

Separate Evaluation of the Effects of *Satureja hortensis* L. and *Froriepia subpinnata* (Ledeb) Baill. Extracts on Gastric Ulcers in an Animal Model

Nima Nejad Naderi¹,
 Mohammad Azadbakht^{2,3},
 Jafar Akbari⁴,
 Fatemeh Akbari⁵,
 Fereshteh Talebpour^{6,7},
 Hossein Ebrahimi¹

¹ Medicinal Plant Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Professor, Department of Pharmacognosy and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ The Health of Plant and Livestock Products Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Pharmacognosy and Biotechnology, School of Pharmacy Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

⁶ Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁷ Cellular and Molecular Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received December 11, 2023; Accepted January 19, 2025)

Abstract

Background and purpose: Gastric ulcers pose significant health challenges due to their high prevalence in various populations. Several factors contribute to the development of this condition, including *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection, excessive use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), smoking, age, and gender. Given the high incidence of gastric ulcers induced by NSAID consumption, this study aims to investigate the protective effects of hydroalcoholic extracts of *Satureja hortensis* and *Froriepia subpinnata* against indomethacin-induced gastric ulcers in animal models.

Materials and methods: In this experimental study, the leaves of *Satureja hortensis* and *Froriepia subpinnata* were dried and extracted using 60% ethanol. The toxicity of these plant extracts was assessed using *Artemia salina*. The total phenolic and flavonoid contents of the extracts were measured spectrophotometrically. For the animal study, 48 Balb/c mice (n= 6 per group) were used. The treatment groups included omeprazole (30 mg/kg) and three different doses (250, 500, and 1000 mg/kg) of *Satureja hortensis* and *Froriepia subpinnata*, administered separately by gavage. A negative control group received normal saline. One hour after treatment, indomethacin was administered via gavage to induce gastric ulcers. Four hours after indomethacin administration, the animals were anesthetized, and their stomachs were collected for histopathological evaluation.

Results: Histopathological findings revealed that inflammation, gastric tissue bleeding, and congestion were reduced in the *Satureja hortensis* and *Froriepia subpinnata* groups. Moreover, the 1000 mg/kg dose of both extracts demonstrated greater efficacy compared to the lower doses tested.

Conclusion: Extracts of *Satureja hortensis* and *Froriepia subpinnata* exhibit a protective effect against gastric ulcers induced by NSAIDs. This protective effect is likely attributed to the antioxidant and anti-inflammatory properties of phenols and flavonoids present in the extracts and appears to be dose-dependent.

Keywords: *Satureja hortensis* L., *Froriepia subpinnata* L., gastric ulcer, indomethacin, *Artemia Salina*

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 34 (241): 1-11 (Persian).

Corresponding Author: Mohammad Azadbakht - Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: azadbakhtm@hotmail.com)

بررسی جداگانه اثر عصاره گیاهان مرزه (*Satureja hortensis* L.) و اناریجه (*Froriepia subpinnata* (Ledeb) Baill.) بر زخم معده در مدل حیوانی

نیما نژاد نادری^۱
محمد آزادبخت^{۳،۲}
جعفر اکبری^۴
فاطمه اکبری^۵
فرشته طالب پور^{۷،۶}
حسین ابراهیمی^۱

چکیده

سابقه و هدف: زخم معده مشکلات متعددی را با شیوع بالا در جوامع ایجاد کرده است. عوامل متعددی می تواند زمینه ساز این بیماری شوند که از آن جمله می توان ابتلا به هلیکوباکتر پیلوری، مصرف بی رویه داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی، سیگار، سن و جنس را نام برد. باتوجه به شیوع بالای زخم معده ناشی از داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی، این مطالعه به بررسی اثر عصاره های هیدروالکلی مرزه (*Satureja hortensis*) و اناریجه (*Froriepia subpinnata*) بر پیشگیری از زخم معده ناشی از ایندومتاسین در مدل های حیوانی پرداخت.

مواد و روش ها: در مطالعه تجربی حاضر، برگ گیاهان مرزه و اناریجه تهیه، سپس خشک و تحت عصاره گیری با اتانل ۶۰ درصد قرار گرفت. میزان سمیت این دو گیاه به وسیله آرتیمیا سالینا اندازه گیری شد. میزان فنول و فلاونوئید عصاره گیاهان بر اساس اسپکتروفتومتری سنجیده شد.

در مطالعه حیوانی از ۴۸ موش Balb/c (n=۶) استفاده شد. گروه ها شامل امپرازول ۳۰ mg/kg و سه غلظت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg از مرزه و اناریجه به طور جداگانه و گروه کنترل منفی (نرمال سالین) بودند که داروها با گاوآژ در موش ها تجویز شدند. پس از یک ساعت از درمان گروه ها، گاوآژ ایندومتاسین برای ایجاد زخم معده در موش تجویز شد. چهار ساعت پس از تجویز ایندومتاسین، حیوانات بیهوش شده و معده مورد ارزیابی هیستوپاتولوژیک قرار گرفت.

یافته ها: یافته های هیستوپاتولوژیکی نشان داد که التهاب، خونریزی بافت معده و احتقان در گروه اناریجه و مرزه کاهش یافته است. هم چنین دوز ۱۰۰۰ mg/kg در هر دو عصاره مؤثرتر از سایر دوزهای مورد آزمایش بود.

استنتاج: عصاره های گیاهان اناریجه و مرزه می توانند اثر محافظتی بر زخم معده ناشی از مصرف داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی داشته باشند. این اثر احتمالاً به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی فنل ها و فلاونوئیدها در عصاره است که این میزان وابسته به دوز دریافتی نیز می باشد.

واژه های کلیدی: اناریجه، مرزه، زخم معده، ایندومتاسین، آرتیمیا سالینا

E-mail: azadbakht@hotmai.com

مؤلف مسئول: محمد آزادبخت - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

۱. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استاد، گروه فارماکوکینوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. مرکز تحقیقات سلامت فرآورده های گیاهی و دامی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. استاد، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. استادیار، گروه فارماکوکینوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۶. استاد، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۷. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۱۰/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۱۰/۳۰

مقدمه

زخم معده یکی از رایج ترین اختلالات سیستم گوارشی است که در آن بافت مخاط و زیرمخاط دستگاه گوارش دچار آسیب شده است. شیوع آن در ایران حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد می باشد. علل متعددی می تواند سبب ساز این بیماری شود که از آن جمله ابتلا به هلیکوباکتر پیلوری، مصرف سیگار، گروه سنی میانسال یا مسن، گروه خونی O، استرس و مصرف داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAID) از مهم ترین این عوامل هستند (۱). زخم معده دارای علائمی مانند درد ناحیه فوقانی شکم و سوزش سر دل، سوء هاضمه و وجود خون در مدفوع می باشد (۲). تعادل بین فاکتورهای دفاعی معده (مثل آنتی اکسیدانت ها، پروستاگلاندین، ترشح بیکربنات و موکوس) جهت خنثی کردن فاکتورهای تهاجمی آسیبزا (مثل ترشح بیش از اندازه اسید، پپسین، وجود هلیکوباکتر پیلوری و زیاد شدن رادیکال های آزاد) برای حفظ سلامت معده ضروری است. برهم خوردن این تعادل می تواند موجب زخم پپتیک شود (۳). با توجه به افزایش میانگین سنی جمعیت ایران و افزایش بیماری های مرتبط با سالمندی مانند دردهای مزمن، آرتريت روماتوئید و درد ناشی از شکستگی و پوکی استخوان و از طرفی دیگر تجویز بیش از اندازه داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی و دسترسی آسان بدون نیاز به نسخه برای بسیاری از این داروها، تمامی این عوامل موجب تشدید زخم معده به عنوان عارضه اصلی این داروها شده است.

پوشش گیاهی متنوع و غنی ایران باعث شده است در طول تاریخ مردمان برای رفع نیازهای خود به آن توجه ویژه ای داشته باشند. حاصل مطالعه و پژوهش سالیان سال دانشمندان برای مداوای بشر منتج به طب سنتی درخشان ایران شده است و به موجب این امر، مطالعه حاضر به بررسی دو گیاه اناریجه و مرزه که در طب سنتی ایرانی به عنوان ضد زخم مطرح شده اند (۴)، جهت بررسی اثرات ضد زخم معده این گیاهان می پردازد.

اناریجه با نام علمی *Froriepia subpinnata* (Ledeb.) Baill. تیره گیاهان معطر خانواده Apiaceae می باشد و دارای ۱۵۰ گونه در اوراسیا و آفریقا و بیش تر از ۱۶ گونه در اروپا و ۲۲ گونه در ایران است (۵). این گیاه در طب سنتی دارای خواص ضد نفخ، ضد عفونی کننده، اشتها آور، ضد اسپاسم، مدر، ضد زخم، آرام بخش، افزایش دهنده شیر و هم چنین دارای اثر آنتی اکسیدانتی و آنتی باکتریال می باشد (۶). اناریجه گیاهی یک ساله است که ارتفاع آن بین ۲۰ تا ۱۱۰ سانتی متر است که می تواند گل افشانی و تولید مثل کند (۷). گیاه اناریجه دارای ترکیبات فنولی می باشد که دارای خواص آنتی اکسیدانتی است. اناریجه هم چنین دارای ترکیبات فلاونوئید، سولفور و دی آلیل سولفید و تری سولفید و آلیل سیستین می باشد و اسانس آن اثرات ضد میکروبی نشان داده است (۸). اسانس اناریجه نیز دارای ترکیبات p-cymen-8-ol (۳۴/۷ درصد)، ترپینولن (۱۲/۵ درصد) و لیمونن (۱۰/۵ درصد)، اکسید کاریوفیلن (۲۰/۱ درصد)، ترانس ورنبول (۱۰/۲ درصد)، لینالول (۵/۳ درصد) و هومولن اپوکسید II می باشد. در تحقیق دیگری علاوه بر این ترکیب ها، بتا فلاتردن (۵۰/۳ درصد) و سابینن (۲۵/۷ درصد) نیز در این گیاه گزارش کرده اند (۸).

گیاه مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* L. گیاهی از تیره گیاهان معطر خانواده Lamiaceae است. ترکیبات اصلی گونه های مرزه دارای اسانس، تانن ها، ترکیبات فنولی، موسیلاژ، صمغ، اسیدها، استرول و پیروکاتیکول می باشند. این ترکیبات دارای اثرات آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی هستند (۹). گونه های این جنس عمدتاً بومی مناطق مدیترانه شرقی و غرب آسیا می باشند. بیش از ۱۴ گونه از این گیاه در ایران وجود دارد که ۹ گونه آن بومی ایران است (۱۰). محل رویش این گونه ها روی صخره های آهکی و دامنه های سنگی می باشد. گیاه مرزه در پزشکی و طب سنتی دارای خواص اشتها آور، آرام بخش و ضد عفونی کننده، ضد زخم و

مسکن می‌باشد (۱۱). اساس آن دارای ترکیبات کارواکرول (۷۵/۴۳ درصد)، γ -ترپنین (۵/۴۱ درصد)، p-cymene (۴/۲۹ درصد) و β -کاریوفیلین (۳/۰۴ درصد) می‌باشد که دارای خاصیت ضد میکروبی و ضد باکتری است. کارواکرول در ترکیبات بهداشتی به عنوان ضد عفونی کننده کاربرد فراوان دارد (۱۲). با توجه به ترکیبات موجود در این دو گیاه و اشارات ضد زخمی این گیاهان در طب سنتی، این مطالعه به بررسی اثر عصاره این دو گیاه بر پیشگیری از زخم معده در مدل حیوانی پرداخت.

مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی حاضر، به بررسی اثر پیشگیرانه عصاره گیاهی مرزه و اناریجه به صورت جداگانه بر روی زخم معده ناشی از ایندومتاسین در مدل حیوانی می‌پردازد.

آماده‌سازی گیاهی و عصاره‌گیری

گیاه اناریجه و مرزه از بازار ساری تهیه شد. با بررسی خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی، نام علمی دو گیاه تایید و در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران با شماره 81-E1-36 برای مرزه و شماره 2111-E1-218 برای اناریجه نگهداری شدند. برگ‌های گیاهان، خشک و آسیاب شد. ۱۰۰ گرم از گیاه آسیاب شده با دستگاه پرکولاتور با حلال اتانل ۶۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق (۲۴ درجه سانتی‌گراد) عصاره‌گیری شد. عصاره صاف شد و با دستگاه روتاری تحت خلا تغلیظ و سپس عصاره تغلیظ شده تحت فریز درایر به صورت پودر خشک درآمد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید و فنول تام

برای سنجش میزان فنل تام براساس روش رنگ‌سنجی Folin-ciocaltue با استفاده از گالیک اسید به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد. میزان فلاونوئید تام به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید با استفاده از کوئرتستین به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (۱۳).

آزمایش سمیت LC_{50} و سمیت حاد در آرتمیا سالینا برای سنجش غلظت سمی کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) از آرتمیاسالینا پرورشی (*Artemia franciscana*) با استفاده از روش Parra و همکاران استفاده شد (۱۴). در این روش ۵۰۰ میلی‌گرم کیست آرتمیا سالینا در آب دریای مصنوعی با PH حدود ۸/۵-۸، با هوادهی مداوم، دمای ۲۴ درجه و تحت نور غیر مستقیم قرار گرفت و تبدیل به لارو شد. بعد از آن لاروها به دسته‌های ۱۰ عددی تقسیم و در لوله‌های آزمایش جداگانه قرار گرفتند. سپس از عصاره‌ها سریال دیلوشن با غلظت‌های ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ تهیه شد. هم‌چنین گروه حاوی محیط کشت (کنترل منفی) و گروه حاوی DMSO به همراه محیط کشت (کنترل مثبت) تهیه شد. میزان لاروهای مرده در هر لوله پس از ۲۴ ساعت مشخص گردید و با گروه‌های کنترل مقایسه شد.

هم‌چنین گروه کنترل مثبت (مثبت یک میلی‌لیتر DMSO به همراه محیط کشت) و گروه کنترل منفی (گروه کنترل منفی شامل محیط کشت) تهیه شد. آزمایش در گروه‌های سه‌تایی برای هر غلظت صورت گرفت (۱۵). برای محاسبه درصد مرگ و میر نهایی، از فرمول زیر استفاده شد. میزان غلظتی که نصف تعداد لاروهای آرتمیا را کشته باشد به عنوان LC_{50} در نظر گرفته شد.

$$\text{میزان لارو مرده کنترل منفی} = \text{درصد مرگ} \\ 100 / (\text{میزان لارو مرده کنترل درمان}) -$$

ارزیابی اثر پیشگیری عصاره‌ها بر زخم معده در مدل حیوانی آماده‌سازی حیوانات

مطالعه تجربی حاصل اثر پیشگیرانه از ایجاد زخم معده عصاره‌های مرزه و اناریجه را مورد بررسی قرار داد. برای این منظور و یافتن اثربخش‌ترین دوز از گیاهان مرزه و اناریجه سه دوز ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg براساس متن مقالات انتخاب شدند و مورد بررسی قرار گرفتند.

این مطالعه مطابق با اصول انجمن حمایت از حقوق حیوانات با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1401.161 انجام شد. برای این منظور ۴۸ موش نر بالغ سفید با وزن نرمال (۲۵ تا ۳۵ گرم) از موسسه تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تهیه و تحت شرایط استاندارد قرار گرفت، به این صورت که حیوانات تحت ۱۲ ساعت چرخه تاریکی-روشنایی، دمای 24°C و دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد قرار گرفتند.

القای زخم با استفاده از ایندومتاسین

از روش Basile و همکاران برای بررسی اثر پیشگیرانه عصاره‌های هیدروالکلی مرزه و اناریجه در ایجاد زخم معده استفاده شد (۱۶). در مطالعه حاضر ۴۸ موش به هشت گروه ۶ عددی تقسیم شدند و در قفسه‌های جدا (هر قفسه حاوی ۶ موش) نگهداری شدند. گروه‌ها به ترتیب شامل گروه ۱: عصاره اناریجه با غلظت ۲۵۰ mg/kg، گروه ۲: عصاره اناریجه با غلظت ۵۰۰ mg/kg، گروه ۳: عصاره اناریجه با غلظت ۱۰۰۰ mg/kg، گروه ۴: عصاره مرزه با غلظت ۲۵۰ mg/kg، گروه ۵: عصاره مرزه با غلظت ۵۰۰ mg/kg، گروه ۶: عصاره مرزه با غلظت ۱۰۰۰ mg/kg، گروه ۷: نرمال سالین (کنترل منفی) و گروه ۸: کنترل مثبت (امپرازول) با غلظت ۳۰ mg/kg بودند.

ایندومتاسین با غلظت ۷۰ mg/kg برای ایجاد القای زخم معده به صورت گاوآژ مورد استفاده قرار گرفت. مطابق مطالعات، مدت زمان مورد نیاز برای بروز اثر زخم معده ایندومتاسین حداقل چهار ساعت است (۱۶). در مطالعه حاضر چهار ساعت بعد از گاوآژ ایندومتاسین، حیوانات به وسیله زایلین و کتامین با دوز ۰/۱۵ میلی‌لیتر بر ۱۰۰ گرم وزن بدن بیهوش و سپس معده‌ها جدا شدند. معده‌های موش‌ها از قسمت طولی باز شده و پس از برداشتن کیموس (باقی مانده مواد غذایی در معده)، روی سطح صاف به صورت مسطح قرار گرفت و در فرمالین ۱۰ درصد ثابت شدند و در نهایت برای بررسی‌های پاتولوژی به آزمایشگاه مربوطه فرستاده شد.

بررسی هیستوپاتولوژی

بافت تثبیت شده در فرمالین توسط رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین رنگ شد. تغییرات بافت شامل بافت اپی‌تلیال، آرایش غدد، ادم، التهاب، نکروز، خونریزی و نفوذ لکوسیت‌ها به وسیله میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت (۱۷).

بررسی آماری

داده‌های تجربی توسط تحلیل واریانس یک طرفه با نرم‌فزار SPSS و به دنبال آن تست Tukey مورد بررسی آماری قرار گرفت. اختلاف سطح معنی‌داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. آزمون LD50 با استفاده از روش آنالیز Probit تعیین شد.

یافته‌ها

میزان فنول تام

میزان فنل تام براساس روش رنگ‌سنجی Folin-ciocaltue با استفاده از گالیک اسید و دستگاه اسپکتوفتومتر در ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۸). نمودار استاندارد رسم و معادله خط آن تهیه شد ($R^2 = 0/9987$ ، $y = 0/0127x + 0/002$) براساس معادله خط به دست آمده میزان فنول تام عصاره اناریجه و مرزه به ترتیب برابر $58/03 \mu\text{g/ml}$ و $50/55 \text{mg/ml}$ است.

میزان فلاونوئید تام

میزان فلاونوئید تام به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید با استفاده از کوئرستین و با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۶، ۱۲). سپس نمودار استاندارد کوئرستین رسم شد و با استفاده از معادله خط نمودار استاندارد، میزان فلاونوئید تام مشخص گردید. براساس نمودار استاندارد ($R^2 = 0/9994$ ، $y = 0/0054x + 0/372$) میزان فلاونوئید تام عصاره اناریجه و مرزه به ترتیب برابر $39/96 \mu\text{g/ml}$ و $22/74 \mu\text{g/ml}$ است.

آزمایش تعیین LC50 و سمیت حاد در آرمیا سالیئا

نتایج حاصل از غلظت کشنده ۵۰ درصد آرمیای پرورشی در جدول شماره ۱ درج شده است. بر این اساس این غلظت برای اناریجه ۱۰۰۰ ppm و برای مرزه ۲۵۰ ppm بود. ارزیابی هیستوپاتولوژی نمونه‌ها در سه شاخص ارتشاح سلول‌های التهابی، خونریزی و احتقان نشان داد که در هر دو گروه مرزه و اناریجه با افزایش غلظت، اثر بخشی به صورت چشم‌گیری بیش‌تر شد. هردو گیاه مرزه و اناریجه در دوز ۱۰۰۰ mg/kg هر دو عصاره، در شاخص خونریزی و احتقان به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل منفی موثرتر عمل

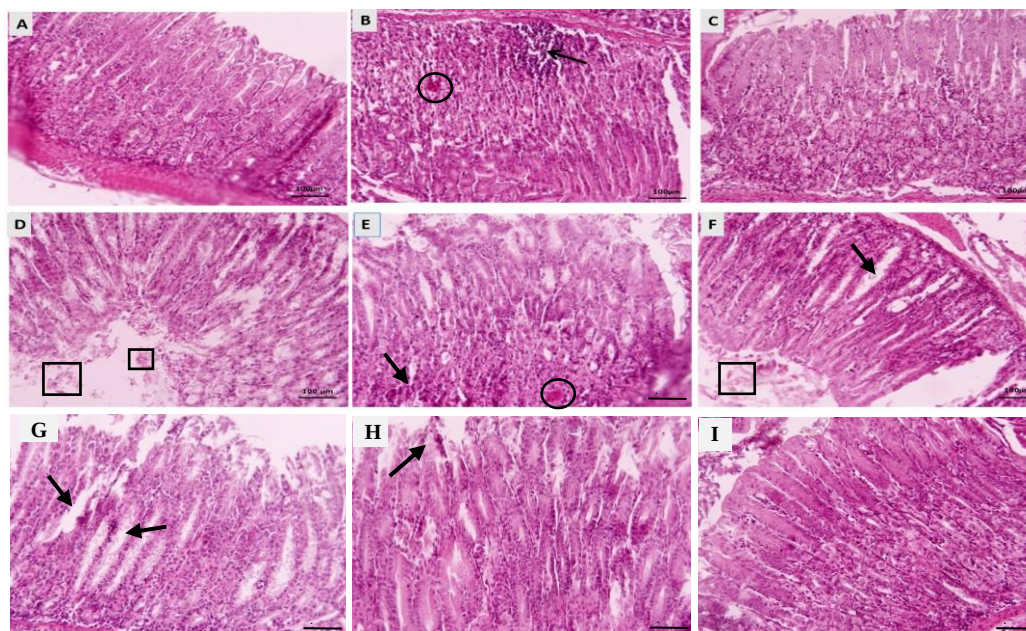
کرد (P<۰/۰۵) و نسبت به گروه کنترل مثبت تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). ارتشاح سلول‌های التهابی در گروه مرزه نسبت به گروه منفی معنی‌دار (P<۰/۰۵) و نسبت به گروه کنترل مثبت معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). مقایسه دو گروه اناریجه و مرزه با غلظت‌های ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۰۰۰ mg/kg در فاکتورهای ارتشاح سلول‌های التهابی، خونریزی و احتقان تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (به‌جز ارتشاح سلول‌ها در غلظت ۱۰۰ mg/kg، P<۰/۰۵) (جدول شماره ۲ و تصاویر شماره ۱ و ۲).

دوز سمیت و LC50 در گیاهان اناریجه و مرزه به ترتیب ۱۰۰۰ ppm و ۱۰۰۰ ppm می‌باشد.

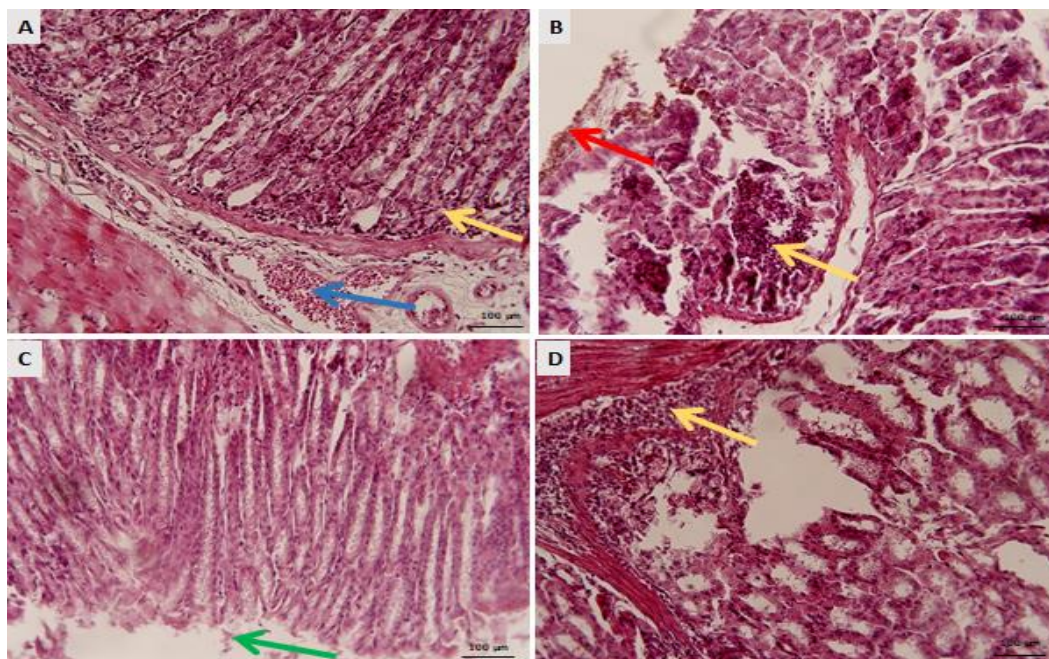
جدول شماره ۱: تعداد آرمیاهای زنده مانده در ۵ غلظت عصاره گیاهان اناریجه و مرزه

غلظت عصاره (ppm)					عصاره گیاهان اناریجه و مرزه		
۲۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۰۰	تعداد لاروهای زنده مانده (از ۱۰ عدد)	عصاره مرزه	بار اول
۰	۰	۲	۴	۶	۵	عصاره مرزه	بار دوم
۰	۰	۰	۳	۵	۵	عصاره مرزه	بار سوم
۰	۱	۱	۳	۵	۵	عصاره مرزه	
۰	۰/۳۳±۰/۵۷	۱±۱	۳/۶۶±۰/۵۷	۵/۳۳±۰/۵۷	۵/۳۳±۰/۵۷	انحراف معیار± میانگین	
۰	۳	۵	۷	۹	۹	عصاره اناریجه	بار اول
۱	۲	۶	۸	۱۰	۱۰	عصاره اناریجه	بار دوم
۱	۳	۵	۷	۹	۹	عصاره اناریجه	بار سوم
۰/۶۶±۰/۵۷	۲/۶۶±۰/۵۷	۵/۳۳±۰/۵۷	۷/۳۳±۰/۵۷	۹/۳۳±۰/۵۷	۹/۳۳±۰/۵۷	انحراف معیار± میانگین	

کنترل منفی: همه لاروها زنده ماندند (۱۰) کنترل مثبت: هیچ یک از لاروها زنده نماند (۰)



تصویر شماره ۱: تصویر میکروسکوپی یک معده در گروه‌های مختلف موش، بزرگمایی ۲۰×، رنگ آمیزی H&E. A- گروه موش‌های سالم (که هیچ ماده‌ای دریافت نکردند)، B- گروه کنترل منفی (ایندومتاسین)، C- گروه کنترل مثبت (امپرازول)، D- گروه اناریجه دوز ۲۵۰ mg/kg، E- گروه اناریجه دوز ۵۰۰ mg/kg، F- گروه اناریجه دوز ۱۰۰۰ mg/kg، G- گروه مرزه دوز ۲۵۰ mg/kg، H- گروه مرزه دوز ۵۰۰ mg/kg، I- گروه مرزه دوز ۱۰۰۰ mg/kg. مربع‌ها نشان‌دهنده ارتشاح سلول‌ها است، دایره بیانگر خونریزی، پیکان مشکی بیانگر احتقان



تصویر شماره ۲: تصویر میکروسکوپی بافت معده در گروه کنترل منفی (ایندومتاسین). پیکان سبز ریزش سلول های اپیتلیالی از غشای پایه، پیکان آبی احتقان عروقی، پیکان قرمز خونریزی، پیکان زرد ارتشاح سلول های التهابی. بزرگنمایی ۴۰×، رنگ آمیزی H&E.

گیاه قابل توجه بود. سپس اثر عصاره های گیاهی به صورت جداگانه و با سه غلظت متفاوت ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰ mg/kg در زخم معده و در مدل حیوانی مورد ارزیابی قرار گرفت.

زخم، یکی از شایع ترین مشکلاتی است که جوامع را درگیر می کند و یکی از علل موربیدیتی و مورتالیتی است و مدت زمان بهبودی آن یکی از موارد مهم مورد توجه در علوم پزشکی است. گزارشات متعددی در مورد عوارض به تاخیر افتادن ترمیم زخم وجود دارد. میکروب های فرصت طلب می توانند در زخم باز قرار گرفته و منجر به عفونت سیستمیک و گسترده در بدن و عوارض بعدی آن شوند، بنابراین سرعت در ترمیم، یک فاکتور لازم برای ترمیم زخم و در نتیجه داروی مورد استفاده است (۱۷). در حال حاضر داروهای شیمیایی مختلفی برای بهبود زخم تولید و در دسترس است که دارای عوارض جانبی متعدد می باشند. منابع طبیعی با توجه به دسترسی آسان و ارزان قیمت و با عوارض جانبی کمتر همیشه مورد توجه جوامع بوده است (۱۹).

جدول شماره ۲: جدول نتایج میزان معیارهای پاتولوژی زخم در گروه های مختلف دریافت کننده عصاره اناریجه و مرزه را نشان می دهد

گروه	عصاره اناریجه (mg/kg)			عصاره مرزه (mg/kg)			کنترل مثبت (ایندومتاسین)	کنترل منفی
	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰		
ارتشاح سلول های التهابی	++	++	+++b	+++	++	+a	+	+++
خونریزی	++	++	++a	++	++	+a	+	+++
احتقان	++	++	++a	++	++	+a	+	+++

a: نسبت به ایندومتاسین معنی دار است ($P \leq 0.001$ aaaa: $P \leq 0.0001$ aa: $P \leq 0.01$ a: $P \leq 0.05$).

b: نسبت به مرزه معنی دار است ($P \leq 0.001$ bbb: $P \leq 0.001$ bb: $P \leq 0.01$ b: $P \leq 0.05$).

واحدهای مورد بررسی کیفی و اعداد براساس نظر پاتولوژیست و به قراردادی هستند.

بررسی هیستوپاتولوژی

این مطالعه به بررسی اثر محافظتی عصاره هیدرالکلی اناریجه و مرزه در ابتلا به زخم معده ناشی از ایندومتاسین در مدل حیوانی پرداخت.

در ابتدا برای این مطالعه گیاهان جمع آوری، خشک و عصاره گیری شدند. برای استانداردسازی گیاه از تعیین مقدار فنول و فلاونوئید استفاده شد. که این میزان در هر دو

در طب سنتی ایران از مفردات و قراپادین مختلفی برای درمان انواع زخم‌ها و التهابات در گذشته استفاده می‌شده است. در طب ایرانی دو گیاه اناریجه و مرزه کاربرد فراوانی در درمان زخم‌ها داشتند که در کتب معتبری مانند قانون بوعلی سینا، فردوس الحکمه ابن الطبری، مخزن الادویه عقلی خراسانی و الجامع لمفردات الادویه و الاغذیه ابن‌البیطار از آن‌ها یاد شده است (۲۰). هم‌چنین مطالعات مختلفی در مورد عملکردهای فارماکولوژیک این دو گیاه اناریجه و مرزه انجام شده و مطالعاتی به بررسی اثر بهبود دهنده زخم دیابتی و غیر دیابتی پرداخته است.

با توجه به نتایج میکروسکوپی، هر دو گیاه اناریجه و مرزه به صورت جداگانه توانستند در غلظت 1000 mg/kg خونریزی و احتقان را به طور چشم‌گیری کاهش دهند ($P < 0.05$). هم‌چنین گیاه مرزه با غلظت 1000 mg/kg ارتشاح سلول‌های التهابی را به طور چشم‌گیری نسبت به سایر گروه‌های مورد بررسی کاهش داد (جدول شماره ۲ و تصویر شماره ۱). با توجه به بررسی فیتوشیمیایی عصاره‌های اناریجه و مرزه و حضور بالای فلاونوئید در عصاره‌های مورد بررسی و با توجه به اثرات فلاونوئیدها و تری‌ترپنوئیدها در بهبود ترمیم زخم با افزایش جمع شدن مساحت زخم و افزایش میزان اپی‌تلیالیزاسیون و جلوگیری از عفونت ثانویه، عصاره گیاهان اناریجه و مرزه می‌توانند نقش بسزایی در بهبود زخم ایجاد کنند (۲۰).

فیروبیلاست‌ها و سلول‌های اندوتلیال نقش اساسی در ترمیم بافت آسیب دیده دارند. این سلول‌ها با تشکیل کلاژن، بافت گرانوله و افزایش رشد مویرگ‌ها در محل زخم می‌توانند به پروسه ترمیم زخم کمک کنند (۲۳).

فیروبیلاست‌ها با افزایش فاکتورهای رشد و تولید سایتوکاین‌ها باعث تحریک تکثیر و تمایز سلول‌های بستر زخم می‌شوند.

کلاژن به واسطه ساختار پروتئینی خود در ماتریکس خارج سلولی بافت گرانوله می‌تواند به طور قابل توجهی

در استحکام زخم موثر باشد (۲۴). فلاونوئیدها باعث افزایش کراس‌لینک کلاژن می‌شوند و با این اثر باعث کاهش تخریب و ازهم‌پاشیدگی کلاژن محلول می‌شوند (۲۵). علاوه بر این فلاونوئیدها با نقش آنتی‌اکسیدانسی و به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد خود می‌توانند با به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد در محل زخم باعث کاهش التهاب زخم و تسریع روند ترمیم زخم شوند. یافته‌های این مطالعه و اثرات ضد زخم معده عصاره‌های اناریجه و مرزه می‌تواند به علت حضور فلاونوئیدها باشد که در مطالعه حاضر، آنالیز میزان فلاونوئید عصاره‌ها نشان از سطوح بالای عناصر فلاونوئید و فنول تام در عصاره گیاهان اناریجه و مرزه بود و هم‌چنین مطالعات متعددی نقش فلاونوئیدها را در بهبود ترمیم زخم نشان داده است (۲۶).

این نتایج همسو با نتایج یافته‌های بهرامی و همکاران است که به بررسی اثر ضد درد و ضد التهاب گیاه اناریجه پرداختند و نشان دادند این اثر به علت حضور ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه است (۲۷).

نتایج این مطالعه نشان داد که اثرات عصاره‌های مرزه و اناریجه با اثر داروهای معمول ضد اسید معده (امپرازول) در فاکتورهای التهاب و ارتشاح سلول‌ها برابر عمل کرده است و تفاوت معنی‌داری ندارد. مطالعه اتاقسرا و همکاران نشان داد که عصاره گیاه اناریجه دارای اثرات ضد التهابی مناسبی در مدل حیوانی است (۲۸).

مطالعه رستم آبادی و همکاران به بررسی اثر ضد دردی اسانس گیاه اناریجه پرداخت و مشخص شد اسانس این گیاه دارای اثرات ضد درد و ضد التهاب می‌باشد (۲۹).

پژوهش هاشمی و همکاران به بررسی اثر ضد درد و ضد التهاب عصاره هیدروالکلی و اسانس مرزه پرداخت. مطالعه آن‌ها نشان داد که عصاره و اسانس به خوبی اثرات کنترل درد داشتند و قابل مقایسه با داروهای ضد درد موجود در بازار دارویی بودند و سطح معنی‌داری

قابل قبول داشتند (۳۰).

در مطالعه شریفی و همکاران اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه مرزه مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که ترکیبات اسانس آن دارای اثرات چشمگیر ضد میکروبی و ضد تشکیل بیوفیلم توسط پاتوژن‌ها است (۳۱).

هم‌چنین به علت حضور فلاونوئیدها در اناریجه و مرزه می‌توان بیان داشت که این دسته ترکیبات با اثرات ضد باکتری و ضد ویروسی می‌توانند از عفونت‌های ثانویه زخم پیشگیری و جلوگیری کنند.

بنابراین با توجه به حضور فنول و به ویژه فلاونوئیدها به میزان قابل توجه در اناریجه و مرزه و فعالیت ضد میکروبی و ضد ویروسی این ترکیبات می‌توان گفت ترکیبات فنولی و فلاونوئید گیاه از عفونت ثانویه و مشکلات متعاقب آن جلوگیری کردند (۲۲).

این مطالعه نشان داد عصاره این گیاهان می‌تواند در پیشگیری از زخم معده نقش موثری داشته باشند و به‌عنوان یک گزینه مناسب برای پیشگیری و درمان زخم‌های حاد معده مشابه و هم‌توان با امپرازول موثر باشند. از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان عدم

بررسی پروفایل ترکیبات فلاونوئید عصاره‌های اناریجه و مرزه را نام برد. این مطالعه پیشنهاد می‌کند جهت ارزیابی دقیق‌تر اثر پیشگیرانه عصاره‌های مرزه و اناریجه، در مطالعات بعدی پروفایل ترکیبات فلاونوئیدی آن مشخص و مقدار هر ترکیب نیز مشخص شود. هم‌چنین ارتباط اثر هر ترکیب به صورت جداگانه در پیشگیری از زخم معده بیان شود. گیاهان مرزه و اناریجه با دوز ۱۰۰۰ mg/kg به خوبی توانستند اثرات پیشگیرانه از ایجاد زخم معده به واسطه ایندومتاسین در موش‌های balb/c نشان دهند. این اثر را می‌توان با میزان بالای ترکیبات فنول و فلاونوئیدی به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت و به واسطه آن کاهش التهاب در بافت آسیب دیده مرتبط دانست.

سیاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان از تمامی عزیزانی که در این مطالعه همراهی و همکاری کردند به‌ویژه کارکنان محترم آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی علوم پزشکی ساری کمال تقدیر و تشکر را دارد.

References

1. Abdollahi L, Zolfaghari MR, Amini M, Salehi R. The relation between microalbuminuria and *Helicobacter pylori* VacA gene in type 2 diabetic patients, Isfahan, Iran. *J Isfahan Med Sch* 2012; 30(179): 293-300.
2. Taghvaei T. An investigation of the prevalence of iceA genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from peptic ulcer patients in Sari (2008). *Arak Med Univ J* 2010; 13(3): 84-90.
3. Awaad AS, El-Meligy RM, Soliman GA. Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *J Saudi Chem Soc* 2013; 17(1): 101-124.
4. Nasiri E, Orimi JR, Aghabeiglooei Z, Walker-Meikle K, Amrollahi-Sharifabadi M. Avicenna's pharmacopeia for the treatment of animal bites. *Naunyn Schmiedeborgs Arch Pharmacol* 2023; 396(12): 3375-3393. PMID: 37368027.
5. Jodral MM. *Illicium, Pimpinella and Foeniculum*. CRC Press 2004.
6. Bahrani A, Jamzad M, Sedaghat S. Phytochemicals and biological activities of *Froriepia subpinnata* (Ledeb.) Baill. extracts. *J Med Plants By-prod* 2021; 10(1): 109-115.
7. Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names. Tehran: Farhang Moaser 1996.
8. Mohammadreza V. Chemical composition and antimicrobial activity of *Pimpinella*

- affinis Ledeb. essential oil growing in Iran. Hamdard Medicus 2010; 53(3): 30-33.
9. Hadian J, Ebrahimi SN, Salehi P. Variability of morphological and phytochemical characteristics among *Satureja hortensis* L. accessions of Iran. Ind Crops Prod 2010; 32(1): 62-69.
 10. Sefidkon F, Abbasi K, Jamzad Z, Ahmadi S. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. Food Chem 2007; 100(3): 1054-1058.
 11. Sefidkon F, Jamzad Z. Chemical composition of the essential oil of three Iranian *Satureja* species (*S. mutica*, *S. macrantha* and *S. intermedia*). Food Chem 2005; 91(1): 1-4.
 12. Khosravinia H. Hypolipidemic effects of *Satureja khuzistanica* essential oil in broiler chicken are realized through alteration in steroid hormones. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2015; 21: 203-209.
 13. Dashti A, Azadbakht M, Vahedi L, Davoodi A. Effect of *Prunus mahaleb* L. seed extract on ethylene glycol- and ammonium chloride-induced urolithiasis in BALB/c mice. Iran J Med Sci 2020; 45(2): 134-139. PMID: 32210490.
 14. Parra AL, Yhebra RS, Sardiñas IG, Buela LI. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. Phytomedicine 2001; 8(5): 395-400.
 15. Carballo JL, Hernández-Inda ZL, Pérez P, García-Grávalos MD. A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. BMC Biotechnol 2002; 2(1): 17. PMID: 12270067.
 16. Basile AC, Sertié JAA, Panizza S, Oshiro T, Azzolini C. Pharmacological assay of *Casearia sylvestris*. I: Preventive anti-ulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. J Ethnopharmacol 1990; 30(2): 185-197.
 17. Arun M, Asha V. Gastroprotective effect of *Dodonaea viscosa* on various experimental ulcer models. J Ethnopharmacol 2008; 118(3): 460-5. PMID: 18603387.
 18. Panjeshahin MR, Azadbakht M, Akbari N. Antidiabetic activity of different extracts of *Myrtus communis* in streptozotocin induced diabetic rats. Rom J Diabetes Nutr Metab Dis 2016; 23(2): 183-190.
 19. AllahGhahi F, Shiravi A, Hojjati V. Histomorphometric study of the effect of alcoholic extract of grape seed (*Vitis Vinifera*) on the healing of diabetic wounds in male Wistar rats. Cell Tissue 2015; 7(3): 293-300.
 20. Aghili M. Makhzan-al-advia. Tehran: Tehran University of Medical Sciences 2009.
 21. Tanideh N, Rokhsari P, Mehrabani D, Samani SM, Sarvestani FS, Ashraf MJ, et al. The healing effect of licorice on *Pseudomonas aeruginosa* infected burn wounds in experimental rat model. World J Plast Surg 2014; 3(2): 99-106. PMID: 25489532.
 22. Nagar HK, Srivastava AK, Srivastava R, Kurmi ML, Chandel HS, Ranawat MS. Pharmacological investigation of the wound healing activity of *Cestrum nocturnum* (L.) ointment in Wistar albino rats. J Pharm 2016; 2016.
 23. Ersel M, Uyanikgil Y, Akarca FK, Ozcete E, Altunci YA, Karabey F, et al. Effects of silk sericin on incision wound healing in a dorsal skin flap wound healing rat model. Med Sci Monit 2016; 22: 1064. PMID: 27032876.
 24. Grillo HC. Derivation of fibroblasts in the healing wound. Arch Surg 1964; 88(2): 218-224. PMID: 14082810.
 25. Lodhi S, Jain A, Jain AP, Pawar RS, Singhai AK. Effects of flavonoids from *Martynia*

- annua and Tephrosia purpurea on cutaneous wound healing. Avicenna J Phytomed 2016; 6(5): 578. PMID: 27761428.
26. Nayak S, Nalabothu P, Sandiford S, Bhogadi V, Adogwa A. Evaluation of wound healing activity of Allamanda cathartica L. and Laurus nobilis L. extracts on rats. BMC Complement Altern Med 2006; 6(1): 12. PMID: 16597335.
 27. Bahrami A, Jamzad M, Sedaghat S. Phytochemicals and biological activities of Froriepia subpinnata (Ledeb.) Baill. extracts. J Med Plants By-prod 2021; 10(1): 109-115.
 28. Otaghsara SH, Garoosi G, Najafzadehvarzi H, Kazemi S. Effects of Froriepia subpinnata extract on serum biochemicals and histopathological changes of liver in rats treated with trichloroacetic acid. Iran Vet J 2020; 19(1): 72-82 (Persian).
 29. Rostamabadi H, Bahraseman MRS, Esmaeilzadeh-Salestani K. Froriepia subpinnata leaf extract-induced apoptosis in the MCF-7 breast cancer cell line by increasing intracellular oxidative stress. Iran J Pharm Res 2023; 22(1): e136643. PMID: 38444704.
 30. Hajhashemi V, Ghannadi A, Pezeshkian SK. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Satureja hortensis L. extracts and essential oil. J Ethnopharmacol 2002; 82(2-3): 83-87. PMID: 12241981.
 31. Sharifi A, Mohammadzadeh A, Zahraei Salehi T, Mahmoodi P. Antibacterial, antibiofilm and antiquorum sensing effects of Thymus daenensis and Satureja hortensis essential oils against Staphylococcus aureus isolates. J Appl Microbiol 2018; 124(2): 379-388. PMID: 29144601.