریخ تصویب: ۸۹/۷/۱۳

#### چکیده

مقدمه: خرفه و بادرنجبویه گیاهانی هستند که در بخش‌های مختلف ایران زیاد می‌رویند. در مطالعات قبلی خواص آرام‌بخشی، ضد تشنجی، ضد دردی آنها گزارش شد.

هدف: هدف مطالعه حاضر تعیین اثر عصاره آبی گیاهان مزبور در دوزهای مختلف بر تعدیل دوره خواب در موش سوری می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه برای ارزیابی دوره خواب از روش Angle بر روی ۷۰ سر موش سوری نر به وزن ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. گروه‌های آزمایش دوزهای مختلف عصاره خرفه (۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن) و بادرنجبویه (۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در گروه کنترل نیز محلول نرمال سالین تزریق شد.

نتایج: نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که تزریق هر سه دوز عصاره خرفه و دوزهای ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم عصاره بادرنجبویه دوره خواب را در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنی‌داری افزایش می‌دهد ( $p=0/000$ ).

نتیجه‌گیری: یافته‌های فوق نشان می‌دهد که عصاره خرفه و بادرنجبویه احتمالاً دارای اثر خواب‌آوری می‌باشند.

کل واژگان: عصاره آبی، خرفه، بادرنجبویه، دوره خواب



## مقدمه

اختلالات خواب یکی از معضلات اصلی بهداشتی جامعه می‌باشد، به طوری که مصرف داروهای خواب‌آور هزینه بالایی بر جامعه تحمیل می‌کند. از این روی مصرف داروهای گیاهی به طور وسیعی افزایش یافته است. لذا جهت رسیدن به دوز مطلوب و اثربخشی داروهای گیاهی نیازمند آزمایش‌های تجربی بیشتری هستند [۱].

خرفه به عنوان ضداسپاسم، ضدتب، شل‌کننده عضلانی، ضداسکیدان، تقویت‌کننده سیستم ایمنی، رفع تشنگی کاربرد درمانی دارد [۶-۲]. قابل ذکر است که هیچ نشانه سمی قابل توجهی هنوز در ارتباط با این گیاه گزارش نشده است [۴].

نتایج مطالعات فارماکولوژی نشان داد که عصاره الکلی و آبی این گیاه دارای اثرات مختلفی بر روی سیستم عصبی است که شامل کاهش فعالیت حرکتی، اثرات ضد تشنجی، مهار انقباضات عصبی عضلانی به دنبال تحریک الکتریکی و فعالیت شل‌کنندگی عضلانی در موش‌های صحرایی هوشیار می‌باشد [۸، ۴]. در مطالعات قبلی پژوهشگر نشان داده شد که عصاره جوشانده آبی تخم خرفه نیز در دوزهای مختلف دارای اثر ضد درد و ضد اضطرابی می‌باشد که این اثرات وابسته به دوز نیست [۱۰، ۹]. بنابراین بر اساس اثرات ضد درد و ضد اضطرابی این گیاه احتمال می‌رود عصاره آبی این گیاه اثرات خواب‌آوری نیز داشته باشد.

بادرنجبویه<sup>۲</sup> گیاهی است که اسانس آن اگر به مقدار کم و درمانی مصرف شود، دارای اثرات ضد تشنج و آرام‌بخش می‌باشد [۱۱]. مطالعات قبلی پژوهشگر نشان داد که عصاره جوشانده آبی سرشاخه‌های بادرنجبویه در دوزهای مختلف، دارای اثر ضد درد و ضد اضطرابی می‌باشد [۱۳، ۱۲]. اثرات آرام‌بخشی این گیاه در طب سنتی نشان داده شد اما نیاز به آزمایش‌های تجربی بیشتری [۱] در مدل‌های حیوانی خواب می‌باشد.

لذا هدف پژوهش حاضر ارزیابی اثر عصاره آبی دو مورد از گیاهان رایج خرفه و بادرنجبویه را که در منطقه شمال و

سمنان به صورت خودرو نیز فراوان می‌رویند و در طب سنتی کاربرد فراوان دارند [۱۱، ۲، ۱]. به شیوه علمی بر طول دوره خواب می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع بنیادی - کاربردی بوده و موش‌ها بر اساس آزمایش‌ها به صورت تصادفی انتخابی شدند.

**حیوانات:** در این آزمایش تعداد ۷۰ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر با وزن ۳۰ - ۲۵ گرم مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات تحت شرایط محیطی یکسان و درجه حرارت مطلوب تقریباً ۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری می‌شدند، حیوانات دسترسی کافی به غذا و آب داشتند.

**تهیه عصاره گیاهی:** چون در اکثر مطالعات از عصاره‌های هیدروالکلی این گیاه استفاده شد لذا در مطالعه حاضر با توجه به مصرف سنتی آنها، عصاره جوشانده آبی آنها تهیه شد. تخم گیاه خرفه در یکی از عطاری‌های شهر سمنان خریداری شد و توسط کارشناس دانشگاه علمی و کاربردی جهادکشاورزی استان سمنان مورد شناسایی علمی و تایید قرار گرفت. سرشاخه‌های بادرنجبویه نیز از مراکز جهادکشاورزی (دانشگاه علمی کاربردی) سمنان تهیه شد. گیاه خرفه با شماره انتشار ۲۳ و کد ۰۰۱/۰۰۱/۰۳۵، گیاه بادرنجبویه با شماره انتشار ۱۰۶۴ و کد ۰۰۱/۰۱۳/۱۱۴ در فلور رنگی دکتر احمد قهرمان مطابقت دارد.

پس از خشک کردن و آسیاب کردن آنها، به ازای هر گرم پودر ۱۰ میلی‌لیتر سالین درون بشر ریخته شد و به مدت ۲۰ دقیقه جوشید و پس از سرد شدن آن را از پارچه تمیزی گذرانده و توسط کاغذ صافی و قیف بوختر صاف شد. عصاره حاصله را مجدداً جهت تغلیظ حرارت دادیم تا عصاره‌ای با ویسکوزیته بالا مانند عسل به دست آمد. عصاره نهایی به چند پلیت منتقل شد و داخل انکوباتور با حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم تا کاملاً خشک شد [۱۵، ۱۴]. سپس ۵۰۰ میلی‌گرم ماده خشک را در ۵۰ میلی‌لیتر سالین حل کرده

<sup>۱</sup> (Purslane) *Portulaca oleracea* L.

<sup>۲</sup> *Melissa officinalis* L.



می باشد [۱۶،۱۷]. لازم به یادآوری است که در تمام مدت آزمایش شرایط محیطی شامل نور، دما و غیره ثابت نگه داشته شد.

۵- روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: اطلاعات ثبت شده از طریق تست آماری آنالیز واریانس یک طرفه<sup>۱</sup> و متعاقب آن برای مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون توکی استفاده شد. اختلاف  $p < 0.05$  بین گروه‌های مورد آزمایش از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

**نتایج آزمایش ۱:** اثر تجویز عصاره گیاه خرفه بر دوره

خواب

یافته‌ها نشان داد که عصاره مزبور با دوز ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بلافاصله قبل از ارزیابی دوره خواب در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری دوره خواب را افزایش داده است ( $F(3,28) = 15.62, P=0.000$ ).

**نتایج آزمایش ۲:** اثر تجویز عصاره گیاه بادرنجبویه بر

دوره خواب

یافته‌ها نشان داد که عصاره مزبور با دوز ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بلافاصله قبل از ارزیابی دوره خواب در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری دوره خواب را افزایش داده است ( $F(3,28) = 15.28, P=0.000$ ).

## بحث

یافته‌های این مطالعه در آزمایش اول نشان داد که تزریق هر سه دوز عصاره جوشانده تخم خرفه موجب افزایش دوره خواب و کاهش زمان بیداری می‌شود. نتایج این آزمایش همچنین نشان می‌دهد که دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره خرفه موثرتر می‌باشد، هر چند تفاوتی بین نتایج هر سه دوز عصاره دیده نشد.

که از این محلول به میزان  $10 \text{ ml/kg B.W}$  به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد. برای تهیه سایر دوزها، رقیق سازی با نرمال سالین انجام شد [۹،۱۰،۱۲،۱۳].

## طراحی تحقیق

۱- یک گروه ده تایی که بلافاصله قبل از ارزیابی دوره خواب (قبل از قرار دادن حیوان در داخل قفسه مخصوص) سالین دریافت کردند.

۲- به سه گروه ده تایی که بلافاصله قبل از ارزیابی دوره خواب، عصاره خرفه با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد.

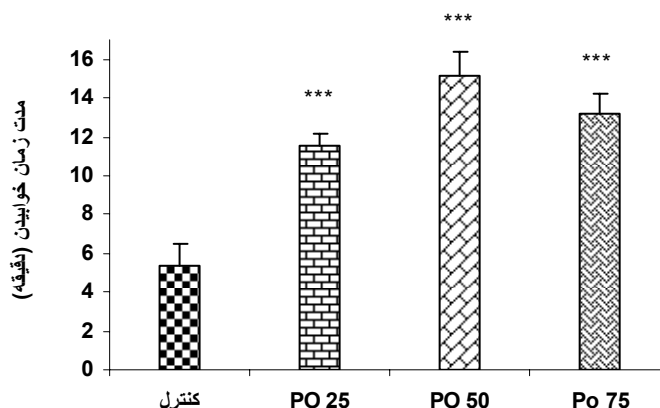
۳- سه گروه ده تایی که بلافاصله قبل از ارزیابی دوره خواب، عصاره بادرنجبویه با دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند.

۴- روش ارزیابی خواب به روش رفتاری *Angel*:

در این روش ابتدا حیوان در داخل قفسه مخصوصی که روی آن با سیم‌های نرم و نازک پوشیده شده بود، قرار گرفت. این قفسه بر روی کیسه‌های لاستیکی مخصوص پر شده از آب که توسط رابط به هم راه داشتند و از یک طرف به مبدل متصل بود، قرار داده شد. مبدل از طرف دیگر به دستگاه فیزیوگراف اتصال داشت. قبل از اینکه آزمایش شروع شود به حیوان اجازه داده شد تا مدت نیم ساعت در این حالت در داخل قفسه بماند تا ترس و اضطرابش از بین رفته و نسبت به محیط آشنا شود. سپس دستگاه فیزیوگراف را روشن کرده و به مدت نیم ساعت حرکات حیوان ثبت می‌شد. دستگاه فیزیوگراف دارای قلمی است که با سرعت  $0.1$  میلی‌متر بر ثانیه بر روی کاغذ اسپرومتر که در دستگاه تعبیه شده حرکت می‌کند. عملکرد این سیستم طوری است که هر نوع حرکتی از طرف حیوان از طریق کیسه‌های لاستیکی به مبدل و از آنجا به دستگاه فیزیوگراف انتقال پیدا می‌کند، ثبت می‌شود. بنابراین در تمام مدتی که حیوان در حال خواب باشد خط مستقیمی توسط قلم دستگاه بر روی کاغذ اسپرومتری رسم می‌شود و پایان خواب و بیدار شدن حیوان توسط قلم ثبات بر روی کاغذ اسپرومتری ثبت می‌شود. در این مدت کل زمان خواب قابل اندازه‌گیری

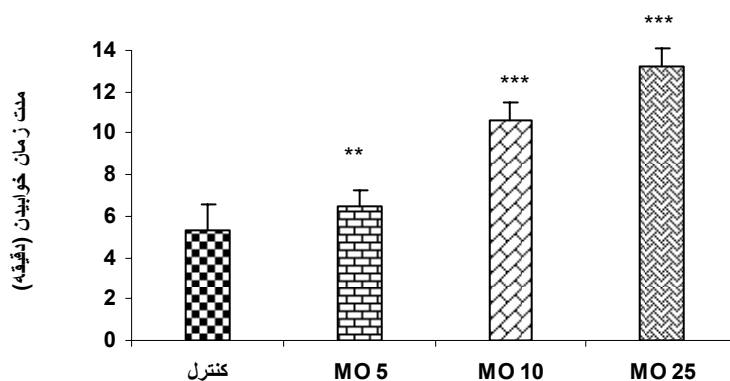
<sup>1</sup> One Way ANOVA





نمودار شماره ۱- اثر دوزهای مختلف (۲۵، ۵۰ و ۷۵ mg/kg) عصاره آبی جوشانده تخم خرفه بر دوره خواب موش کوچک آزمایشگاهی در مقایسه با گروه کنترل

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار در هر گروه بیان شده است. \*\*\*دوزهای ۲۵ ( $p=0/003$ ) و ۵۰ ( $p=0/000$ ) و ۷۵ میلی گرم عصاره با گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان می دهد. اختلاف معنی داری بین سه دوز عصاره وجود ندارد.



نمودار شماره ۲- اثر دوزهای مختلف (۵، ۱۰، ۲۵ mg/kg) عصاره آبی جوشانده گیاه بادرنجبویه بر دوره خواب موش کوچک آزمایشگاهی در مقایسه با گروه کنترل

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای معیار در هر گروه بیان شده است. \*\*\*دوز ۵ میلی گرم عصاره با دوزهای ۱۰ ( $p=0/02$ ) و ۲۵ ( $p=0/000$ ) میلی گرم اختلاف معنی داری وجود دارد. \*\*\*دوزهای ۱۰ ( $p=0/002$ ) و ۲۵ میلی گرم عصاره با گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان می دهد. بین دوز ۱۰ و ۲۵ میلی گرم اختلاف معنی داری وجود ندارد. بین دوز ۵ میلی گرم و گروه کنترل اختلاف معنی داری وجود ندارد.

مهار انقباضات عصبی - عضلانی به دنبال تحریک الکتریکی، فعالیت شل کنندگی عضلانی در موش های صحرایی و فعالیت ضد درد می شود [۴]. در مطالعه ای عصاره آبی ساقه و برگ خرفه به صورت داخل صفاتی و خوراکی در رت ایجاد شلی عضلات اسکلتی نموده است که با کلرودیازپوکساید، دیازپام و دانتروئن سدیم قابل مقایسه بود که حتی اثر شل کنندگی عصاره

احتمال اینکه افزایش دوره خواب به دنبال تزریق عصاره خرفه ناشی از تغییر فعالیت مراکز عصبی دخیل در خواب یا به علت تغییر سیستم های نرو ترانس میتری باشد مشخص نیست. نتایج مختلف مطالعات نشان داده اند که عصاره اتانلی ۱۰ درصد ساقه و برگ خرفه با اثر بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی موجب کاهش فعالیت لوکوموتور، فعالیت ضد تشنجی،



در یک مطالعه‌ای عصاره اتانولی بادرنجبویه فعالیت متوسطی در اتصال به مکان گیرنده GABA-A داشته است [۲۳] که اثر ضداضطرابی و خواب‌آوری بادرنجبویه شاید به خاطر اتصال به گیرنده گابای A باشد.

در مطالعه قبلی پژوهشگر نشان داده شد که نالوکسان موجب کاهش اثر ضداضطرابی دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره بادرنجبویه می‌شود. بنابراین عصاره فوق احتمالاً از طریق گیرنده اوپیویدی و با تاثیر بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی می‌تواند اثر ضداضطرابی خود را اعمال نماید [۱۲]. با توجه به این که در مطالعه‌ای مورفین زمان ماندن در بازوی باز به دنبال داروی موسیمول (آگونیست گابا) را افزایش داد. بنابراین گیرنده مو اوپیویدی ممکن است نقشی را در رفتار ضداضطرابی ایجاد شده به دنبال انتقال عصبی گاباژیک داشته باشد [۲۴]. بنابراین احتمال می‌رود عصاره بادرنجبویه از طریق گیرنده مو اوپیویدی و تسریع در انتقال عصبی گاباژیک موجب ایجاد اثرات ضداضطرابی و خواب‌آوری در حیوانات شود.

### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی جوشانده تخم خرفه اثر خواب‌آوری داشته که وابسته به دوز نیست و مناسب ترین دوز آن احتمالاً ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم می‌باشد. همچنین عصاره آبی جوشانده سرشاخه‌های بادرنجبویه به صورت وابسته به دوز اثر خواب‌آوری داشت که اثر خواب‌آوری آن در دوزهای بالاتر می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه باقری که جهت اخذ درجه دکتری حرفه‌ای پزشکی طراحی شده بود، استخراج شده است. همچنین از همکاران محترم مرکز به ویژه آقایان دکتر طاهریان و دکتر رشیدی‌پور و صادقی که در انجام آزمایش‌ها همیار ما بودند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

خرفه به صورت داخل صفاتی مؤثرتر از داروهای فوق بود [۱۸]. همچنین مشاهده شد که عصاره آبی و الکلی برگ و ساقه خرفه انقباضات عضلانی ایجاد شده به دنبال تحریک مستقیم همی دیافراگم موش‌های صحرایی را کاهش داد که با برداشت یون پتاسیم از عصاره این اثر مهاری کاهش یافت. بنابراین بخشی از اثر شل‌کنندگی دیافراگم جدا شده موش‌های صحرایی ناشی از یون پتاسیم موجود در عصاره خرفه می‌باشد [۷، ۱۹]. شاید یکی از دلایل اثر خواب‌آوری عصاره گیاه خرفه ناشی از اثر شل‌کنندگی عضلانی آن باشد.

در مطالعات قبلی پژوهشگر اثرات ضد درد و ضداضطرابی هر سه دوز عصاره جوشانده تخم خرفه نشان داده شد [۹، ۱۰] که شاید یکی دیگر از دلایل اثر خواب‌آوری عصاره گیاه خرفه باشد.

نتایج آزمایش دوم نیز نشان داد که عصاره جوشانده سر شاخه‌های بادرنجبویه نیز به صورت وابسته دوز موجب افزایش دوره خواب می‌شود. همچنین مشاهده شد که دوز پایین (۵ میلی‌گرم عصاره) اثر معنی‌داری بر میزان خواب حیوانات نداشت. در مطالعه قبلی پژوهشگر نشان داده شد که کمترین دوز عصاره گیاه (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) موجب کاهش معنی‌داری بر سطح اضطراب موش‌ها شد ولی هر چه دوزها بالاتر رفت موجب کاهش تعداد ورود و مدت زمان ماندن در بازوی باز شد، یعنی بیشتر اثر خواب‌آوری در ماز داشت [۱۲، ۱۳].

در گزارشی آمده است که در آلمان این گیاه اساساً به عنوان تسکین‌دهنده و آرام‌بخش استفاده می‌شود به خصوص موقعی که در فاز اول خواب (به دلیل عوامل ناخوشایند و اضطراب‌زا) اختلال ایجاد شده باشد [۲۰]. در یک مطالعه‌ای به ۲۲ نفر افراد سالم و ۳۰ نفر بیمار ماده مؤثره موجود در عصاره این گیاه یعنی سیترونل تجویز نمودند که موجب خواب راحت و کاهش تون عضلانی شد که این اثرات وابسته به دوز بود و در اشخاص سالم و نیز بیماران دچار اختلال عصبی یا خواب مشاهده کردند [۲۱]. در گزارشی دیگر عصاره این گیاه موجب بهبودی قابل توجهی در بیخوابی، تحریک‌پذیری و تپش قلب و سردرد در بیماران روانی شد [۲۲].



1. Akhondzadeh S, Daliri-hampa A. Herbal medicine in sleep disorders, *J. Medicinal Plants* 2004; 3 (9): 75 - 84.
2. Zargari A. Medicinal Plants Vol 1, fourth ed. Tehran, 1986, pp: 15, 312.
3. Akhonzadeh S. Encyclopedia of Iranian Medicinal Plants Vol 1, Arjmand press, Tehran, 2000, p: 115.
4. Radhakrishnan R, Zakaria MNM, Islam MW, Chen HB, Kamil M, Chan k, Al-Attas A. Neuropharmacological actions of portulaca oleracea L.V. Sativa (Hawk), *J. Ethnopharmacol.* 2001; 76: 171 – 6.
5. Schuman M. Over view of Purslane Edible and Medicinal Herb, *NNFA Today* 2001; 15 (6): 12.
6. Simopoulos AP, Norman HA, Gillaspay JE, Duke JA. Common Purslane a source of Omega 3-fattyacids and antioxidants, *J. Ethnopharmacol.* 1998; 22: 33 - 44.
7. Pary O, Marks JA, Okwuasaba FK. The skeletal muscle relaxant action of an aqueous extract of Potulaca oleracea: role of potassium ion. *J. Ethnopharmacol.* 1993; 40 (3): 187 - 94.
8. Okwuasaba FK, Ejike C, Parry O. Comparison of the skeletal muscle relaxant properties of portulaca oleracea extracts with dantrolens Sodium and Methoxyverapauil L. *J. Ethnopharmacol.* 1987; 20 (2): 85 - 106.
9. Miladi-Gorji H, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Taherian AA, Jarrahi M, Emami abarghoii M, Sadegi H. Anxiolytic Effects of the aqueous extracts of Portulaca Oleracea in mice. *J. Medicinal Plants* 2007; 19 (5): 23 - 8.
10. Miladi-Gorji H, Rashidy-Pour A, Ghorbani R. Antinociception effects of the Aqueous extracts of Portulaca Oleracea seeds in mice. *J. of Babool University of Medical Sciences* 2005; 7 (3): 7 - 11.
11. Zargari A. Medicinal Plants Vol 4, fourth ed. Tehran, 1986, pp: 77 - 81.
12. Miladi-Gorji H, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Taherian AA, Jarrahi M, Emami abarghoii M, Sadegi H. Anxiolytic Effects of the aqueous extracts of *Melissa officinalis* and the role of opioid receptors in mice. *J. Iran University of Medical Sci.* 2005; 13 (47): 145 - 53.
13. Miladi-Gorji H, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Taherian AA. The role of opioid receptors on antinociception effects of the aqueous extracts of *Melissa officinalis* in mice. *J. Hormozgan University of Medical Sci.* 2005; 10 (1): 23 - 8.
14. Khaksari M, Rezvani ME, Sajadi MA, Soleimani A. The effect of topically applied water extract of *Rhazya stricta* on cutaneous wound healing in rats. *J. Semnan University of Medical Sciences (Koomesh)* 2000; 1 (3): 1 - 10.
15. Samsam-Shariat H, Mohattar F. Decoction and derivation of Medicinal plants products, methodology and assessment. First ed. Esfahan, Mani press, 1994, pp: 10 - 20.
16. Vafaei AA. Assessing the role of rat's orbitofrontal cortex on sleeping time and duration. *J. Qazvin University of Med. Sci.* 2005; 9 (3): 16 - 21.
17. Angel A, Majeed ABA. The effect of some central active adrenergic agonists and antagonists on sleeping time in the rat. *J. Physiol.* 1986; 378: 45 - 52.
18. Pary O, Okwuasaba FK, Ejike C. Skeletal muscle relaxant action of an aqueouse extract of portualaca oleracea in the rat, *J. Ethnopharmacol.* 1987; 19 (3): 247 - 53.
19. Habtemariam S, Harvey AL, Waterman PG. The muscle relaxant properties of portulaca oleracea are associated with high concentrations of potassium Ions, *J. Ethnopharmacol.* 1993; 40 (3): 195 - 200.
20. Soulimani R, Fleurentin J, Mortijer F, Misslin R, Derrieu G, Pelt JM. Neurotropic action of the hydroalcoholic extract of *Melissa officinalis* in the mouse, *Planta Med.* 1991; 25: 105 - 9.



21. Pischel B. A double-blind controlled study on the efficacy of citronellol bath additives on healthy subjects and on patients with a nervous or sleep. Disturbance, proceedings from 6<sup>th</sup> phytotherapy conference, Berlin, 5 - 7, Oct 1995, 25 - 6.
22. Buechner KH, Hellings H, Huber M, Peukert E, Spath L, Deininger R. Double blind Study as evidence of the therapeutic effect of Melissengeist on Psycho-vegetive syndromes, *Med. Klin* 1974; 69 (23): 1032 - 6.
23. Salah SM, Jager AK. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 97 (1): 145 - 9.
24. Sasaki K, Fan LW, Tien LT, Ma T, Loh HH, Ho TK. The interaction of morphine and GABAergic system in anxiolytic behavior: Using mu-opioid receptor knockout mice, *Brain Res. Bull.* 2002; 57 (5): 689 - 94.

