

## The effect of hydroalcoholic extract of Mentha Pulegium on anxiety in male rats

Fatemeh Veisi Hampa<sup>1</sup>, Mohammad Sofiabadi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Corresponding author; Department of Nutrition, school of health, Qazvin university of medical science, Qazvin, Iran

<sup>2</sup> cellular and mulocular center, Qazvin university of medical science, Qazvin, Iran

Tel: 09128811731

Fax: 028-33355162

E-mail: mohasofi@yahoo.com



**Citation** Veisi Hampa F, Sofiabadi M. [The effect of hydroalcoholic extract of Mentha Pulegium on anxiety in male rats]. J Birjand Univ Med Sci. 2019; 26(4): 292-9. [Persian]

**DOI** <http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2019.26.4.101>

Received: 30 May, 2019

Accepted: 28 July, 2019

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Anxiety is one of the most common mental disorders that decrease the quality of life and leads to chronic disorders. Studies have shown that the Mentha Pulegium extract can affect the central nervous system. Due to the side effects of most anxiolytic chemical drugs; this study was conducted to evaluate the effect of Mentha Pulegium hydroalcoholic extract leaves on anxiety in male rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 24 male rats were used. Animals were divided into 4 groups (N=6), including control group (untreated) and three experimental groups receiving doses of 400, 800, 1600 mg/kg (rat weight) of Mentha Pulegium hydroalcoholic extract. The extract was injected intraperitoneally half an hour before the test. Anxiety was assessed by using elevated plus maze. The duration and frequency of the presence of the rats in open and closed arms of maze were recorded. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey post hoc tests.

**Results:** The mean percentage of number of entrance open arms and their duration was significantly increased in rat receiving the extract compare than control ( $P < 0.05$ ), and the duration of presence in closed arm was reduced by the extract ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ).

**Conclusion:** According to these findings, Mentha Pulegium hydroalcoholic extract leaves reduces anxiety in rats by dose-dependent manner.

**Key Words:** Mentha Pulegium; Anxiety; Elevated Plus Maze; Male Rat

## بررسی اثر عصاره هیدروالکلی پونه بر اضطراب در موش‌های صحرایی نر

فاطمه ویسی همپا<sup>۱</sup>، محمد صوفی آبادی<sup>۲</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** اضطراب یکی از شایع‌ترین اختلالات روانی است که باعث کاهش کیفیت زندگی و اختلالات مزمن می‌گردد. مطالعات نشان داده است که عصاره پونه می‌تواند بر سیستم اعصاب مرکزی مؤثر باشد. با توجه به عوارض جانبی بیشتر داروهای شیمیایی ضد اضطرابی، این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ‌های پونه بر اضطراب در موش‌های صحرایی نر انجام گردید.

**روش تحقیق:** در این مطالعه تجربی، از ۲۴ سر موش صحرایی نر استفاده شد. حیوانات به ۴ گروه ۶تایی شامل: گروه کنترل (فاقد تیمار) و سه دسته تجربی دریافت‌کننده دوزهای ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (وزن موش) عصاره هیدروالکلی پونه تقسیم گردیدند. عصاره، نیم ساعت قبل از آزمون به صورت داخل صفاقی تزریق شد. برای سنجش اضطراب، از دستگاه ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع استفاده شد. مدت زمان و تعداد دفعات حضور موش‌ها در بازوهای باز و بسته ماز ثبت گردید. نتایج با استفاده از آزمون‌های آماری واریانس یک‌طرفه و تست پیگیری توکی، مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** میانگین درصد تعداد ورود به بازوی باز و مدت حضور در آنها در موش‌هایی که عصاره را دریافت داشتند نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌دار افزایش ( $P < 0/05$ ) و مدت حضور در بازوی بسته ماز کاهش ( $P < 0/05$ ،  $P < 0/01$ ) یافت. **نتیجه‌گیری:** بر طبق این یافته‌ها، با تجویز عصاره هیدروالکلی برگ پونه، اضطراب در موش‌های صحرایی به صورت وابسته به دوز کاهش می‌یابد.

**واژه‌های کلیدی:** پونه، اضطراب، ماز صلیبی مرتفع، موش صحرایی نر

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۸؛ ۲۶ (۴): ۲۹۲-۲۹۹.

دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۹ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۰۶

<sup>۱</sup> گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات سلولی-مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

آدرس: مرکز تحقیقات سلولی-مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

تلفن: ۰۹۱۲۸۸۱۱۷۳۱ | نمابر: ۰۲۸-۳۳۳۵۵۱۶۲ | پست الکترونیکی: mohasofi@yahoo.com

## مقدمه

اضطراب از شایع‌ترین اختلالات روانی است که همراه با یک احساس منتشر ناخوشایند می‌باشد. دلواپسی، با چندین اختلال جسمانی و کاهش خواب و بی‌قراری همراه است (۱)؛ به عبارت دیگر اضطراب، تشویش فراگیر ناخوشایندی است که اغلب همراه با تحریک سیستم عصبی خودکار و علائم جسمی و نشانه‌های بالینی مثل: سردرد، سرگیجه، تهوع، استفراغ، رنگ‌پریدگی و اختلال در تنفس بروز می‌کند (۲). اضطراب وقتی غیر طبیعی است که نامتناسب با عامل تهدیدکننده بوده و زمان آن طولانی‌تر باشد. اگرچه اضطراب به‌عنوان بخشی از زندگی طبیعی هر انسان، در حد اعتدال در هر فردی دیده می‌شود و به‌عنوان پاسخی سازش‌یافته تلقی می‌گردد، اما اگر به‌صورت مزمن ادامه یابد، می‌تواند سبب اختلال در زندگی روزمره افراد گردد و به‌عنوان بیماری محسوب شود (۳، ۴).

اگرچه مکانیسم‌های به‌وجود آورنده اضطراب هنوز به‌طور کامل مشخص نشده‌اند، ولی در سال‌های اخیر دخالت استرس اکسیداتیو در ایجاد اختلالات اضطرابی نشان داده شده است (۵). استرس اکسیداتیو، به‌عنوان یک عامل خطر در افزایش لیپیدها و پروتئین‌های اکسیدشده در دستگاه عصبی مرکزی و دیگر ارگان‌ها مطرح است و در نهایت موجب آسیب بافتی می‌گردد (۶). تولید رادیکال‌های آزاد در ارتباط با فرآیندهای طبیعی سلولی مانند: متابولیسم سلولی، تنفس میتوکندریایی، فعالیت لیپواکسیژنازی و سیکلواکسیژنازی است (۷). مقدار ملکول‌های اکسیژن واکنش‌گر تولیدی در هر نقطه از مغز، متفاوت بوده و با میزان مصرف اکسیژن هر ناحیه مربوط است؛ به همین دلیل، هیپوکامپ که مصرف اکسیژن بیشتری دارد، نسبت به مناطق دیگر مغز حساس‌تر است (۸). افراد مضطرب، ۳ تا ۵ بار بیشتر از افراد عادی به روانپزشکی مراجعه کرده و ۶ بار یا بیشتر در بیمارستان بستری می‌شوند؛ بنابراین اختلالات اضطرابی، موجب استفاده زیاد از مراقبت‌های پزشکی می‌گردد (۹). داروهای کنونی در دسترس

مثل بنزودیازپین‌ها و مهارکننده‌های بازجذب سروتونین، دارای عوارض خاص خود هستند؛ بنابراین نیاز به دستیابی به داروهای با اثربخشی بیشتر و عوارض کمتر کماکان وجود دارد (۱۰).

داروهای گیاهی معمولاً اسانس یا عصاره گیاهان موجود در طبیعت می‌باشند که فواید و عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی دارند و به همین علت امروزه تحقیق در مورد این داروها گسترش یافته است. بر اساس برآورد سازمان جهانی بهداشت، بیش از ۱۸۰٪ مردم کشورهای جهان سوم، از طب سنتی برای برآوردن نیازهای درمانی خود استفاده می‌کنند (۱۱، ۱۲). با توجه به گرایش جدیدی که به سمت گیاهان دارویی به‌وجود آمده است و با توجه به عصاره‌گیری این گیاهان، اطلاعات بومی و دانش سنتی می‌تواند نقش بسیار مهمی در پایه‌ریزی تحقیقات علمی برای کشت و اهلی‌سازی این گیاهان فراهم سازد (۱۳).

پونه (*Menthapulegium*) گیاهی از تیره نعناعیان، علفی پایا و دارای ساقه‌ای با ظاهر تقریباً استوانه‌ای به ارتفاع ۱۰-۵۵ سانتی‌متر است و گل‌های آن به‌صورت فراهم در کنار برگ‌ها و در طول محور ساقه ظاهر می‌شوند (۱۴). نتایج مطالعات اخیر نشان داده است که پونه دارای اثرات ضد درد، ضد چسبندگی پلاکت‌ها، بی‌حس‌کننده، ضد باکتری، ضد سرطان، ضد التهاب، ضد موتازن، آنتی‌اکسیدان، ضد روماتیسم، ضد اسپاسم، ضد ویروس، قابض، ضد کاندیدا، ضد نفخ، مسکن، مقوی معده، شل‌کننده عضلات و مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز می‌باشد (۱۵). این گیاه همچنین حاوی فلاونوئید بوده که بر اساس مطالعات صورت‌گرفته، فلاونوئیدهای گیاهی می‌توانند با گیرنده‌های بنزودیازپینی تعامل داشته و سبب آزاد سازی<sup>۱</sup> رسپتورهای گابا A غشاهای عصبی شده و از این طریق اثرات تسکینی و ضد اضطرابی خود را اعمال کنند (۱۶).

با توجه به بومی بودن گیاه پونه در ایران و دسترسی

<sup>1</sup> Hyperpolarize

**روش تهیه عصاره:**

برگ‌های پونه جمع‌آوری شده، در دمای اتاق و در سایه خشک گردید. مقدار ۱۰۰ گرم برگ خشک شده که به وسیله آسیاب برقی پودر شده بود، به آرامی با یک لیتر الکل ۷۰ درجه سانتی‌گراد، کاملاً مخلوط شده و در شیشه دربسته تیره رنگی، به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. در این مدت، مخلوط پودر و الکل، در فواصل زمانی معین تکان داده می‌شد. سپس مخلوط از کاغذ صافی واتمن ۲۰ گذرانده شد و محلول به دست آمده حاوی عصاره هیدروالکلی پونه، به مدت ۱۰ روز در دمای اتاق نگهداری شد تا خشک شود. عصاره خشک شده، در یک شیشه دربسته تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. برای تهیه محلول قابل تزریق، مقدار مورد نیاز از عصاره خشک شده، در نرمال سالین حل گردید. تمام تزریقات، در حجم ۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان و به صورت داخل صفاقی انجام شد. یک ساعت بعد از تزریق عصاره‌ها، موش‌ها در ماز صلیبی قرار گرفتند (۱۷).

**روش ارزیابی میزان اضطراب:**

یک ساعت بعد از تزریق عصاره، برای ارزیابی میزان اضطراب، از دستگاهی به نام ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع که مدل استاندارد برای ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه شامل دو بازوی باز (هر کدام به ابعاد ۵×۵ سانتی‌متر) و بازوی بسته (هر کدام به ابعاد ۴۰×۵۰×۵ سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی (به ابعاد ۵×۵ سانتی‌متر) است؛ به طوری که بازوهای باز روبه‌روی هم و بازوهای بسته روبه‌روی هم قرار دارند و در حدود ۵۰ سانتی‌متر بالاتر از کف اتاق قرار می‌گیرند. این مدل سنجش اضطراب، غیر شرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد. بعد از تزریق عصاره مورد نظر در روز آزمون به حیوانات، هر موش به‌طور جداگانه، ۵ دقیقه قبل از آزمایش به اتاق کار منتقل شد و در جعبه مشکی از جنس پلکسی‌گلاس به ابعاد ۴۰×۴۰×۳۰ سانتی‌متر قرار گرفت تا فعالیت جستجوگرانه (Exploractive activity) حیوان افزایش یابد؛ سپس برای

آسان و ارزان و مصرف غذایی و دارویی این گیاه از زمان‌های دور در کشور، این مطالعه می‌تواند مقدمه‌ای برای استفاده عملی از عصاره این گیاه در صنایع غذایی و دارویی باشد تا به این طریق هم امکان استفاده از یک منبع مقرون به صرفه فراهم باشد و هم گامی برای اعتدال بهداشت و ایمنی جامعه برداشته شود؛ به همین منظور در مطالعه حاضر، اثر عصاره هیدروالکلی برگ‌های پونه بر اضطراب در موش‌های صحرایی نر بررسی گردید.

**روش تحقیق**

این مطالعه تجربی، در سال ۱۳۹۶ در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام گرفت. روش کار این مطالعه بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی و تصویب کمیته اخلاق دانشگاه بود.

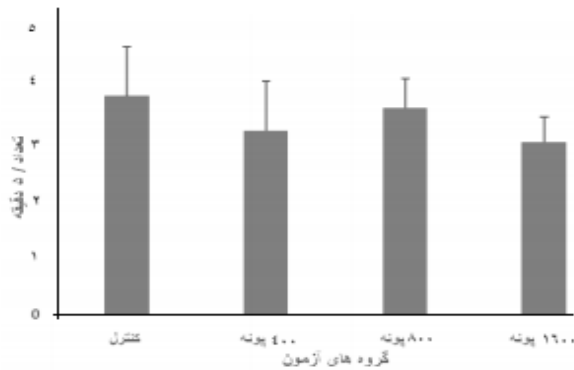
رت‌های بالغ نر نژاد ویستار، از انستیتو پاستور کرج در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم خریداری شدند و در اتاق حیوانات در شرایط دوره ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد نگهداری شدند. در طول مدت دوره مطالعه، حیوانات به صورت نامحدود از غذای تهیه شده از کارخانه خوراک دام پارس تهران و آب آشامیدنی شهری استفاده کردند.

پس از اخذ مجوز از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی قزوین (IR.QUMS.REC.1396.287)، موش‌ها به‌طور تصادفی به ۴ گروه عتایی شامل: گروه کنترل (نرمال سالین) و سه دسته‌ی تجربی دریافت‌کننده دوزهای ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (وزن موش) عصاره هیدروالکلی پونه تقسیم گردیدند. در طول دوره آزمایش و قبل از آن، با تنظیم دمای محیط و طول دوره‌های تاریک و روشن، تأمین آب و غذای کافی، سکوت محیط آزمایشگاه و با دست‌گیری و نوازش حیوانات، سعی گردید که تا حد امکان استرسی بر حیوانات وارد نشود.

**مقایسه تعداد ورود به بازوی بسته در گروه‌های مورد**

**مطالعه:**

تعداد ورود به بازوی بسته، نشانگر فعالیت حرکتی حیوانات است که در همه گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت؛ این بدین معنی است که میزان فعالیت حرکتی حیوانات گروه‌ها تقریباً یکسان بود (نمودار ۲).

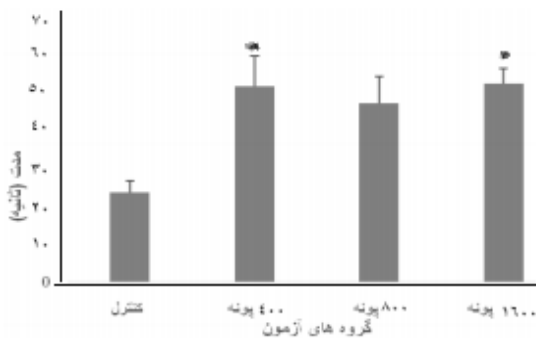


نمودار ۲- مقایسه میانگین تعداد ورود به بازوی بسته در گروه‌های مورد مطالعه.

**مقایسه مدت حضور در بازوی باز در گروه‌های مورد**

**مطالعه:**

یافته‌ها، افزایش معنی‌دار زمان گذرانده‌شده در بازوی باز را بین گروه‌های درمان نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $P < 0.05$ )؛ افزایش معنی‌دار این زمان مؤید تأثیر عصاره بر کاهش اضطراب است (نمودار ۳).



نمودار ۳- مقایسه میانگین مدت حضور در بازوی باز در گروه‌های مورد مطالعه. همان طوری که در نمودار نشان داده شده است، عصاره باعث افزایش معنی‌دار میانگین زمان حضور در بازوی باز نسبت به گروه کنترل شد.  $P < 0.05$ ، نسبت به گروه کنترل.

سنجش سطح اضطراب، حیوان در ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع (در قسمت کفه رو به بازوی باز) قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه فعالیت‌های جستجوگرانه، تعداد ورود به بازوهای باز و مدت زمان ماندن در بازوهای باز، ارزیابی و ثبت گردید. افزایش ورود به بازوهای باز و مدت زمان سپری‌شده در آن، شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی می‌شود (۱۸).

**روشی تجزیه و تحلیل داده‌ها:**

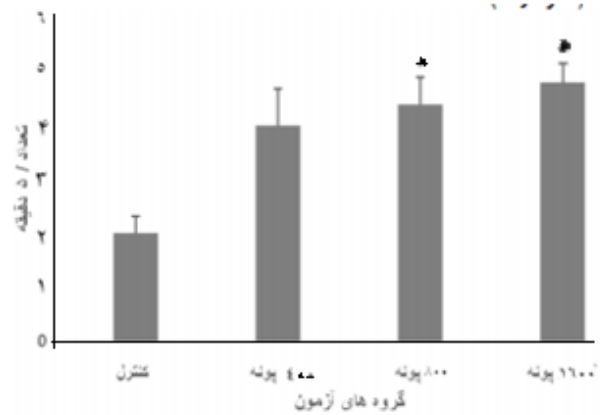
داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۹) و با کمک آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و توکی، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و  $P \leq 0.05$  به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها**

**مقایسه تعداد ورود به بازوی باز در گروه‌های مورد**

**مطالعه:**

نتایج به‌دست آمده نشان داد که تعداد ورود به بازوی باز در موش‌های تحت تیمار نسبت به گروه کنترل به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت؛ این بدین معنی است که عصاره می‌تواند میزان اضطراب را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه میانگین تعداد ورود به بازوی باز در گروه‌های مورد مطالعه. عصاره باعث افزایش معنی‌دار تعداد ورود به بازوی باز در حیوانات شد.  $P < 0.05$ ، نسبت به گروه کنترل.

پروستاگلاندین‌ها می‌باشد و پروستاگلاندین‌ها می‌توانند هم اثر تسهیل‌کننده و هم اثر مهارى بر نورون‌ها داشته باشند؛ برای مثال در یک مطالعه مشخص شد سلکوکسیب به‌عنوان مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز از طریق نورون‌های گاباژژیک عمل کرده و با افزایش رهايش گابا، موجب کاهش تحریک‌پذیری مغز و بروز اثر ضد تشنجی خود می‌شود (۱۹)، (۱۵).

با توجه به این که پونه حاوی فلاونوئیدهای متعدد بوده و فلاونوئیدها نیز با گیرنده‌های بنزودیپینی برهم کنش دارند؛ بنابراین این ترکیبات با تعامل با سیستم گابا نوع A، سبب آزاد سازی نورون‌های بخش تحریکی مغز شده و از این طریق اثرات ضد اضطرابی خود را بروز می‌دهند. گابا میانجی عصبی مهارى عمده در قشر مغز است (۱۷). همچنین مشخص شده است که منتول به‌عنوان ماده اصلی عصاره گیاه پونه، به‌طور مستقیم تحریک‌کننده نورون‌های گاباژژیک هیپوکامپ است و باعث افزایش اثر مهارى نوروترانسمیتر گابا بر نورون‌ها و سلول‌های مغزی می‌شود (۲۰).

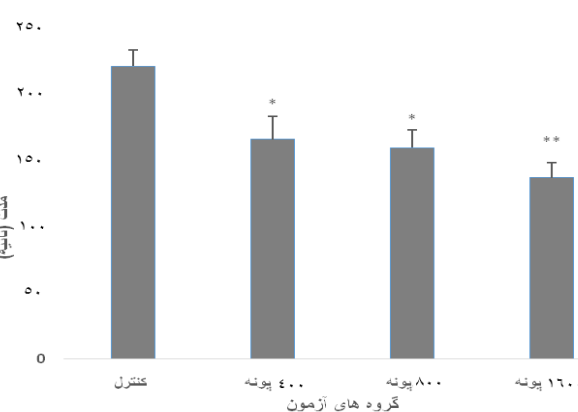
گیاه پونه با مصارف گسترده، دارای جایگاه مهمی در طب سنتی و نیز در صنایع غذایی است. این گیاه علفی آروماتیک، به‌دلیل داشتن اسانس فراوان و بوی بسیار مطبوع، به‌صورت گسترده کشت می‌شود. تاکنون اثرات مفید آن بر سیستم عصبی مانند: تسکین درد، کاهش تهوع و استفراغ، و افسردگی و تشنج گزارش شده است (۲۱). این گیاه دارای ترکیبات اصلی شامل ۹۰ درصد پوله ژون، تانن، آزلون، منتول، لیمونن، هسپریدین و دیوسمین است (۲۲).

امروزه استفاده از روغن‌های ضروری و اجزای آنها برای مدیریت بیماری‌های مختلف، فراگیر شده و این روغن حاوی تعدادی از عناصر و اجزای مهم و از جمله پونه است. برای این ترکیب پتانسیل حفاظت عصبی، ضد پیری، ضد اضطرابی و افسردگی و تشنجی گزارش شده است و در یافته‌های مورد آزمایش، بر اثرات ضد استرس اکسیداتیو و اختلالات گلوتاماترژیک تأکید شده است (۲۳).

## مقایسه مدت حضور در بازوی بسته در گروه‌های مورد

### مطالعه:

تجویز عصاره در هر سه دوز، موجب کاهش معنی‌دار زمان گذرانده‌شده در بازوی بسته در گروه‌های تیمار شد که حد معنی‌داری در گروه‌های دریافت‌کننده پونه با دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم  $P < 0.05$  و در گروه دریافت‌کننده پونه با دوز ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم  $P < 0.01$  بود. بنابراین کاهش معنی‌دار مدت حضور در بازوی بسته در گروه‌های درمان نسبت به گروه کنترل، مؤید تأثیر عصاره در جهت کاهش اضطراب است (نمودار ۴).



نمودار ۴- مقایسه مدت حضور در بازوی بسته در گروه‌های مورد مطالعه.  $P < 0.05$ \*,  $P < 0.01$ \*\* نسبت به گروه کنترل.

## بحث

در این مطالعه، اثر ۳ دوز عصاره پونه بر اضطراب در مدل ماز صلیبی، مقایسه و بررسی شد. نتایج این بررسی‌ها نشان داد که تعداد ورود و زمان ماندن در بازوهای باز در موش‌های مصرف‌کننده عصاره نسبت به گروه کنترل خود افزایش یافت که این کاهش، ارزش آماری هم داشت؛ این بدین معنی است که عصاره می‌تواند میزان اضطراب را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد. همان‌طور که بیان شد، عصاره پونه حاوی ترکیباتی است که دارای اثر مهارکنندگی بر آنزیم سیکلواکسیژناز می‌باشند. آنزیم سیکلواکسیژناز، آنزیمی کلیدی در تبدیل اسید آراشیدونیک مشتق از غشا به

## نتیجه گیری

## تقدیر و تشکر

نویسندگان، از معاونت پژوهشی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی قزوین و همه کسانی که در اجرای این مطالعه ما را همراهی کردند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز عصاره هیدروالکلی برگ پونه، میزان اضطراب را در موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد که این اثر با افزایش میزان عصاره تقویت می‌شود و با توجه به شباهت‌های ژنتیکی پستانداران، ممکن است این اثر را در انسان هم ایجاد کند؛ بنابراین با توجه به بومی بودن این گیاه، استفاده از آن برای کاهش اضطراب و ایجاد آرام‌بخشی بیشتر توصیه می‌شود.

## تضاد منافع:

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

## منابع:

- 1- Vachon CA, Warner DO, Bacon DR. Succinylcholine and the Open Globe. *Tracing the Teaching. Anesthesiology.* 2003; 99(1): 220-3. DOI: 10.1097/00000542-200307000-00033
- 2- Price M, Anderson PL. The impact of cognitive behavioral therapy on post event processing among those with social anxiety disorder. *Behav Res Ther.* 2011; 49(2): 132-7. doi: 10.1016/j.brat.2010.11.006
- 3- Blouin B, Maddeux C, Stanley Firestone J, van Stralen J. Predicting response of ADHD symptoms to methylphenidate treatment based on comorbid anxiety. *J Atten Disord.* 2010; 13(4): 414-9. doi: 10.1177/1087054708326269.
- 4- Mahboubi M, Haghi G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Menthapulegium L.* essential oil. *J Ethnopharmacol.* 2008; 119(2): 325-7. doi: 10.1016/j.jep.2008.07.023.
- 5- Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways. *Oxid Med Cell Longev.* 2009; 2(2): 63-7.
- 6- Nasri H, Shirzad H, Baradaran A, Rafieian-kopaei M. Antioxidant plants and diabetes mellitus. *J Res Med Sci.* 2015; 20(5): 491-502.
- 7- Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants and antioxidants: why they are not always beneficial? *Iran J Public Health.* 2014; 43(2): 255-7.
- 8- Al Rouq F, El Eter E. PPAR- $\gamma$  activator induces neuroprotection in hypercholesterolemic rats subjected to global cerebral ischemia/reperfusion injury: In vivo and in vitro inhibition of oxidative stress. *Exp Gerontol.* 2014; 51: 1-7. doi: 10.1016/j.exger.2013.12.008.
- 9- Ford JD, Trestman RL, Steinberg K, Tennen H, Allen S. Prospective association of anxiety, depressive, and addictive disorders with high utilization of primary, specialty and emergency medical care. *Soc Sci Med.* 2004; 58(11): 2145-8. DOI: 10.1016/j.socscimed.2003.08.017
- 10- Malairajan P, Gopalakrishnan G, Narasimhan S, Jessi Kala Veni K. Analgesic activity of some Indian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2006; 106(3): 425-8. DOI: 10.1016/j.jep.2006.03.015
- 11- Rao MR, Rao BRR. Medicinal plants in tropical homegardens. In: Kumar BM, Nair PKR. (eds) *Tropical Homegardens. Advances in Agroforestry.* Dordrecht: Springer; 2006. Vol 3. pp: 205-32. doi: 10.1007/978-1-4020-4948-4\_12
- 12- Lorenzo D, Paz D, Dellacassa E, Davies P, Vila R, Cañigueral S. Essential oils of *Menthapulegium* and *Mentharotundifolia* from Uruguay. *Braz Arch Biol Technol.* 2002; 45(4): 519-24. doi: 10.1590/S1516-89132002000600016.
- 13- Chauhan RS. Socioeconomic improvement through medicinal and aromatic plants (MAPs) cultivation in Uttarakhand, India. *J Sustain Agric.* 2010; 34(6): 647-58. DOI: 10.1080/10440046.2010.493390

- 14- Mokhtari M, Shariati M, Khodaparast L. The antinociceptive effect of hydro-alcoholic extract of leave *Menthapulegium* in formalin test in male rat. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2009; 10(4): 7-12. [Persian]
- 15- Shah AJ, Bhulani NN, Khan SH, Ur Rehman N, Gilani AH. Calcium channel blocking activity of *Menthalongifolia* L. explains its medicinal use in diarrhoea and gut spasm. *Phytother Res*. 2010; 24(9): 1392-7. doi: 10.1002/ptr.3263.
- 16- Eidi M, Kavgani AI, Shahabzadeh S, Sasaninezhad Z, Ghahramani R, Nomani MH. Effect of *Lippia Citriodora* on Anxiety Behaviour in Adult Male Rats. *Med J Tabriz Univ Med Sci*. 2014; 36(5): 68-73. [Persian]
- 17- Amabeoku GJ, Erasmus SJ, Ojewole JA, Mukinda JT. Antipyretic and antinociceptive properties of *Menthalongifolia* Huds. (Lamiaceae) leaf aqueous extract in rats and mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2009; 31(10): 645-9. doi: 10.1358/mf.2009.31.10.1441861.
- 18- Rabiei Z, Rafieian M. Effects of *Zizyphusjuzuba* extract on motor coordination impairment induced by bilateral electric lesions of the nucleus basalis of meynert in rat. *Physiol Pharmacol*. 2014; 17(4): 469-77. [Persian]
- 19- Zhang XB, Jiang P, Gong N, Hu XL, Fei D, Xiong ZQ, et al. A-type GABA receptor as a central target of TRPM8 agonist menthol. *PLoS One*. 2008; 3(10): e3386. doi: 10.1371/journal.pone.0003386.
- 20- Mesdaghinia A, Khazae P, Heydari A. The effect of cyclooxygenase-2 inhibition on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice. *Feyz, J Kashan Univ Med Sci*. 2018; 22(3): 258-66. [Persian]
- 21- Kamkar A, Javan AJ, Asadi F, Kamalinejad M. The antioxidative effect of Iranian *Menthapulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food Chem Toxicol*. 2010; 48(7): 1796-800. doi: 10.1016/j.fct.2010.04.003.
- 22- Aires A, Marrinhas E, Carvalho R, Dias C, Saavedra MJ. Phytochemical composition and antibacterial activity of hydroalcoholic extracts of *Pterospartumtridentatum* and *Menthapulegium* against *Staphylococcus aureus* isolates. *Biomed Res Int*. 2016; 2016: ID 5201879. doi: 10.1155/2016/5201879
- 23- Ayaz M, Sadiq A, Junaid M, Ullah F, Subhan F, Ahmed J. Neuroprotective and anti-aging potentials of essential oils from aromatic and medicinal plants. *Front Aging Neurosci*. 2017; 9: 168. doi: 10.3389/fnagi.2017.00168