

## اثر عصاره چای سیاه ایران و رنگدانه‌های تئاروبیجین استخراج شده از آن روی زمان عبوری روده باریک موش سوری

کیانوش جعفری<sup>۱</sup>، دکتر شهریار غریب‌زاده<sup>۲</sup>، دکتر مهدیه فقیهی<sup>۳\*</sup>، دکتر سیدمرتضی کریمیان<sup>۴</sup>، مجید حمزه‌لو<sup>۵</sup>، دکتر منصور کشاورز<sup>۶</sup>

### خلاصه

مقدمه: در این مطالعه اثر عصاره چای سیاه تولید شده از وارپته کشت شده در ایران (*Camellia sinensis var sinensis*) و رنگدانه‌های پلی‌فنلیک استخراج شده از آن (تئاروبیجین‌ها) روی زمان عبوری روده باریک موش سوری مورد بررسی قرار گرفت. روش: تئاروبیجین‌ها به روش مایع-مایع از عصاره چای سیاه استخراج شد. برای اندازه‌گیری زمان عبوری در روده باریک موش از نشانگر (سوسپانسیون ذغال) استفاده شد. یافته‌ها: عصاره چای سیاه به صورت وابسته به غلظت باعث افزایش حرکات و کاهش زمان عبوری روده باریک موش سوری شد ( $P < 0/01$ ). نتایج حاصل از اثر تئاروبیجین‌ها نیز نشان‌دهنده افزایش حرکات به صورت وابسته به دوز و کاهش زمان عبوری روده باریک موش سوری توسط این رنگدانه‌ها بود ( $P < 0/01$ ). نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد عصاره چای سیاه و رنگدانه‌های آن می‌توانند در درمان برخی اختلالات حرکتی روده چون یبوست مؤثر باشند. واژه‌های کلیدی: عصاره چای سیاه ایران، تئاروبیجین‌ها، زمان عبوری روده باریک، موش سوری

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۲- استادیار گروه بیوالکترونیک، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر ۳- دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۴- استاد گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۵- مربی گروه شیمی - فیزیک، دانشکده شیمی، دانشگاه تهران ۶- دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران

\* نویسنده مسؤول: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، • آدرس پست الکترونیک: faghihi2002@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۴/۲/۲۶ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۴/۱۱/۲۵ پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۱۱/۲۵



## مقدمه

چای ایران تولید می‌شود استفاده شد. به ترتیب ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۹ گرم از چای سیاه درون ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر جوشان ریخته شد و پس از ۵ دقیقه محلول به دست آمده صاف شده و به ترتیب برابر با محلول ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۹٪ چای سیاه در نظر گرفته شدند (۳). غلظت‌های فوق از عصاره چای سیاه در دمای C ۳۷° به وسیله سرنگ گاوآژ به صورت *in vivo* به درون معده موش وارد گردید.

استخراج رنگدانه‌های تئاروبیجین از چای سیاه: رنگدانه‌ها و ترکیبات چای سیاه در این تحقیق به روش استخراج مایع-مایع جدا شد (۵). ابتدا ۱۰ گرم چای سیاه درون ۳۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه جوشان ریخته شد و ۱۰ دقیقه بعد محلول حاصل صاف شده و سپس ۱۲۰ میلی لیتر از محلول با ۶۰ میلی لیتر کلروفرم درون دکانتور ریخته شد و پس از ۱۵ دقیقه تکان دادن روی شیکر دکانتور به حالت سکون گذاشته شد تا دو فاز تشکیل شود. فاز کلروفرمی که حاوی کافئین و ترکیبات متیل‌گزانتین است جدا شد. سپس همین عمل دو بار دیگر با استفاده از کلروفرم تکرار شد. سپس لایه آبی حاصل درون دکانتور ریخته شد و به آن ۴۰ میلی لیتر اتیل استات اضافه شد و پس از ۱۵ دقیقه تکان دادن روی شیکر ۱۰ دقیقه دکانتور به حالت سکون گذاشته شد تا دو فاز تشکیل شود. فاز آلی که حاوی تئافلایوین‌ها است جدا شد. این کار دو بار دیگر تکرار شد تا تئافلایوین‌ها از فاز آبی جدا شدند. سپس فاز آبی درون دکانتور ریخته شد و به آن ۴۰ میلی لیتر بوتانول اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه تکان دادن روی شیکر ۱۰ دقیقه به حالت سکون گذاشته شد. این عمل نیز دو بار تکرار شد تا تئاروبیجین‌ها درون فاز آلی جدا شدند. در تمام مراحل حلال‌ها به وسیله دستگاه تبخیر در فشار کم، کیف بوخنر و فریز درایر از مواد جدا شدند.

ساختمان و خواص شیمیایی تئاروبیجین‌های استخراج شده به وسیله روش‌های طیف‌سنجی مرئی-فرا بنفش (UV-Visible spectrophotometry) و نزول نقطه انجماد جهت تعیین جرم مولکولی مورد بررسی قرار گرفت که با گزارش‌های قبلی راجع به رنگدانه‌ها در متون مطابقت داشت (۹، ۱۴).

حیوانات آزمایشگاهی: از موش سوری (Balb/c) جنس نر در محدوده وزنی ۲۰ تا ۳۰ گرم استفاده شد. حیوانات در گروه‌های ۸ تایی در حیوان‌خانه گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران نگهداری می‌شدند و ۱۸ ساعت پیش از شروع آزمایش به حالت ناشتا (بدون دسترسی به آب و غذا) قرار داشتند.

چای پس از آب پرمصرف‌ترین نوشیدنی در جهان است (۶). گیاه چای با نام علمی *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze (Theaceae) دارای سه واریته (فرم) *Assamica* و *Lasiocalyx Sinensis* است (۲) که واریته *Sinensis* در ایران کشت می‌شود (۱). بر اساس روش تولید سه نوع چای سیاه (Black tea)، چای اولنگ (Oolong tea) و چای سبز (Green tea) وجود دارد (۱۴). تفاوت این سه نوع چای در میزان اکسایش ترکیبات پلی‌فنلیک آنهاست که در چای سیاه از همه بیشتر و در چای سبز از همه کمتر انجام می‌شود. از کل چای مصرفی در جهان ۷۰٪ به شکل چای سیاه، ۲۸٪ به شکل چای سبز و ۲٪ به شکل چای اولنگ است (۸). در چای سیاه ترکیبات پلی‌فنلیک دستخوش اکسایش آزریمی شده و به رنگدانه‌هایی موسوم به تئاروبیجین [Thearubigins (TRs)] و تئافلایوین [Theaflavins (TFs)] تبدیل می‌شوند. در مورد خواص چای سبز تاکنون تحقیقات زیادی به عمل آمده که نشان‌دهنده اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی آن است (۱۵). در مورد چای سیاه نیز تحقیقات به عمل آمده نشان‌دهنده اثرات مفید آن همچون اثرات آنتی‌اکسیدانی رنگدانه‌های تئافلایوین و تئاروبیجین آن بوده (۱۰) و همچنین عصاره چای سیاه اثرات مفیدی در درمان دیابت (۷)، سرطان کولون و رکتوم از خود نشان داده است (۴). در مورد اثرات چای بر سیستم گوارش در سالیان اخیر چند تحقیق انجام شده که حاکی از اثرات مفید چای سیاه در درمان زخم معده (۱۲) و تأثیر رنگدانه‌های تئاروبیجین در درمان ناراحتی‌های گوارشی همچون بیماری التهابی روده (inflammatory bowel disease) است (۱۱). تحقیقات دیگر انجام شده در مورد اثرات عصاره چای سیاه (واریته *Assamica*) روی حرکات روده و معده نشان داده است که این عصاره می‌تواند سبب افزایش یا کاهش حرکات روده و معده شود و از این رو می‌توان از آن در درمان اختلالات حرکتی گوارشی همچون اسهال و یبوست استفاده کرد (۳، ۴). از آنجایی که واریته کشت شده در ایران از نوع *Sinensis* است و این واریته دارای میزان کمتری ترکیبات پلی‌فنلیک و رنگدانه است (۱۶) در این مطالعه به بررسی اثر عصاره این واریته از چای و همچنین اثر تئاروبیجین‌ها که رنگدانه اصلی چای سیاه است روی حرکات روده کوچک موش سوری پرداخته شد.

## روش بررسی

تهیه عصاره چای سیاه: برای تهیه عصاره چای از چای کلون ۱۰۰ از واریته *Camellia sinensis sinensis* که در مرکز تحقیقات

زمان عبوری روده (درصد)

گروه ۹٪

نمودار ۱: اثرات مقادیر مختلف عصاره چای سیاه بر زمان عبوری روده

کوچک موش سوری

(Mean±SE) P<۰/۰۱ اختلاف معنی دار با گروه کنترل

مشاهده می شود که غلظت های ۳gr/۱۰۰ml و ۴/۵gr/۱۰۰ml عصاره چای سیاه افزایش معنی داری (P<۰/۰۱) در حرکات روده کوچک نسبت به گروه کنترل ایجاد کرده اند اما غلظت ۹gr/۱۰۰ml تغییر معنی داری در حرکات روده کوچک ایجاد نکرده است. در مورد گروه های دریافت کننده تارویجین ها (TRs) با دوز ۳۰، ۴۰، ۴۵ و ۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان درصد GIT به ترتیب ۶۰/۱۵، ۷۱/۷۴ و ۶۱٪ ثبت شد. حرکات روده کوچک با دوزهای ۴۰ و ۴۵ میلی گرم (TRs) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان افزایش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۱) اما در دوز ۶۰ میلی گرم تغییر معنی داری در حرکات روده کوچک مشاهده نشد (نمودار ۲).

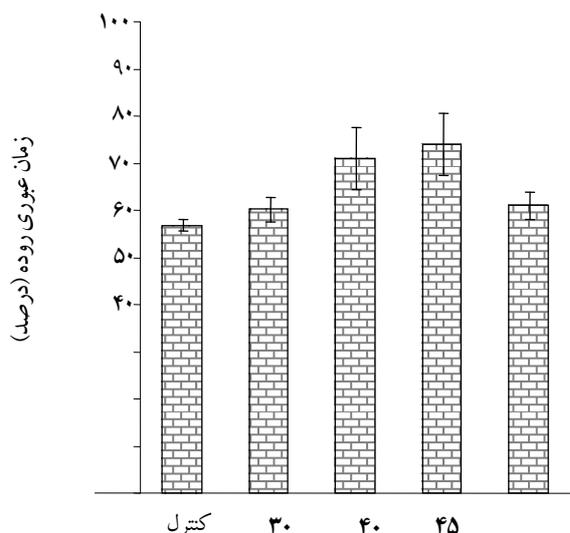
اندازه گیری زمان عبوری (Transit time): برای اندازه گیری زمان عبوری از نشانگر (سوسپانسیون چارکول) به روش charcoal propulsion test (۴،۱۳) استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون چارکول ۱۲ گرم چارکول با ۲ گرم صمغ عربی مخلوط شد و در ۱۳۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته شد. برای گروه کنترل نرمال سالیین (۱/۵ml/۱۰۰gr) توسط سرنگ گاواژ درون معده حیوان وارد شد. پس از ۳۰ دقیقه نشانگر چارکول (۱/۵ml/۱۰۰gr) به معده حیوان وارد شد و پس از ۳۰ دقیقه حیوان کشته شد و پس از باز کردن شکم حیوان، روده کوچک از محل پیلور تا سکوم بریده و میزان مسافت طی شده مارکر به کل طول روده کوچک بر حسب درصد به عنوان GIT% (Gastrointestinal Transit%) یا زمان عبوری ثبت شد.

در گروه هایی که با چای سیاه و تارویجین های استخراج شده کار شد، ابتدا غلظت های ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۹ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر از عصاره چای سیاه تهیه و به میزان ۱/۵ml/۱۰۰gr در دمای C ۳۷ درون معده موش ها وارد شد. برای تارویجین محلول های ۳۰، ۴۰، ۴۵، ۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش تهیه و به میزان ۱/۵ml/۱۰۰gr درون معده حیوان ناشتا وارد شد. پس از ۳۰ دقیقه نشانگر چارکول ۱/۵ml/۱۰۰gr وارد معده موش شد و بعد از ۳۰ دقیقه حیوان کشته و روده کوچک آن جدا شد و میزان مسافت طی شده نشانگر به کل طول روده کوچک به عنوان GIT% ثبت شد.

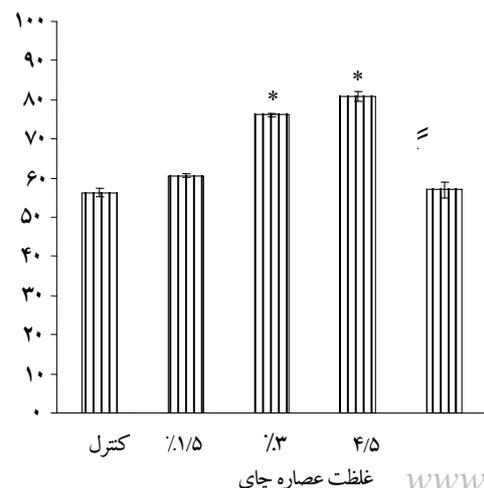
بررسی آماری: برای آنالیز آماری داده ها از نرم افزار SPSS و آزمون آماری ANOVA و تست تکمیلی tukey استفاده شد و نتایج به صورت Mean±SE گزارش و (P<۰/۰۱) به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

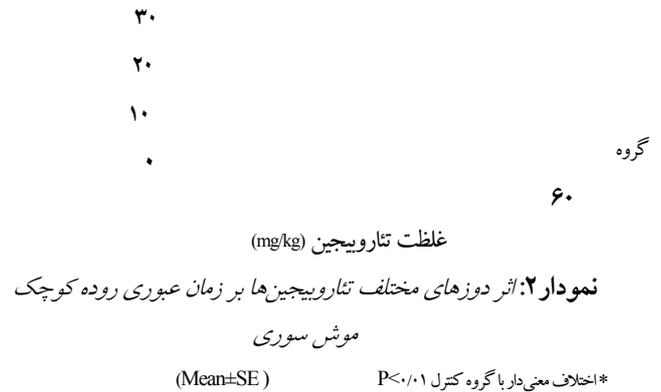
در گروه کنترل درصد GIT ۵۶/۲٪ ثبت شد و در گروه های آزمایش شده با عصاره چای سیاه غلظت های ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۹ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر به ترتیب درصد GIT ۶۰/۶٪، ۷۶/۲٪، ۸۱/۰٪، ۸۷/۳٪ و ۸۱/۰٪ (۱، ۲، ۳، ۴، ۵)



۳۹



(۴) روی حرکات لوله گوارش که نشان‌دهنده نقش نوروترانسمیترهای مهاری همانند NO و نیز پروستاگلاندین‌ها و سیستم کولینرژیک در افزایش حرکات روده باریک است، و با توجه به وجود ترکیبات مشابه (متیل‌گزانثین‌ها و رنگدانه‌های پلی‌فنلیک) در هر دو نوع واریته می‌توان وجود مسیرهای مشابه در افزایش حرکات ناشی از عصاره چای ایران و تئاروبیجین‌ها را محتمل دانست. البته با توجه به کمتر بودن میزان رنگدانه‌های واریته *Sinensis* در مقایسه با واریته *Assamica* افزایش حرکات در غلظت‌های بالاتر (۴/۵ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) برای واریته *Sinensis* در مقایسه با ۳ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر برای واریته (*Assamica*) که در چای سیاه ایران دیده می‌شود قابل توجه است (نمودار ۱). بر اساس نتایج به دست آمده ملاحظه می‌گردد که با افزایش غلظت به ۹ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر (۹٪) افزایش در حرکات دیده نمی‌شود. همچنین در مورد تئاروبیجین‌ها در دوز ۶۰ میلی‌گرم اثر افزایشی حرکات مشاهده نمی‌گردد. در حالات افزایش پاتولوژیک حرکات روده‌ای همانند اسهال مشاهده شده که عصاره چای سیاه از طریق سیستم اویپوئید سبب کاهش حرکات شده است (۳). از این رو می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عصاره چای بسته به نوع درگیری در سیستم‌های فیزیولوژیک می‌تواند سبب افزایش یا کاهش حرکات لوله گوارش شود که البته در غلظت‌های متعارف مصرفی انسان در هر دو واریته *Sinensis* و *Assamica* افزایش حرکات دیده می‌شود. از این رو بر اساس تحقیق انجام شده شاید بتوان نتیجه گرفت که عصاره چای ایران را می‌توان در ناراحتی‌های گوارشی همچون یبوست توصیه نمود.



### بحث

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان این چنین گفت که عصاره چای سیاه ایران تولید شده از واریته *Camellia sinensis var sinensis* باعث افزایش حرکات روده باریک موش سوری به صورت وابسته به غلظت می‌شود. از آنجا که نتایج به دست آمده از گروه‌های دریافت‌کننده تئاروبیجین‌ها نیز نشان‌دهنده افزایش حرکات روده باریک توسط این رنگدانه‌ها به صورت وابسته به دوز است، این نتایج در مجموع نشان‌دهنده نقش رنگدانه‌های تئاروبیجین موجود در عصاره چای سیاه می‌باشد. با در نظر گرفتن غلظت‌های متعارف مصرف چای (۳ و ۴/۵ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) می‌توان عصاره چای ایران را به عنوان یک عامل پروکایتیک (افزایش‌دهنده و تنظیم‌کننده حرکات لوله گوارش) بر شمرده. با توجه به نتایج به دست آمده و پژوهش انجام شده توسط Chaudhuri در مورد اثرات پروکایتیک *Camellia sinensis var Assamica* کشت شده در مناطق گرمسیری

**Summary****Effect of Iranian Black Tea Extract and Its Isolated Thearubigins on Intestinal Transit Time in Mice**

Jafari K, M.Sc.,<sup>1</sup> Gharibzadeh Sh, M.D., Ph.D.,<sup>2</sup> Faghihi M, Ph.D.,<sup>3</sup> Karimian SM, Ph.D.,<sup>4</sup> Hamzehloo M, M.Sc.<sup>5</sup> and Keshavarz M, Ph.D.<sup>6</sup>

1. Master of Science in Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran 2. Assistant Professor, Department of Bioelectrics, School of Medical Engineering, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran 3. Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran Iran 4. Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University Of Medical Sciences, Tehran, Iran 5. Lecturer, Department of Physical Chemistry, School of Science, Tehran University, Tehran, Iran 6. Associate Professor of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Introduction:** In this study, the effects of black tea extract of Iranian tea plant (*Camellia sinensis* var *sinensis*) and its polyphenolic pigment thearubigins were investigated on mice intestinal transit time.

**Method:** Thearubigins were isolated by liquid-liquid fraction method. The effects of black tea extract and isolated thearubigins on intestinal propulsion were measured by charcoal propulsion test.

**Results:** According to the obtained results, black tea extract increases intestinal motility and consequently reduces transit time in a concentration dependent manner ( $P < 0.01$ ). Thearubigins, also, increase intestinal motility and decrease transit time dose dependently ( $P < 0.01$ ).

**Conclusion:** Based upon these results, Iranian black tea extract and its major polyphenolic pigment, thearubigins, could be useful in the treatment of some gastrointestinal motility disorders.

**Key words:** Iranian black tea extract, Thearubigins, Mice, Intestinal transit time.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2006; 13(1): 37-42

**منابع**

۱. غلامی، مهران: گرینش کلونی چای. اداره کل خدمات پژوهشی چای، سازمان چای کشور، وزارت جهاد کشاورزی، نشریه فنی زمستان ۱۳۸۲، ص ۱.
2. Barua DN: Science and practice in tea culture. Calcutta, Tea Research Association, 1989; PP9-11.
3. Besra SE, Gomes A, Ganguly DK, Vedasiromoni JR. Antidiarrhoeal activity of hot water extract of black tea (*Camellia sinensis*) *Phytother Res* 2003; 17(4): 380-4.
4. Chaudhuri L, Basu S, Seth P, Chaudhuri T, Bersa SE, Vedasiromoni JR, et al. Prokinetic effect of black tea on gastrointestinal motility. *Life Sci* 2000; 66(9): 847-54.
5. Chen Ch, Ho Ch. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black teas. *Journal of food lipids* 1995; 2: 35-46.
6. Gomes A, Das M, Vedasiromoni JR, Ganguly DK. Proconvulsive effect of tea (*Camellia sinensis*) in mice. *Phytother Res* 1999; 13(5): 376-9.
7. Gomes A, Vedasiromoni JR, Das M, Sharma RM, Ganguly DK. Anti-hyperglycemic effect of black tea (*Camellia sinensis*) in rat. *J Ethnopharmacol* 1995; 45(3): 223-6.
8. Gupta S, Chaudhuri T, Ganguly DK, Giri AK. Anticlastogenic effect of black tea (world blend) and its two active polyphenols theaflavins and thearubigins *in vivo* in Swiss albino mice. *Life Sci* 2001; 69(23): 735-44.
9. Haslam E. Thoughts on thearubigins. *Phytochemistry* 2003; 64(1): 61-73.
10. Leung LK, Su Y, Chen R, Zhang Z, Huang Y, Chen Zy. Theaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants. *J Nutr* 2001; 131(9): 2248-51.
11. Maity S, Ukil A, Karmakar S, Datta N, Chaudhuri T, Vedasiromoni JR, et al. Thearubigin, the major polyphenol of black tea, ameliorates mucosal injury in trinitrobenzen sulfonic acid-induced colitis. *Eur J Pharmacol* 2003; 470(1-2): 103-12.
12. Maity S, Vedasiromoni JR, Chahdhuri L, Ganguly DK. Role of reduced Glutathione and nitric oxide in the black tea extract mediated protection against

- ulcerogen-induced changes in motility and gastric emptying in rats. *JPN J Pharmacol* 2001; 85(4): 358-64.
13. Nagakura Y, Naitoh Y, Kamato T, Yamano M, Miyata K. Compounds possessing 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonistic activity inhibit intestinal propulsion in mice. *Eur J Pharmacol* 1996; 311(1): 62-72.
  14. Peterson J, Dwyer J, Jacques P, Rand W, Prior R, Chui K. Tea variety and brewing techniques influence flavenoid content of black tea. *Journal of Food composition and analysis* 2004; 17: 397-405.
  15. Vinson J.A, Dabbagh Y. Tea phenols: antioxidant effectiveness of teas components, tea fractions and their binding with lipoproteins. *Nutrition Research* 1998; 18(6): 1067-75.
  16. Vinson J.A, Dabbagh Y. Tea phenols: antioxidant effectiveness of teas components, tea fractions and their binding with lipoproteins. *Nutrition Research* 1998; 18(6): 1067-75.
  17. *Wilson KC, Clifford MN: Tea cultivation to consumption. 1<sup>st</sup> ed., Chapman & Hall, 1992; P414.*