

اثر عصاره اتانولی بخش‌های هوایی گیاه نعنای فلفلی در اکتساب، بیان تحمل و وابستگی به مرفین در موش نر بالغ نژاد NMRI

نسترن خواجه^۱، اکرم عیدی^{۱*}، جلال زرین قلم مقدم^۲

^۱گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، آگروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم و اعصاب، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۲

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۳/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: وابستگی به مرفین تمایل به مصرف دارو است که از اثرات مثبت پاداش مصرف دارو و اثرات منفی سندرم ترک همراه با قطع مصرف دارو نتیجه می‌شود. هدف از این تحقیق بررسی اثر عصاره اتانولی گیاه نعنای فلفلی بر اکتساب، بیان تحمل و وابستگی به مرفین در موش کوچک آزمایشگاهی بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی بر روی ۷۵ سر موش نژاد NMRI در ۱۵ گروه ۵ تایی آزمایشی انجام شد. در گروه‌های تجربی مرفین (۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) روزی دو بار به مدت ۷ روز و در روز هشتم (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) یک بار به صورت درون صفاقی تزریق شد. همچنین این گروه‌ها عصاره نعنای فلفلی (۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به مدت ۸ روز به صورت تزریقی دریافت کردند. گروه کنترل حیوانات دست نخورده بودند و گروه شاهد فقط مرفین دریافت کردند و نالوکسان (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ۵ ساعت بعد از آخرین دوز مرفین به آنها تزریق شد و نشانه‌های ترک در مدت ۳۰ دقیقه ثبت شد. برای بررسی ایجاد تحمل، بیان تحمل از آزمون صفحه داغ استفاده شد. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه ارزیابی شدند.

یافته‌ها: عصاره نعنای فلفلی (۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تحمل و وابستگی به مرفین را در حیوانات بهبود می‌بخشد و به صورت معنی‌داری نشانه‌های ترک را کاهش داد.

نتیجه‌گیری: عصاره نعنای فلفلی وابستگی و تحمل به مرفین را در موش کوچک آزمایشگاهی تخفیف داد. گیاه نعنای فلفلی دارای ترکیب‌هایی است که سندرم ترک مرفین را کاهش می‌دهد. عصاره گیاه احتمالاً در بهبود تحمل به مرفین مؤثر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: عصاره نعنای فلفلی، مرفین، وابستگی، سندرم ترک، موش

* نویسنده مسئول: دکتر اکرم عیدی، تهران، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی

Email: eidi@srbiau.ac.ir

مقدمه

ضددردی خود را از دست می‌دهد که این پاسخ استاندارد در برابر تجویز مداوم اپیوئیدهاست و تحمل نامیده می‌شود (۸). از نظر مولکولی، تحمل اپیوئیدی با تنظیم افزایشی مسیر آدنوزین مونوفسفات حلقوی^(۲) در سلول‌های هدف (۹)، تنظیم کاهشی گیرنده اپیوئیدی، فسفریلاسیون، درونی شدن و حساسیت‌زدایی مرتبط است (۱۰). همچنین نشان داده شده است که در سلول‌هایی که در معرض اپیوئیدها هستند فسفریلاسیون G- پروتئین‌ها رخ می‌دهد (۹). مطالعه‌های دیگر، نقش دوپامین (۱۱)، استیل کولین (۱۲)، گلوتامات و نیتریک اکساید در تحمل مرفین را پیشنهاد نموده‌اند (۱۳). تحمل باعث افزایش دوز دارو و کاهش اثر آن در طول زمان خواهد شد (۸). افزایش دوز دارو سبب وابستگی به دارو می‌گردد و این بدان معناست که اگر مصرف دارو به طور ناگهانی قطع شود یا دوز دارو خیلی سریع کم شود، می‌تواند نشانه‌های سندرم ترک شامل؛ خستگی، عرق کردن، آبریزش بینی، انقباض معده، اسهال و درد عضلات را ایجاد نماید (۱۴). در کشور ما اعتیاد به مواد مخدر، طی دهه‌های اخیر یکی از مهم‌ترین بحران‌های بهداشتی، درمانی و اجتماعی می‌باشد. میانگین شیوع اعتیاد در دنیا ۰/۴ درصد است. اعتیاد سهم عمده‌ای از بار بیماری را در کشور به خود اختصاص داده است و رقم وابستگان به مواد ۲ میلیون نفر تخمین زده می‌شود (۱۵). برای از بین بردن عوارض اعتیاد از روش‌های مختلفی از جمله خواب

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L متعلق به خانواده نعناعیان^(۱) می‌باشد (۱). گیاه نعناع فلفلی دارای ساقه شاخه شاخه، چهارگوش، صاف و به رنگ قرمز مایل به بنفش یا مایل به ارغوانی است و در محل هریک از گره‌های آن دو برگ متقابل دیده می‌شود (۲). برگ‌های آن بیضی شکل، متقابل، نوک تیز می‌باشد (۳). گل‌های این گیاه نامنظم، اکثراً دو جنسی یا هرمافرودیت است که در ماه‌های مرداد و شهریور ظاهر می‌شوند (۳ و ۴). در طب سنتی از نعناع به عنوان مقوی معده، بادشکن، ضد درد، ضد تشنج، آرام کننده اعصاب استفاده می‌گردد. همچنین نعناع از طریق کاهش اسپاسم عضلات صاف گوارشی منجر به کاهش درد در ناحیه شکم می‌شود. احتمالاً منتول موجود در عرق نعناع بر گیرنده‌های کاپای اپیوئیدی اثر نموده و بدین ترتیب با مهار جریان و انتقال سیگنال درد، منجر به کاهش احساس درد می‌شود (۵).

اپیات‌ها داروهای منتخب برای تسکین درد هستند. یکی از محدودیت‌های عمده که ارزش درمانی اپیات‌ها را برای تسکین دردهای شدید محدود می‌نماید، پیشرفت تحمل است که نیازمند بالا بردن دوز برای ایجاد اثرات ضد دردی است که باعث بروز عوارض جانبی فراوان از جمله یبوست، خارش، افزایش وزن، فقدان میل جنسی و مشکلات تنفسی در شب می‌شود (۶ و ۷). یکی از عوارض شایع استفاده از اپیات‌ها این است که مدتی پس از مصرف، ماده اثرات

1- Lamiaceae

2 Cyclic adenosine monophosphate, cAMP

روش بررسی

در این مطالعه تجربی ۷۵ سر موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI با وزن ۲۵-۳۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و در اتاق حیوانات با درجه حرارت 22 ± 23 درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در گروه‌های ۵ تایی در قفس پلکسی‌گلاس با دسترسی به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات مجموعاً در ۱۵ گروه قرار داشتند. تعداد حیوانات در هر گروه ۵ سر بود. تمامی آزمون‌های رفتاری در فاصله زمانی بین ساعت ۰۹:۰۰ و ۱۳:۰۰ انجام گردید. هر حیوان فقط یکبار استفاده شد. در هر گروه، ۸ سر حیوان وجود داشت. حیوانات به صورت زیر گروه‌بندی شدند: گروه ۱ (کنترل)، موش‌هایی که دست نخورده بوده و هیچ تیماری دریافت نکردند. گروه ۲ (شاهد)، موش‌هایی که مرفین با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به صورت درون صفاقی دریافت نمودند. گروه ۳ (شاهد)، موش‌هایی که مرفین با دوز ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روزهای اول و دوم، مرفین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روز سوم، مرفین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روزهای چهارم و پنجم، مرفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روز ششم و مرفین ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روز هفتم و مرفین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روز هشتم به صورت درون صفاقی دریافت کردند. تیمار مرفین در روزهای اول تا هفتم روزی دو بار و در روز هشتم

درمانی، کار درمانی، درمان از طریق سم‌زدایی، درمان با کمک آنتاگونیست‌های مواد مخدر استفاده می‌شود. این روش‌ها گرچه آثار مفیدی دارد، ولی به ترتیب عوارض جانبی مانند افزایش میزان خواب آلودگی، افت فیزیکی فرد معتاد، افت فشار خون و خواب آلودگی، بروز سندرم محرومیت (عوارض رفتاری و گوارشی) را نیز به دنبال دارند. استفاده از گیاهان دارویی، بدون عوارض جانبی و یا با عوارض جانبی ملایم و محدود می‌باشد (۱۶). به همین دلیل با توجه به اهمیت علم طب سنتی به خصوص گیاه درمانی به دلیل ارزانی، آثار سوء جانبی کمتر و در دسترس بودن در حال حاضر استفاده از داروهای گیاهی به جای داروهای شیمیایی موضوعی است که اهمیت بسزایی دارد (۱۷). از جمله گیاهانی که تحقیقات در زمینه اعتیاد بر روی آنها صورت گرفته است می‌توان بابونه (*Matricaria chamomilla*) و ژینگو (*Ginkgo biloba*) را نام برد (۱۸). تیمار عصاره گیاه بوزیدان (*Withania somnifera*) به موش‌های کوچک آزمایشگاهی علائم سندرم ترک اعتیاد به مرفین را به صورت معنی‌داری کاهش داده است (۱۹). تیمار عصاره اتانولی برگ گیاه مریم‌گلی (*Salvia leriifolia*) تعداد پرش را در سندرم ترک مرفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی کاهش داده است (۲۰).

هدف از این مطالعه بررسی اثر تیمار عصاره اتانولی گیاه نعنای فلفلی بر میزان تحمل و وابستگی به مرفین و علائم سندرم ترک در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI بود.

آزمایش‌ها مطابق با راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و پروتکل کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شد.

بخش‌های هوایی گیاه نعناع فلفلی خریداری شد و از نظر تاکسونومی مورد شناسایی قرار گرفت. گیاه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در سایه قرار داده شد تا خشک شود. سپس گیاه خشک شده با استفاده از آسیاب مکانیکی به صورت پودر درآمده و پودر تا زمان آزمایش جهت تهیه عصاره در کیسه‌های نایلونی در یخچال نگهداری شد. عصاره الکلی گیاه با استفاده از دستگاه سوکسله و اتانول ۸۰ درصد به دست آمده و به وسیله دستگاه روتاری تغلیظ گردید و سپس عصاره درون پلیت ریخته شد تا در فضای آزمایشگاه خشک شود. در تحقیق حاضر از مرفین (شرکت تمد، ایران)، نالوکسان هیدروکلراید و عصاره الکلی گیاه نعناع فلفلی استفاده شد. انتخاب دوز مواد بر اساس مطالعات انجام شده قبلی بوده است (۲۱-۲۳). تمامی تیمارها به صورت تزریق درون صفاقی انجام گردید. حجم تیمار ۰/۲ میلی‌لیتر و حلال مواد در تمامی تیمارها سرم فیزیولوژیک بود.

جهت انجام آزمون صفحه داغ^(۱)، حیوانات حداقل دو ساعت قبل از آزمایش به محیط آزمایشگاه خو گرفتند. از همه حیوانات مورد آزمایش قبل از تزریق ماده مورد نظر، پیش‌آزمایش بر روی صفحه داغ با

1-Hot Plate

یکبار بود. گروه‌های ۶-۴ (تجربی)، موش‌هایی که عصاره اتانولی نعناع فلفلی را در دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ روز متوالی، روزی یک بار دریافت نمودند و مرفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را ۳۰ دقیقه بعد از تزریق عصاره روزی دوبار به مدت ۷ روز و روز هشتم فقط یکبار دریافت کردند. گروه‌های ۹-۷ (تجربی)، موش‌هایی که به مدت ۷ روز، روزی دو بار با مرفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمار شدند و عصاره را در دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فقط در روز هشتم دریافت کردند. گروه‌های ۱۲-۱۰ (تجربی)، موش‌هایی که عصاره اتانولی نعناع فلفلی را در دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزی یک بار به مدت ۸ روز و مرفین ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روزهای اول و دوم، مرفین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روز سوم، مرفین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روزهای چهارم و پنجم، مرفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روز ششم و مرفین ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روز هفتم و مرفین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را در روز هشتم به صورت درون صفاقی دریافت کردند. تیمار مرفین در روزهای اول تا هفتم روزی دو بار و در روز هشتم یکبار بود. گروه‌های ۱۵-۱۳ (تجربی)، موش‌هایی که مرفین را به صورت مشابه با گروه‌های ۱۲-۱۰ دریافت کردند و عصاره را در دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فقط در روز هشتم دریافت کردند.

یافت و در روز هشتم گروه‌های تجربی با عصاره نعناع فلفلی در دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی تیمار شدند و بعد از ۳۰ دقیقه مرفین را دریافت کردند. سپس ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق مرفین تست صفحه داغ انجام شد و درصد آنالژزیا مطابق با فرمول درصد آنالژزیا محاسبه گردید (۲۲).

برای ایجاد وابستگی، دوزهای افزایشی مرفین ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزی دو بار به مدت ۷ روز و در روز هشتم، دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم یک بار به صورت درون صفاقی تزریق شد، گروه تجربی ۳۰ دقیقه قبل از تزریق مرفین عصاره اتانولی نعناع فلفلی را در دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. برای بررسی علایم ترک روز آخر ۵ ساعت بعد از تزریق مرفین، حیوانات نالوکسان را در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند و بلافاصله علایم ترک شامل پریدن، انقباضات شکمی، دندان قروچه، افتادگی پلک، اسهال و نظافت در هر حیوان به مدت ۳۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت (۲۳). برای اندازه‌گیری علایم غیرقابل شمارش (افتادگی پلک و اسهال) میزان آنها از صفر (هیچ‌گونه اسهال و افتادگی پلک مشاهده نشد) تا ۴+ (ماکزیم مشاهده علایم) درجه‌بندی شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند.

دمای 37 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. به این صورت که زمان اولین عکس‌العمل حیوان (شامل لیس‌زدن یکی از پنجه‌های عقبی یا جلویی و یا پریدن) ثبت شد. اگر حیوان بعد از ۳۰ ثانیه واکنشی نشان نداد برای جلوگیری از آسیب بافتی، از روی صفحه برداشته شده و ۳۰ دقیقه بعد از این تست، حیوانات با ماده مورد نظر به حجم ۰/۲ میلی‌لیتر به صورت درون صفاقی تیمار شدند و در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق، عکس‌العمل آنها بر روی صفحه داغ مورد بررسی قرار گرفت (۲۴). درصد آنالژزیا با کمک فرمول زیر اندازه‌گیری شد (۲۲).

$$\text{درصد آنالژزیا} = \frac{\text{تاخیر زمانی در گروه آزمایشی} - \text{تاخیر زمانی در گروه کنترل}}{100 \times 30 \text{ ثانیه}} \times 100$$

برای ایجاد تحمل، حیوانات به مدت ۸ روز مرفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را روزی دو بار به صورت درون صفاقی دریافت کردند و حیوانات گروه تجربی علاوه بر مرفین، روزی یک بار ۳۰ دقیقه قبل از تزریق مرفین با عصاره نعناع فلفلی در دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تیمار شدند. برای بررسی ایجاد تحمل، در روز اول و هشتم تست صفحه داغ صورت گرفت و مطابق با فرمول درصد آنالژزیا محاسبه شد.

برای ایجاد بیان تحمل، ابتدا در روز اول حیوانات ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق مرفین، تست صفحه داغ بر روی آنها انجام شد. تزریق روزی دو بار مرفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۸ روز ادامه

یافته‌ها

تزریق درون صفاقی عصاره نعناع فلفلی در دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز اول در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. تیمار عصاره نعناع فلفلی در دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز هشتم موجب افزایش معنی‌داری (به ترتیب $p < 0/05$ ، $p < 0/01$ ، $p < 0/001$) در میزان بی‌دردی و کاهش اکتساب تحمل به مرفین نسبت به گروه کنترل در ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از تیمار مرفین شد (نمودار ۱).

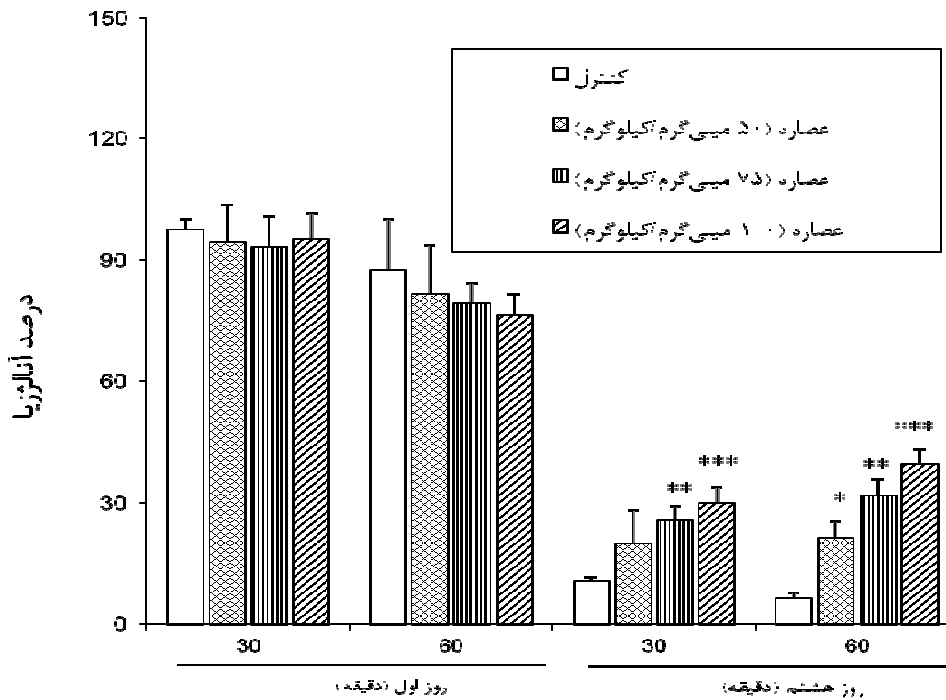
تزریق درون صفاقی عصاره نعناع فلفلی در دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز هشتم، ۳۰ دقیقه قبل از تزریق مرفین موجب افزایش معنی‌دار بی‌دردی و در نتیجه کاهش معنی‌دار بیان تحمل مرفین در مقایسه با گروه کنترل گردید (نمودار ۲).

تعداد پرش، دفعات نظافت، تعداد انقباضات شکمی، دندان قروچه، میزان اسهال و افتادگی پلک در حیوانات تیمار شده با عصاره الکی گیاه نعناع فلفلی در دوزهای ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (نمودار ۳).

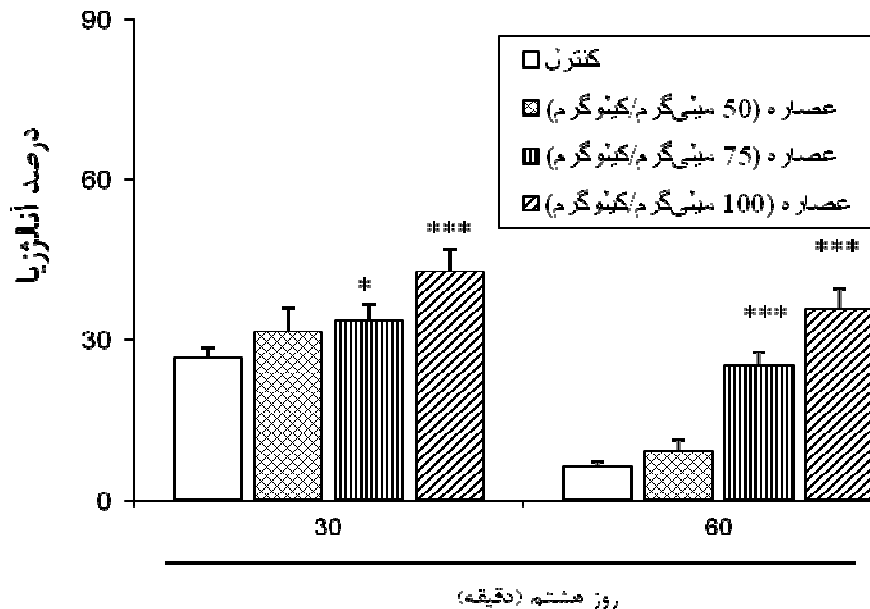
بحث

از آنجائیکه داروهای شیمیایی موثر در ترک اعتیاد دارای عوارض جانبی هستند و استفاده از گیاهان دارویی به جای داروهای شیمیایی راهکاری برای کاهش عوارض جانبی است، لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر تیمار عصاره اتانولی گیاه نعناع فلفلی بر میزان تحمل و وابستگی به مرفین و علایم سندرم ترک در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI بود.

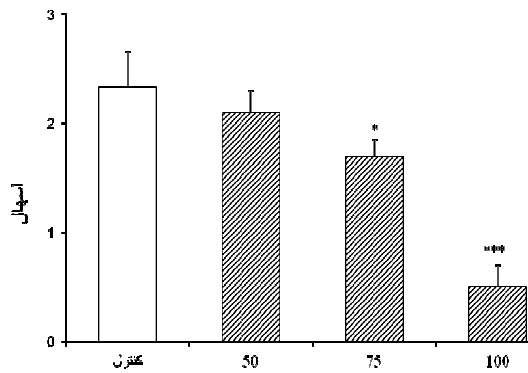
نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق مکرر مرفین تحمل را در برابر اثر ضدردی اپیوئید القاء می‌کند که با کاهش تأخیر در واکنش به دما در تست صفحه داغ ثابت شد. داده‌های تحقیق حاضر مطابق با یافته‌های زرین دست و همکاران (۱۱) و اسپمیدت و همکاران (۲۵) می‌باشد که پیشرفت تحمل در برابر اثرات ضدردی مرفین را نشان داده‌اند. در تحقیق حاضر برای القاء تحمل مرفین، حیوانات مرفین را در دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزی دو بار به مدت ۷ روز و یک بار در روز هشتم به صورت درون صفاقی دریافت کردند. در همراهی با نتایج تحقیق حاضر، رئوف و همکاران برای القاء تحمل از تزریق درون صفاقی مرفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزی دو بار به مدت ۵ روز و در روز ششم از مرفین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده کردند (۲۲).



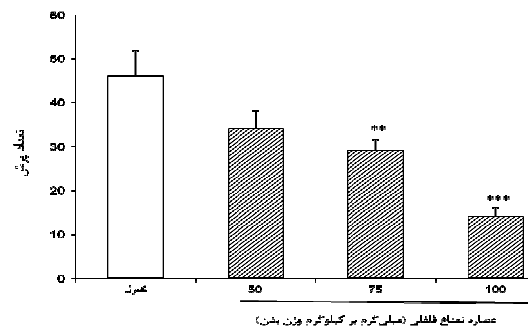
نمودار ۱: بررسی اثر تیمار عصاره بخش‌های هوایی گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita*) در دوزهای ۷۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر اکتساب تحمل مرفین در روزهای اول و هشتم. گروه کنترل با مرفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزی دو بار تیمار شدند. تعداد حیوانات در هر گروه ۵ سر می‌باشد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه گردید. مقایسه بین گروه‌های دریافت کننده عصاره با دوزهای مختلف با گروه کنترل، در زمان‌های مختلف صورت گرفته است. $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$ اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.



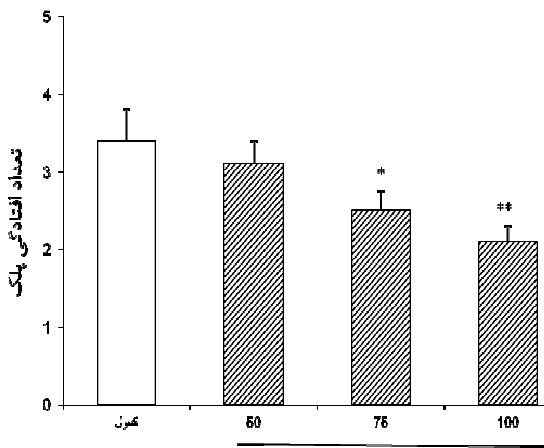
نمودار ۲: بررسی اثر تیمار عصاره بخش‌های هوایی گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.) در دوزهای ۷۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر بیان تحمل مرفین در روز هشتم. گروه کنترل مرفین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را روزی دو بار دریافت کردند. تعداد حیوانات در هر گروه ۵ سر می‌باشد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه گردید. مقایسه بین گروه‌های دریافت کننده عصاره در دوزهای مختلف با گروه کنترل، در زمان‌های مختلف صورت گرفته است. $p < 0.05$ ، $p < 0.001$ اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.



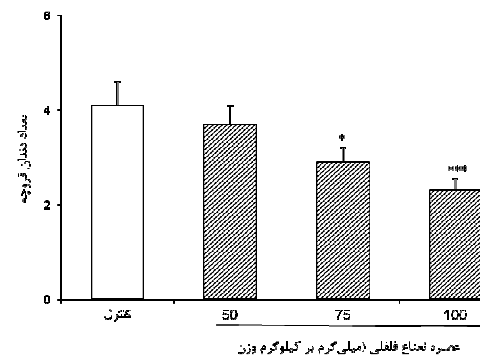
عصاره نعنای فلفلی (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)



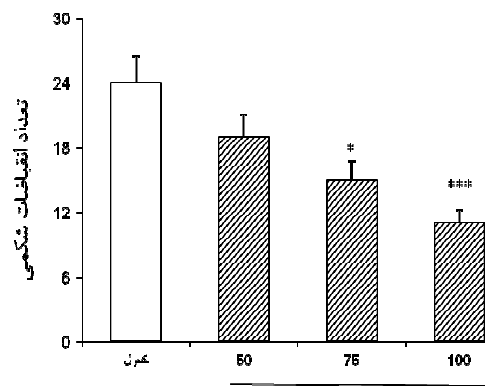
عصاره نعنای فلفلی (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)



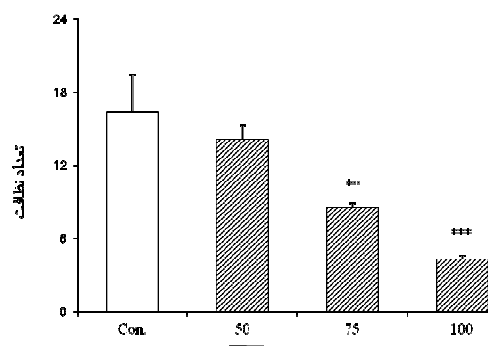
عصاره نعنای فلفلی (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)



عصاره نعنای فلفلی (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)



عصاره نعنای فلفلی (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)



عصاره نعنای فلفلی (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)

نمودار ۳. بررسی اثر تیمار عصاره الکی بخش‌های هوایی گیاه نعنای فلفلی بر تعداد پرش، نظافت، انقباضات شکمی، دندان قروچه، میزان اسهال و افتادگی پلک ناشی از تزریق نالوکسان به مدت ۳۰ دقیقه در موش‌های وابسته به مرفین. تعداد حیوانات در هر گروه ۵ سر می‌باشد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه گردید. $p < 0.05$ *، $p < 0.01$ **، $p < 0.001$ *** اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.

از این طریق انتقال سیگنال درد را مهار می‌کند و منجر به کاهش احساس درد می‌شود (۳۲). میرسن یا بتا- میرسن که از مونوترپن‌های نعناع فلفلی است، در هر دو ناحیه محیطی و مرکزی عمل می‌کند و ممکن است به واسطه اپیوئیدهای اندوژن و آلفا ۲- آدرنورسپتورها در این امر دخیل باشد (۳۳). تمامی این نتایج دلالت بر اثرات آرام بخشی و ضد دردی نعناع فلفلی دارد. بنابراین نعناع فلفلی می‌تواند جایگزین مرفین در طی روند تحمل به اثر ضددردی مرفین شود.

در تحقیق حاضر جهت ایجاد وابستگی، دوزهای افزایشی مرفین تیمار گردید و به منظور بررسی علایم ترک، حیوانات نالوکسان را دریافت کردند. در توافق با نتایج تحقیق حاضر، حسین زاده و همکاران برای ایجاد وابستگی، تیمار مرفین را به مدت سه روز در سه دوز افزایشی ۱۰، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی روزی سه بار انجام دادند و در روز چهارم، دو ساعت بعد از تزریق مرفین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نالوکسان تزریق نمودند (۳۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره اتانولی نعناع فلفلی می‌تواند وابستگی و علایم سندرم ترک مثل پریدن، انقباضات شکمی و اسهال، نظافت، افتادگی پلک و دندان قروچه را کاهش دهد. عصاره نعناع اثرات معنی‌داری در کاهش پرش دم ناشی از تزریق نالوکسان داشته است (۳۵). نقش سیستم‌های اپیوئیدریژیک و کولینرژیک بر سندرم ترک ثابت شده است (۳۶). اثر مهار کننده کولین استرزی ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی خانواده

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره اتانولی نعناع فلفلی می‌تواند اکتساب و بیان تحمل به مرفین را کاهش دهد. تحمل مرفین پدیده‌ای پیچیده است و نیاز به فعال شدن یا مهار شدن چندین سیستم نوروترانسمیتری مثل اپیوئیدریژیک، دوپامینرژیک و گابا آرژیک در مغز دارد (۹ و ۲۶). به علاوه مطالعه‌های مشخص کردند که مهار گیرنده‌های گلوتامات NMDA قادر به مهار تحمل مرفین می‌باشد (۲۷). لینالول که از مونوترپن‌های موجود در نعناع فلفلی است سبب افزایش تمایل گابا به اتصال به گیرنده گابا (۲۸) و سبب کاهش آزادسازی گلوتامات و بازجذب آن می‌شود و فعالیت گلوتامات را در مطالعه‌های برون تنی (به عنوان آنتاگونیست رقابتی L- گلوتامات) و مطالعه‌های درون تنی (تشنج ناشی از NMDA را بلوکه می‌کند) تعدیل می‌نماید (۲۹). همچنین لینالول در ارتباط با سیستم‌های کولینرژیک و اپیوئیدریژیک است (۳۰). بنابراین احتمالاً لینالول یکی از عواملی است که کاهش تحمل مرفین به وسیله عصاره نعناع فلفلی را در تحقیق حاضر توجیه می‌کند. به علاوه در تحقیق حاضر اثر ضد دردی نعناع در آزمون صفحه داغ ثابت شد که در بسیاری از تحقیقات نیز به اثبات رسیده است. از جمله تحقیق‌های نورالدینی و همکاران (۵) و صمصام شریعت و همکاران (۳۱) که خاصیت ضددردی و ضدتشنج و آرام کننده اعصاب، نعناع فلفلی را به اثبات رساندند. منتول بر رسپتورهای کاپا اپیوئیدی اثر می‌گذارد و احتمالاً منتول موجود در عصاره نعناع بر گیرنده‌های کاپا اثر نموده و

خود را ایفا می‌نماید. بنابراین گیاه نعناع فلفلی با داشتن چنین اثراتی و با توجه به نتایج به دست آمده می‌تواند تحمل و وابستگی و علایم سندرم ترک را کاهش دهد. در مطالعه‌های بعدی می‌توان ترکیب‌های مؤثر گیاه و مکانیسم عمل آنها در کاهش تحمل و وابستگی به مرفین را مورد بررسی قرار داد تا مکانیسم اثر استفاده از گیاه نعناع در درمان اعتیاد مشخص گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران می‌باشد که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد.

لامیاسه گزارش شده است (۳۷ و ۱۷). بنابراین با توجه به خاصیت آنتی‌کولینرژیک نعناع فلفلی اثر آن در مهار سندرم ترک ثابت می‌شود. امامی ابرقویی و همکاران در سال ۱۳۸۸ نشان دادند که عصاره هیدروالکلی گیاه نعناع حرکات ایلئوم را کاهش می‌دهد (۲۱). اسپاسم عضلات ارگان‌های شکم سبب درد و انقباض می‌گردد که ناشی از افزایش استیل کولین و متعاقب آن افزایش پالس‌های عصبی و انقباض عضلات صاف می‌باشد. درد سخت شکم و کولیک از علایم آن هستند. برای درمان از داروهای آنتی‌کولینرژیک استفاده می‌شود که با قرارگرفتن روی گیرنده‌های استیل کولینی و بلوکه کردن عملکرد استیل کولین و تعدیل پالس‌های عصبی کار خود را انجام می‌دهند. از جمله گیاهان دارویی که اثر آنتی‌کولینرژیک دارد نعناع فلفلی می‌باشد (۳۸). به علاوه تصور می‌شود که اسهال از اثر مرفین بر روی سیستم عصبی کولینرژیک در روده ایجاد می‌شود (۳۹). این نتایج با نتایج تحقیق حاضر مبنی بر کاهش انقباضات شکمی و اسهال در موش‌های وابسته به مرفین مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار عصاره الکلی بخش‌های هوایی گیاه نعناع فلفلی موجب کاهش تحمل و وابستگی در برابر مرفین گردیده و قادر به کاهش علایم سندرم ترک می‌گردد. گیاه نعناع فلفلی احتمالاً با دارا بودن خاصیت ضددردی، آنتی‌کولینرژیک، آرام بخشی و میان کنش با سیستم‌های اپیوئیدی اثرات

REFERENCES

1. Eccles R. Menthol and related cooling compounds. *J Pharm Pharmacol* 1994; 46: 618-30.
2. Bernath J. Medicinal and Aromatic plants. *Flav Frag J* 2000; 4(18): 85-9.
3. Zargari A. Medicinal Plants. 6th ed. Tehran: Tehran University; 1999; 200-5.
4. Brown L. Mint soil fertility research. *Planta Medica* 2006; 63(4): 356-9.
5. Nouraldini M, Nouredin M, Salami M, Mesdaghinia AR, Verdi J, Salimian M. Analgesic effects of *Mentha piperita* extract on rats. *Feyz J* 2007; 10: 19-23.
6. Walwyn W, Miotto K, Evans C. Opioid pharmaceuticals and addiction: The issues, and research directions seeking solutions. *Drug Alcohol Depend* 2010; 108: 156-65.
7. Cathy S. Opioids for persistent pain: Information for patients. The British Pain Society 2010; 4-16.
8. Collett BJ. Opioid tolerance: the clinical sportive. *Br J Anaesth* 1998; 81: 58-68.
9. Law PY, Loh HH, Wei LN. Insights into the receptor transcription and signaling: Implications in opioid tolerance and dependence. *Neuropharmacology* 2004; 47: 300-11.
10. Waldhoer M, Bartlett SE, Whistler JL. Opioid receptors. *Annu Rev Biochem* 2004; 73: 953-90.
11. Zarrindast MR, Dinkoub Z, Homayoun H, Bakhtiarian A, Khavandgar S. Dopamine receptor mechanism(s) and morphine tolerance in mice. *J Psychopharmacol* 2002; 16: 261-6.
12. Bhargava HN, Way EL. Morphine tolerance and physical dependence: influence of cholinergic agonists and antagonists. *Eur J Pharmacol* 1976; 36: 79-88.
13. McLemore GL, Kest B, Inturrisi CE. The effects of LY 293558, an AMPA receptor antagonist, on acute and chronic morphine dependence. *Brain Res* 1997; 778: 120-6.
14. Stannard C. Opioids for persistent pain: information for patients. *Brit Pain Soc* 2010; 4-16.
15. Bill W. Twelve concepts for NA service. 3th ed. Chatsworth, CA: NAWA Inc; 2011; 56-78.
16. Karami M, Hossini E, Majd NS, Ebrahimzadeh MA, Alemy S. Pharmacological basis of opioids dependence (addiction) and its treatment. *J Clin Exc* 2013; 1(2): 98-114.
17. Zargari A. Medicinal plant. 4th ed. Tehran: Tehran University; 1994; 91-102.
18. Karami M, Gohari AR. Effects of root extracts of *Withania coagulans* on withdrawal syndrome in albino mice. *Pharmaceutical Crops* 2012; 3: 125-8.
19. Alemy SH, Karami M, Hossini E, Ebrahimzadeh MA, Shahabi-Majd N. Antinociceptive activity and effect of methanol extract of *Salvia limbata* on withdrawal syndrome in mice. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012; 16: 38-42.
20. Karami M, Alemy SH, Hossini E, Gohari AR, Ebrahimzadeh MA, Ehsani Vostacolae S. Comparison antinociceptive activity of the aqueous methanolic extracts of *Salvia limbata* and *Phytolacca Americana* in mice. *Pharmacology Online* 2011; 1: 625-31.
21. Emmami Abarghoei M, Vafaei AA, Vasheghani Farahani R. Effect of hydroalcoholic extract of *Mentha piperita* on the guinea-pig ileum. *J Sabzevar Univ Med Sci* 2010; 16: 18-24.
22. Rauf K, Subhan F, Abbas M, Badshah A, Ullah I, Ullah S. Effect of bacosides on acquisition and expression of morphine tolerance. *Phytomedicine* 2011; 836-42.
23. Esmaili-Mahani S, Fathi Y, Motamedi F, Hossein-panah F, Ahmadiani A. L-type calcium channel blockade attenuates morphine withdrawal: in vivo interaction between L-type calcium channel and corticosterone. *Hormones and Behavior* 2008; 53: 169-75.
24. Eddy NB, Leimbach D. Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. *J Pharmacol Exp Ther* 1953; 107: 385-93.
25. Schmidt BL, Tambeli CH, Barletta J, Luo L, Green P, Levine JD, et al. Altered nucleus accumbens circuitry mediates pain-induced antinociception in morphine-tolerant rats. *J Neurosci* 2002; 22: 6773-80.
26. Harrison LM, Kastin AJ, Zadina JE. Opiate tolerance and dependence: receptors, G-proteins, and antiopiates. *Peptides* 1998; 19: 1603-30.
27. Trujillo KA, Akil H. Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK801. *Science* 1991; 251: 85-7.
28. Julfikar HS, Koutaro H. Effects of tea components on the response of GABAA receptors expressed in *Xenopus oocytes*. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 3954-60.
29. Brum LF, Elisabetsky E, Souza DO. Effects of linalool on MK124 and muscimol binding in mouse cortical membranes. *Phytother Res* 2001; 15: 422-5.
30. Umezu T, Naqano K, Ito H, Kosakai K, Sakaniwa M, Morita M. Anticonflict effects of lavender oil and identification of its active constituents. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 85: 713-21.
31. Samsam-Shariat H. Collection of medicinal plants. Esfahn: Mani Pub; 2007; 19.
32. Tavakoli M, Sedaghat M. Medicinal Plants. Tehran: Rouzbahan Press; 1992; 50-150.

33. Rao VSN, Menezes AMS, Viana GSB. Effect of myrcene on nociception in mice. *J Pharm Pharmacol* 1990; 42: 877-8.
34. Hosseinzadeh H, Jafarzadeh SH, Lari P. Effects of aqueous and ethanolic leaf extracts of *Mentha longifolia* on morphine dependence in mice. *Pharmacology* 2011; 904-9.
35. Vafaie AA, Georgian H, Taherian AA, Bagherian M. The effects of plant extracts of valerian, fennel, mint, on the symptoms of withdrawal in mice. *Koomesh* 2011; 30: 129-31.
36. Williams JT, Christie MJ, Manzoni O. Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiol Rev* 2001; 81: 299-343.
37. Naghibi F, Mosaddegh M, MohammadiMotamed M, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iran J Pharm Res* 2005; 2: 63-79.
38. Umezu T. Evaluation of the effects of plant-derived essential oils on central nervous system function using discrete shuttle-type conditioned avoidance response in mice. *Phytother Res* 2012; 26:884-91.
39. Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci* 2001;2: 119-28.

The Effect of Ethanol Extract of Aerial Parts of the *Mentha piperita* in the Acquisition, Tolerance Expression and Dependence to Morphine in Adult Male Mice

Khajeh N¹, Eidi A^{1*}, Zarringhalam J²

¹Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, ²Department of Physiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 17 May 2014

Accepted: 1 Jan 2015

Background & aim: Morphine dependence is a compulsive pattern of drug taking, resulting from the positive reinforcement of the rewarding effects of drug taking and the negative reinforcement of withdrawal syndrome that accompanies the cessation of drug taking. The objective of this study was to investigate the effect of ethanol extract of aerial parts of the *Mentha piperita* in the acquisition, tolerance expression and dependence to morphine in adult male mice

Methods: In the present study, 75 NMRI mice were divided into fifteen groups. The Hot-plate test was used to survey the morphine activity. Morphine was injected (2.5, 5, 10, 20, 40 mg/kg, i.p.) twice daily for seven days, except in 8th day in which morphine was administered at a single dose (50 mg/kg). The extract (50, 75, 100 mg/kg) was injected for eight days. The control animals were intact, and sham animals only received morphine. Naloxone was injected (10 mg/kg) five hours after the final dose of morphine and the withdrawal signs were recorded during a 30 minute period. The data were expressed as mean values \pm SEM and tested, using analysis of one-way ANOVA test.

Results: Peppermint extract at doses of 75 and 100 kg significantly improved the tolerance expression and dependence to morphine in animals and significantly reduced the symptoms of withdrawal.

Conclusion: Peppermint extract was commuted morphine tolerance and dependence in mice. The plant contained component(s) that alleviate morphine withdrawal syndrome. The extract possibly is effective in improving tolerance to morphine.

Keywords: *Mentha piperita* L.; Dependence; Tolerance; Withdrawal syndrome, Mice

*Corresponding Author: Eidi A, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Email: eidi@srbiau.ac.ir

Please cite this article as follows:

Khajeh N, Eidi A, Zarringhalam J. The Effect of Ethanol Extract of Aerial Parts of the *Mentha piperita* in the Acquisition, Tolerance Expression and Dependence to Morphine in Adult Male Mice. Armaghane-danesh 2015; 20 (1): 53-65.