



## مقایسه اثرات ضدالتهابی عصاره اتانلی و اسانس برگ گیاه نعناع (*Mentha piperita* L.) و دگزامتازون در موش‌های کوچک نر بالغ آزمایشگاهی

اکرم عیدی\*

دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی

عبدالحسین روستائیان

استاد فیتوشیمی، گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی

مهناز بهرامیان

کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی

محل انجام پژوهش: واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ پذیرش: ۸۷/۹/۲۰

تاریخ دریافت: ۸۷/۴/۳۰

### چکیده

بخش‌های هوایی گیاه نعناع (*Mentha piperita* L.) حوزه وسیعی از فعالیت‌های زیستی مانند اثرات تونیک، هضم‌کننده، ضدنفخ، ضداسپاسم و ضدالتهاب را شامل می‌شود. در پژوهش حاضر، اثرات ضدالتهابی عصاره اتانلی و اسانس برگ گیاه نعناع در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ ارزیابی گردید. پس از ایجاد ادم در گوش توسط گزلیل، فعالیت ضدالتهابی عصاره اتانلی و اسانس برگ نعناع بر نفوذپذیری عروقی در موش کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI مورد بررسی قرار گرفت. عصاره اتانلی برگ گیاه (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و اسانس (۰/۸، ۰/۴، ۰/۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن) برگ گیاه به صورت درون صفاقی تزریق گردید. گروه کنترل، سرم فیزیولوژیک یا روغن آفتاب‌گردان را به عنوان حلال دریافت نموده‌اند. گروه‌های دریافت‌کننده عصاره اتانلی (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، اسانس (۰/۸، ۰/۴، ۰/۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن) و همچنین گروه دریافت‌کننده دگزامتازون (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، فعالیت ضدالتهابی معنی‌دار و وابسته به مقدار را در رفع التهاب حاد ایجاد شده توسط گزلیل در تست ادم گوش نشان می‌دهند، به صورتی که اثرات ضدالتهابی گیاه، همانند داروی دگزامتازون به عنوان داروی استاندارد ضدالتهاب عمل می‌کند. داده‌های پژوهش حاضر نشان داد که گیاه نعناع دارای اثرات ضدالتهابی در موش بوده و می‌توان آن را در پژوهش‌های درمانی آینده مورد توجه قرار داد.

واژه‌های کلیدی: نعناع، *Mentha piperita* L.، التهاب، موش

### مقدمه

داروهای صنعتی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. مطالعه داروهای گیاهی، راهکاری طبیعی جهت تسکین التهاب در آینده است. گیاهان جنس نعناع (تیره Labiatae) منبع طبیعی و مهم مونوترپنوئیدها هستند که در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی کاربرد دارند (۱). گیاه نعناع به عنوان داروی گیاهی جهت درمان بسیاری از بیماری‌ها شناخته شده

گیاهان دارویی به صورت سنتی در سراسر دنیا جهت درمان بیماری‌های التهابی به کار می‌روند. گیاهان دارویی به دلیل سمیت و عوارض جانبی اندک در مقایسه با

\* مسؤل مکاتبات: دکتر اکرم عیدی، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، صندوق پستی: ۴۴۶-۱۶۵۳۵، نامبر: ۰۲۱-۷۷۰۶۸۷۹۴-۷۷، پست الکترونیکی: [ei@sr.iau.ir](mailto:ei@sr.iau.ir)

است (۲). این گیاه در طب سنتی برای درمان تهوع، نفخ شکم، استفراغ، سوء هاضمه، اختلالات گوارشی و بیماری‌های انگلی به کار می‌رود (۳). گیاه نعنای دارای اثرات ضداسپاسم، ضدعفونی کننده، ضدباکتری و ضدقارچ است (۸-۴). گیاه نعنای دارای انواع متابولیت‌ها مانند ترپن‌ها، تانن‌ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک است (۲). بخش فعال اسانس در گیاه، منتول است که یک مونوترپن حلقوی با فعالیت بازدارنده کانال کلسیمی است و از نظر خصوصیات فارماکولوژیکی، مشابه آنتاگونیست‌های کلسیمی دی‌هیدروپیپیدین عمل می‌کند (۹،۱۰).

این پژوهش به منظور استفاده گیاه نعنای در طب سنتی برای درمان التهاب (۱۱) و فقدان گزارش علمی بر فعالیت‌های ضدالتهابی صورت گرفت. در پژوهش حاضر، ضمن بررسی اثرات ضدالتهابی عصاره اتانلی و اسانس برگ گیاه نعنای در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI، مقایسه‌ای نیز بین عمل گیاه و دگزامتازون به عنوان داروی استاندارد ضدالتهاب صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات آزمایشگاهی

موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ (نژاد NMRI) با محدوده وزنی ۳۵ - ۳۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری و در شرایط آزمایشگاهی با درجه حرارت  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات در گروه‌های ۶ تایی در قفس‌های پلکسی‌گلاس نگهداری شدند و به استثنای زمان آزمایش، به آب و غذا دسترسی داشتند. هر حیوان فقط یک‌بار مورد آزمایش قرار گرفت.

### جمع‌آوری و شناسایی گیاه

برگ‌های نعنای، از فروشگاه سبزیجات در تهران در خرداد ماه سال ۱۳۸۶ خریداری و پس از شناسایی از نظر تاکسونومیکی، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سایه خشک شده و توسط آسیاب مکانیکی برای تهیه عصاره و اسانس گیاه، به پودر تبدیل گردید. پودر خشک در کیسه‌های نایلونی تا زمان آزمایش در جای خنک نگهداری شد.

### آماده‌سازی عصاره

هفتاد گرم پودر برگ نعنای و ۴۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت در دستگاه سوکسله (Suxhlet) قرار داده شد و عصاره به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری (Rotary) خشک گردید.

### آماده‌سازی اسانس

صد گرم برگ گیاه خشک شده به همراه ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دستگاه کلونجر (Clevenger) به مدت ۳ ساعت حرارت داده شد. اسانس حاصل در شیشه‌های کدر و در بسته، دور از نور در یخچال نگهداری گردید.

### نحوه ایجاد التهاب با استفاده از تست ادم گوش (Edema-ear test)

عصاره اتانلی گیاه حل شده در سرم فیزیولوژیک استریل با مقادیر ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن یا اسانس گیاه حل شده در روغن آفتاب‌گردان با مقادیر ۰/۱، ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر به صورت درون صفاقی تزریق گردید. ۱۵ دقیقه بعد، میزان ۰/۰۵ میلی‌لیتر کتامین به صورت درون صفاقی تزریق و موش‌ها بیهوش شدند. سپس ۰/۰۳ میلی‌لیتر گزیل خالص به سطح پشتی گوش راست تزریق گردید و گوش چپ به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. دو ساعت پس از تزریق گزیل، موش‌ها کشته شدند و به وسیله دستگاه Cork borer قطعه‌ای با قطر ۷ میلی‌متر از هر گوش برداشت شد. قطعات وزن شدند و اختلاف وزن بین گوش راست و چپ هر موش به عنوان میزان التهاب منظور شد (۱۲). گروه‌های کنترل، سرم فیزیولوژیک یا روغن آفتاب‌گردان دریافت نمودند.

### گروه‌های تجربی

موش‌ها به ۹ گروه تقسیم شدند. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر بود. گروه ۱ (شاهد): موش‌هایی که ابتدا سرم فیزیولوژیک را به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر به صورت تزریق درون صفاقی دریافت نمودند و ۱۵ دقیقه بعد ۰/۰۵ میلی‌لیتر کتامین به صورت تزریق درون صفاقی و سپس گزیل به سطح پشتی

میلی لیتر به صورت تزریق درون صفاقی دریافت نمودند و ۱۵ دقیقه بعد ۰/۰۵ میلی لیتر کتامین به صورت تزریق درون صفاقی و سپس گزیل به سطح پشتی گوش راستشان تزریق گردید و دو ساعت بعد، قطعات برداشت شد.

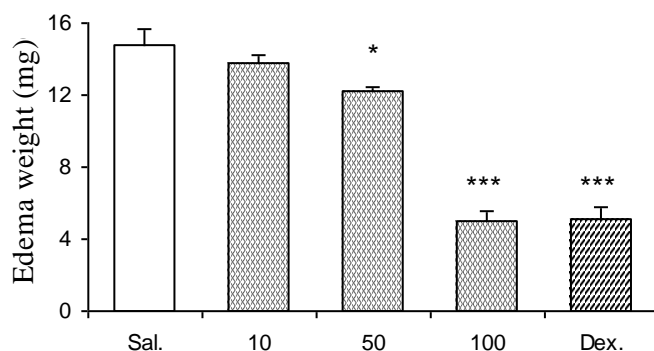
### آنالیز آماری داده‌ها

همه داده‌ها از نظر آماری، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (one – way ANOVA) بررسی و نتایج به صورت  $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$  ارائه گردید. ملاک استنتاج آماری  $p < 0.05$  است.

### نتایج

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق درون صفاقی عصاره اتانلی برگ گیاه نعناع در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن همانند دگزامتازون در غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش معنی داری در میزان التهاب القا شده توسط گزیل در موش نر بالغ می شود (نمودار ۱).

تزریق درون صفاقی اسانس برگ گیاه نعناع در مقادیر ۰/۴ و ۰/۸ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن، همانند دگزامتازون در غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش میزان التهاب القا شده توسط گزیل در موش نر بالغ می شود (نمودار ۲).



*Mentha piperita* ethanolic extract (mg/kg)

نمودار ۱- اثر تزریق درون صفاقی عصاره اتانلی برگ نعناع با مقادیر ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر کاهش میزان التهاب القا شده توسط گزیل در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ. گروه شاهد، سرم فیزیولوژیک (Sal.) دریافت نمود. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر است. دگزامتازون (Dex.) با غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید. نتایج به صورت  $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$  ارائه گردیده است.  $p < 0.05$  , \*  $p < 0.001$  , \*\*\* اختلاف از گروه شاهد را نشان می دهند.

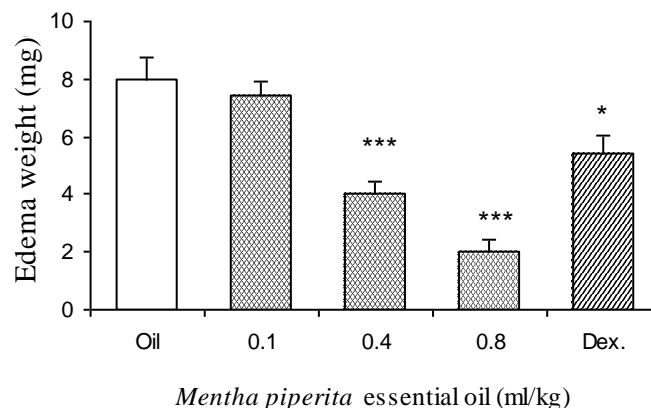
گوش راستشان تزریق گردید و دو ساعت بعد، قطعات برداشت شد.

گروه ۲،۳،۴: موش‌هایی که ابتدا عصاره اتانلی را به میزان ۰/۲ میلی لیتر به صورت تزریق درون صفاقی با مقادیر ۵۰، ۱۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند و ۱۵ دقیقه بعد ۰/۰۵ میلی لیتر کتامین به صورت تزریق درون صفاقی و سپس گزیل به سطح پشتی گوش راستشان تزریق گردید و دو ساعت بعد، قطعات گوش برداشت شد.

گروه ۵ (شاهد): موش‌هایی که ابتدا روغن آفتاب‌گردان را به میزان ۰/۲ میلی لیتر به صورت تزریق درون صفاقی دریافت نمودند و ۱۵ دقیقه بعد ۰/۰۵ میلی لیتر کتامین به صورت تزریق درون صفاقی و سپس گزیل به سطح پشتی گوش راستشان تزریق گردید و دو ساعت بعد، قطعات گوش برداشت شد.

گروه ۶،۷،۸: موش‌هایی که ابتدا اسانس را به میزان ۰/۲ میلی لیتر به صورت تزریق درون صفاقی با مقادیر ۰/۴، ۰/۸ و ۰/۱ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند و ۱۵ دقیقه بعد ۰/۰۵ میلی لیتر کتامین به صورت تزریق درون صفاقی و سپس گزیل به سطح پشتی گوش راستشان تزریق گردید و دو ساعت بعد، قطعات برداشت شد.

گروه ۹: موش‌هایی که ابتدا دگزامتازون (Dex.) را با غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به میزان ۰/۲



نمودار ۲- اثر تزریق درون صفاقی اسانس برگ نعناع با مقادیر ۰/۸ و ۰/۴، ۰/۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بر کاهش میزان التهاب القا شده توسط گزلیل در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ. گروه شاهد، روغن آفتابگردان (Oil) دریافت نمودند. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ سر است. دگزامتازون (Dex.) با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید. نتایج به صورت Mean±S.E.M ارائه گردیده است.  $p < 0.05$  ,  $p < 0.001$  \*\*\* اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهند.

## بحث

فعالیت‌های ضدالتهابی بسیاری از گیاهان به وجود مقدار زیادی استروئول/تری‌ترین یا فلاونوئیدها در آنها نسبت داده می‌شود (۱۷). سایر پژوهش‌ها اثبات نموده‌اند که بسیاری از فلاونوئیدها مانند روتین، کوئرستین، لوتئولین، هسپریدین و بی‌فلاونوئیدها فعالیت‌های ضدردی و یا ضدالتهابی تولید می‌کنند (۱۸).

نعناع، همانند بسیاری از گیاهان، دسته‌های مختلفی از فراورده‌های طبیعی مانند ترپن‌ها، تانن‌ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک را دارد. در میان ترکیبات فوق، ترپنوئیدها به دلیل خصوصیات زیستی متنوع، مورد توجه است (۷). بعضی ترکیبات شناسایی شده در گیاه نعناع، داری فعالیت ضد میکروبی هستند که از آن جمله می‌توان ترکیبات ۱، ۸- سینئول، لینالول و منتول را نام برد (۱۹،۲۰). مونوترپن‌ها جزء اصلی ترکیبات اسانس خانواده نعناع را تشکیل می‌دهند (۲۱). فلاونوئیدها به عنوان عامل ضدالتهابی از طریق مهار میانجی‌گرهای شیمیایی پاسخ التهابی، همانند داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی عمل می‌نمایند که مهارکننده فعالیت آنزیم‌های سنتزکننده پروستاگلاندین‌ها هستند (۲۲). در چندین پژوهش عنوان شده است که اثر ضدالتهابی فلاونوئیدها احتمالاً ناشی از خصوصیات آنتی‌هیستامین، آنتی‌برادی‌کینین، آنتی‌سروتونین یا مهار آنزیم‌هایی مانند ۱۲-لیپوآکسیژناز و ۵-لیپوآکسیژناز است (۲۳). البته سازوکار ترکیبات شیمیایی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره اتانلی و اسانس برگ نعناع همانند دگزامتازون به عنوان داروی استاندارد ضدالتهاب، دارای اثرات ضدالتهابی در برابر ادم القا شده توسط گزلیل در موش نر بالغ است. در آزمایش ادم القا شده در گوش، میانجی‌گرهای التهاب به‌دنبال تحریک آزاد می‌شوند. این امر منجر به اتساع سرخرگ‌ها و سیاهرگ‌ها و افزایش نفوذ پذیری عروقی می‌گردد (۱۳). مهاجرت لکوسیت‌های خون در آندوتلیوم به مکان التهاب دیده، نیازمند میان‌کنش‌های سلول به سلول است که مراحل فعال‌شدن مختلفی را از طریق عوامل التهابی شامل مولکول‌های چسباننده، میانجی‌گرهای مشتق شده از کمپلمان و سیتوکین‌ها دربردارد (۱۴). در پاسخ التهابی، بر اثر حمله لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها به مکان التهاب دیده، واکنش‌های موضعی مانند فرایندهای فیبروزیس رخ می‌دهد. در ترادف زمانی واکنش‌ها، سیتوکین‌های مختلف دخالت‌کننده در پاتوژنز واکنش‌های التهابی مشارکت دارند. تعدادی از سیتوکین‌ها در شروع و توسعه حساسیت بیش از حد، شرکت دارند؛ هر چند عملکرد سیتوکین‌ها بسیار پیچیده است (۱۵). درد التهابی، منجر به آزادسازی میانجی‌گرهای هیپرآلژژیک (به عنوان مثال، پروستاگلاندین‌ها و کاته‌کولامین‌ها) می‌شود که از طریق تنظیم حساسیت گیرنده‌های درد صورت می‌گیرد (۱۶).

- 7- Ruiz del Castillo, M.L., Blanch, G.P., and Herraiz, M. 2004. Natural variability of the enantiomeric composition of bioactive chiral terpenes in *Mentha piperita*. *Journal of Chromatography* 29: 87-93.
- 8- Duarte, M.C., Figueira, G.M., Sartoratto, A., Rehder, V.L., and Delarmelina, C. 2005. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 97: 305-11.
- 9- Taylor B.A., Duthie H.L., and Luscombe D.K. 1985. Calcium antagonist activity of menthol on gastrointestinal smooth muscle. *Br J Clin Pharm* 20: 293-4.
- 10- Hills J.M., and Aaronson P.I. 1991. The mechanism of action of peppermint oil on gastrointestinal smooth muscle. *Gastroenterology* 101: 55-65.
- 11- Zargari, A. 1995. Medicinal plants, Vol. 4. Tehran: Tehran University Press.
- 12- Hosseinzadeh, H., Ramezani, M., and Salmani, G.A. 2000. Antinociceptive, anti-intoxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats. *J Ethnopharmacol* 73: 379-85.
- 13- Vogel, H.G., and Vogel, W.H. 1997. Drug discovery and evaluation, Pharmacological Assays. Springer, Berlin, pp. 402-3.
- 14- Ali, H., Haribabu, B., Richardson, R.M., and Snydereman, R. 1997. Mechanisms of inflammation and leukocyte activation. *Med. Clin. North Am.* 81: 1-28.
- 15- Fong, T.A.T., and Mosmann, T.R. 1989. The role of IFN- $\gamma$  in delayed-type hypersensitivity mediated by Th1 clones. *Journal of Immunology* 143: 2887-93.
- 16- Ferreira, S.H. 1972. Prostaglandins aspirin-like drugs and analgesia. *Nature New Biology* 240: 200-3.

عامل فعالیتهای فارماکولوژیکی گیاه نعناع، ناشناخته است.

داده‌های پژوهش حاضر نشان داد که برگ گیاه نعناع دارای فعالیتهای ضدالتهابی است. عصاره اتانلی و اسانس برگ گیاه نعناع به صورت وابسته به مقدار، باعث کاهش معنی‌داری در میزان التهاب القا شده با گزلیل توسط تست ادم گوش شده است. احتمالاً فلاونوئیدهای موجود در گیاه، عامل اثرات ضدالتهابی آن است. هر چند سازوکار اثر ضدالتهابی گیاه روشن نیست و تحقیقات بیشتری باید به منظور مشخص شدن اجزای موثر گیاه صورت گیرد.

#### منابع

- 1- Hendriks, H. 1998. Chemotaxonomic study of *Mentha rotundifolia* (L.) Hudson. *Pharm Weekbl.* 106: 158-64.
- 2- Guedón, D.J. and Pasquier, B.P. 1994. Analysis and distribution of flavonoid glycosides and rosmarinic acid in 40 *Mentha piperita* clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 679-84.
- 3- Fonseka-Kruel, V.S., and Fernandes, P.V. 2003. *Coleção de Plantas Mediciniais*, Wrst ed. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- 4- Gershenzon, J., McConkey, M.E., and Croteau, R.B. 2000. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant Physiology* 122: 205-14.
- 5- Inoue, T., Sugimoto, Y., Masuda, H., and Kamei, C. 2002. Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from *Mentha piperita* L. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 25: 256-9.
- 6- Samarth, R.M., and Kumar, A. 2003. Radioprotection of swiss albino mice by plant extract *Mentha piperita* (Linn.). *Journal of Radiation Research* 44: 101-9.

- 17- Ahmad, M.M., Qureshi, S., Shah, A., Qazi, N.S., Rao, R.M., and Albakiri, M. 1983. Anti-inflammatory activity of *Caralluma tuberculata* alcoholic extract. *Fitoterapia* 46: 357-60.
- 18- Calixto, J.B., Beirith, A., Ferreria, J., Santos, A.R., Cechinel Filho, V., and Yunes, R.A. 2000. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytotherapy Research* 14: 401-18.
- 19- Mazzanti, G., Battinelli, L., and Salvatore, G. 1998. Antimicrobial properties of the linalol-rich essential oil of *Hyssopus officinalis* L. var. *decumbens* (Lamiaceae). *Flavour and Fragrance Journal* 13: 289-94.
- 20- Iscan, G., Kirimer, N., Kurkcuoglu, M., Baser, K.H., and Demirci, F. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 3943-46.
- 21- McConkey, M., Gershenzon, J., and Croteau, R. 2000. Developmental regulation of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Plant Physiol.* 122: 215-23.
- 22- Berknow, R. 1992. *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy*. 16th ed. Merck Research Laboratories Rahway, New Jersey, 1407-20.
- 23- Kimura, Y., Okuda, H., and Arichi, S. 1985. Studies on *Scutellariae radix* XIII. Effects of various flavonoids on arachidonate metabolism in leukocytes. *Planta Med* 2: 132-6.

