Archive of SID

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۲۹ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۶ صفحات ۸۲- ۷۷

اثرات تقویت کنندگی عصاره هندوانه ابوجهل بر سیستم ایمنی

هاجر شفائی: کارشناس ارشدبافت شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکي تبريز
دکتر جعفر سلیمانی راد، استاد علوم تشریحی و بافت شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکي تبريز
دکتر رضا مهدوی، استادیار علوم و صنایع غدایی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر علیرضا استاد رحیمي، استادیار بیوشیمی و تغذیه درمانی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر حسن رضازاده، استادیار فارماکولوژی و توکسیکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر حسن ارگانی، دانشیار نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر محمد رضا رشیدی،استاد شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر حسین ناظمیه، استادیار فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر عباس دل آذر، دانشیاریار فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات کاربردی علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: delazara@hotmail.com

دریافت: ۸۵/۹/۲۳، پذیرش: ۸۶/۱/۲۹

چکیده

زمینه و اهداف: اثرات تقویت کنندگی سیستم ایمنی توسط گیاهان دارویی مورد توجه زیادی قرار گرفته و ساپونینها و فلاوونوئیدها موجود در گیاهان از ترکیبات شناخته شده ای در این رابطه محسوب میگردند. حضور این دسته ترکیبات در هندوانه ابوجهل و گزارش مبنی بر فعالیت لکوسیتوزی هندوانه ابوجهل، ما را بر آن داشت که اثرات این گیاه را بر سیستم ایمنی مورد مطالعه قرار دهیم.

روش بررسی: دراین مطالعه اثرات هیستولوژیک عصاره های پالپ و دانه هندوانه ابوجهل بر مخاط سیستمGI از نظر ایمنی مطالعه شده است. عصاره گیری از اندامهای گیاهی توسط متانول ۷۰٪ صورت گرفت. در ابتدا حضور گروههای محتلف ترکیبات شیمیایی در عصاره توسط روشهای فیتوشیمیایی مورد مطالعه و سپس ۳۰ خرگوش نر نژاد نیوزیلندي به ۵ گروه تقسیم و یک گروه به عنوان کنترل و ۴ گروه بقیه پالپ و دانه هندوانه ابوجهل را با دوزهاي ۱۰۰ mg/kg/day و ۲۰۰ mg/kg/day بمدت یکماه بطریقه گاواژ دریافت کردند. بعد از پایان دوره آزمایش خرگوشهاي زنده مانده به همراه گروه کنترل بیهوش و نمونه هاي روده آنها با فرمالین ۱۰٪ فیکس و با میکروسکوپ نوري مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد لنفوسیتهای نفوذی به اپی تلیوم روده بعنوان یک مارکر عملکرد سیستم ایمنی در مواجهه با عصاره ها مورد مورفومتری قرار گرفت .

یافته ها: همه خرگوشهاي دریافت کننده ۲۰۰ mg/kg/day پالپ و ۴۶٪ خرگوشهاي دریافت کننده ۱۰۰ mg/kg/day پالپ از بین رفتند. سلولهای لنفاوی مخاط روده در گروه دریافت کننده ۱۰۰ mg/kg/day پالپ افزایش یافته بود. میانگین تعداد لنفوسیتهای نفوذی در این گروه نسبت به گروه کنترل از نظر آماری معنی دار بود($p<۰/۰۵$) افزایش سلولهای لنفاوی در گروههای ۱۰۰ mg/kg/day و۲۰۰ mg/kg/day دریافت کننده دانه نیز قابل توجه و میانگین تعداد لنفوسیتهای نفوذی در گروه اخیرنیز از نظر آماری معنی دار بود($p<۰/۰۰۵$).

نتیجه گیری: اثر تحریکی عصاره دانه هندوانه ابوجهل بر سیسنم ایمنی بیشتر از عصاره پالپ بوده ولیکن سمیت عصاره پالپ نسبت به عصاره دانه بیشتر است.

کلید واژه ها: لنفوسیت، هندوانه ابوجهل، روده، سیستم ایمنی

مقدمه

استفاده از گیاهان داروئی برای درمان بیماریها روز به روز در حال افزایش است. یکی از کاربردهای جالب توجه گیاهان دارویی در ارتباط با اثرات تقویت کنندگی سیستم ایمنی آنها میباشد(۱). گیاهان داروئی ازجمله گیاه Panax ginseng برای درمان بیماریهای وابسته به ایمنی مانند کانسر وبیماریهای اتوایمن بکار برده میشوند (۲). ساپونینهای جینسنگ باعث افزایش لنفوسیتهای B وT شده و گیاه Echinacea purpurea با تحریک سیستم ایمنی شدت وطول مدت بیماریهای تنفسی را کاهش می دهد(۳).

www.SID.ir

Archive of SID

هندوانه ابوجهل متعلق به خانواده کوکوربیتاسه میباشد که حاوی انواع کوکوربیتاسینها بوده، کوکوربیتاسینهای هندوانه ابوجهل از دسته ساپونینهاي استروئیدی میباشد (۴). فلاوونوئیدها (۵) و آلکالوئیدها(۶) از دیگر ترکیبات تشکیل دهنده پالپ هندوانه ابوجهل هستند. دانه هندوانه ابوجهل همچنین حاوی چربی،گلوکز و اسید آمینه نیز میباشد(۷). بررسی قبلی ما حضور ترکیبات فلاوونوئیدی همانند ایزوساپونارین، ایزو ویتکسین، ایزو اوریتین، ۳ – O–متیل اتر و گلوکو کوکوربیتاسین های I وL را در میوه های این گیاه نشان داد (۸).

میوه هندوانه ابوجهل برای درمان یبوست(۹) ، دیابت (۱۰)، بیمارهای روماتیسمی، عفونتهای پوستی (۱۱) و گلودرد(۱۲) بکار میرود. در طب سنتی ایران نیز این گیاه در درمان یبوست، ادم، عفونت های باکتریال، کانسر، دیابت و برای سقط جنین بکار برده شده است (۱۳). دریک بررسی دیگر، ما نشان دادیم که عصاره هیدرو متانلی میوه هندوانه ابوجهل دارای خاصیت آنتی دیابتی میباشد (۱۴). اثر هندوانه ابوجهل بر سیستم ایمنی بصورت لکوسیتوز (۱۲و۱۵) و اثر ضد التهابی کوکوربیتاسینها نیز قبلا گزارش شده است(۱۶). ابهام در اثرات ایمنی هندوانه ابوجهل، زمینه این مطالعه میباشد. جهت روشن شدن این موضوع اثر عصاره پالپ و دانه هندوانه ابوجهل بطور جداگانه با دو دوز متفاوت بر لنفوسیتهای نفوذی مخاط روده از نظر هیستولوژیک بررسی شده است .

مواد و روش ها

میوه های هندوانه ابوجهل، از بازار خریداری و محققین بخش فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، این میوه ها را مورد شناسایی قرار داده و صحت آن ها را تایید نمودند. به منظور عصاره گیری، ابتدا دانه ها از پالپ و پوست جدا و سپس پالپ همراه با پوست میوه و همچنین دانه بطور مجزاء توسط آسیاب مکانیکی به پودر کاملا ریزی تبدیل شدند. دانه ها ابتداء توسط استخراج با حلال n– هگزان چربی زدایی شده و سپس مراحل عصاره گیری آنها همانند بخش پالپ توسط حلال متانل ۷۰٪ صورت پذیرفت. عمل عصاره گیری ۳ بار تکرار و عصاره های بدست آمده توسط روتاری اواپوراتور تحت دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و در فشار ۱۰۰ میلی متر جیوه کاملا خشک گردید. عصاره های خشک شده در یخچال در دمای زیر صفر درجه سانتی گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند. بمنظور تجویز عصاره به حیوانات آزمایشگاهی، محلول های ۱۰٪ از عصاره خشک در آب مقطر تهیه شد، بطوری که هر ۱cc از محلول حاوی ۱۰۰mg عصاره خشک بود. واکنش Liebermann-Burchard برای تعیین حضور استرولها بکار برده شد. استرولها با افزودن انیدرید استیک و اسید سولفوریک غلیظ ایجاد رنگ آبی – سبز مینمایند(۱۷). تست سیانیدین برای جستجوی فلاوونوئیدها بکار رفت. فلاوونوئیدها در محیط الکلی تحت تاثیر اسید کلریدریک غلیظ و نوار منیزیم تولید رنگ قرمز یا نارنجی مینمایند(۱۸).

جهت ساپونین ها از اثر بهم زدن شدید محلول مائی حاوی ترکیبات ساپونینی به مدت ۲ دقیقه که کف پایداری (حداقل به مدت ۱۵ دقیقه)، تشکیل میگردد و در صورتی که به محلول اولیه روغن زیتون اضافه گردد امولسیون تشکیل خواهد شد استفاده گردید.

برای جستجوی آلکالوئیدها از معرف Dragendorff یا Mayer برای تشخیص حضور آلکالوئیدها در محلول اسیدی (HCl 1%) میتوان استفاده نمود. حضور آلکالوئیدها با تشکیل کدورت یا رسوب تائید میگردد(۱۷).

در این بررسی ۳۰ خرگوش نر(نژاد نیوزیلندي) سه ماهه به وزن تقریبی ۳ کیلوگرم بکار گرفته شد. حیوانات در دمای استاندارد نگهداری و با غذای مناسب تغذیه میشدند. خرگوشها به ۵ گروه تقسیم و یک گروه به عنوان کنترل و ۴ گروه بقیه پالپ و دانه هندوانه ابوجهل را با دوزهاي ۱۰۰ mg/kg/day و ۲۰۰ mg/kg/day بطریقه گاواژ دریافت کردند.مدت دوره آزمایش یکماه بود. بعد از پایان دوره آزمایش خرگوشهاي زنده مانده به همراه گروه کنترل با استفاده ازکلروفرم بیهوش و از روده آنها نمونه برداری شد. نمونه ها با استفاده از فرمالین ۱۰٪ خنثی و فیکس و بعداز طی مراحل آماده سازی مقاطع تهیه شده باH&E رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوري مورد مطالعه قرار گرفتند. تعداد لنفوسیتهای نفوذ کرده به اپی تلیوم روده شمارش گردید.

برای مقایسه وآنالیز آماری اطلاعات حاصله از روش آماری من ویتنی استفاده شد.

یافته ها

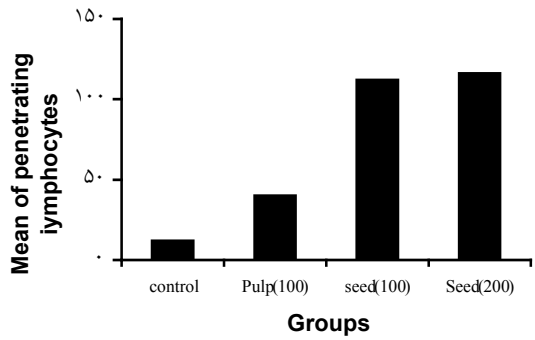
بررسیهای فیتوشیمیایی حضور ساپونینها، استرولها، آلکالوئیدها و فلاوونوئیدها را در عصاره پالپ و دانه تائید کرد. این نتایج حاکی از آن است که ترکیبات ساپونینی، استرولی و فلاوونوئیدی در پالپ بیش از دانه بوده ولیکن تست آلکالوئیدی در مورد دانه نتیجه شاخص تری نسبت به پالپ بدست داد.

تجویز عصاره پالپ هندوانه ابوجهل با دوز ۲۰۰ mg/kg/day باعث مرگ ۱۰۰٪ حیوانات این گروه شده و ۴۶٪ خرگوشهای دریافت کننده ۱۰۰ mg/kg/day پالپ نیزاز بین رفتند. علل مرگ آنی حیوانات بلافاصله بعد از مصرف عصاره گیاه هندوانه ابوجهل که غنی از ساپونین ها میباشد ، نارسائی قلبی و هیپوگلیسمی و علت مرگ در مراحل بعدی آسیب هپاتورنال میباشد (۱۹). مطالعه هیستولوژیک بر روی گروههای کنترل و دریافت کننده ۱۰۰ mg/kg/day پالپ و ۱۰۰ mg/kg/day و۲۰۰ دانه صورت گرفت. پالپ هندوانه ابوجهل باعث از بین رفتن میکروویلی های سلولهای انتروسیت شد که این تخریب در گروه دریافت کننده عصاره پالپ نسبت به عصاره دانه بیشتر بو د. این عصاره ها هم چنین باعث افزایش سلولهای لنفاوی مخاط روده شد. شکل۱

www.SID.ir

Archive of SID

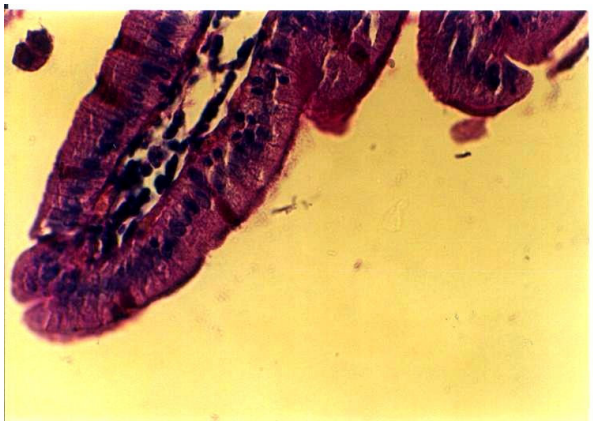
قسمتی از مخاط روده را در گروه کنترل نشان میدهد، بطوریکه ملاحظه میشود تعداد معدودی لنفوسیت نفوذی با هسته گرد و متراکم در بین سلولهای اپیتلیال قابل مشاهده میباشد .میانگین تعداد لنفوسیتها در گروه کنترل ۳/۹± ۱۲/۴ است. شکل ۲ قسمتی از روده را در گروه دریافت کننده mg/kg ۱۰۰پالپ نشان میدهد، بطوریکه ملاحظه می گردد تعداد لنفوسیتهای نفوذی در مقایسه با گروه کنترل به ۹/۸±۳۹/۶ افزایش یافته که از نظر آماری معنی دار (p<۰/۰۵) میباشد. شکل ۳ قسمتی از مخاط روده گروه دریافت کننده mg/kg ۱۰۰ دانه را نشان می دهد، بطوریکه ملاحظه می گردد دراین گروه تعداد لنفوسیتهای نفوذی۱۳/۱± ۱۱۲/۳ می باشد و تعداد آنها در مقایسه با گروهای کنترل و دریافت کننده عصاره پالپ بطور معنی داری(p<۰/۰۰۵) افزایش یافته است.شکل ۴ قسمتی از مخاط روده را در گروه دریافت کننده mg/kg ۲۰۰ دانه نشان میدهد. تعداد لنفوسیتهای نفوذی در این گروه ۱۱/۵± ۱۱۶ میباشد که باز در مقایسه با گروههای کنترل و دریافت کننده پالپ بطور معنی داری(p<۰/۰۰۵) افزایش یافته است. نمودار ۱ میانگین تعداد لنفوسیتهای نفوذی گروه کنترل را در مقایسه با سایر گروها نمایش میدهد.



نمودار ۱: میانگین تعداد لنفوسیتهای نفوذی در اپی تلیوم روده کوچک در اثر mg/kg/day ۱۰۰پالپ وmg/kg/day ۱۰۰و۲۰۰دانه هندوانه ابوجهل در مقایسه با گروه کنترل

شکل ۱: فتومیکروگراف مقطع پرز روده کوچک در گروه کنترل که باE&H رنگ آمیزی شده است-بزرگنمائی ۶۶۰ برابر

شکل ۲ : فتومیکروگراف مقطع پرز روده کوچک در گروه دریافت کننده mg/kg/day ۱۰۰ پالپ که با E&H رنگ آمیزی شده است- بزرگنمائی ۶۶۰ برابر



شکل۳ : فتومیکروگراف مقطع پرز روده کوچک در گروه دریافت کننده mg/kg/day ۱۰۰ دانه که با E&H رنگ آمیزی شده است- بزرگنمائی ۶۶۰ برابر

شکل ۴: فتومیکروگراف مقطع پرز روده کوچک در گروه دریافت کننده mg/kg/day ۲۰۰ دانه که با E&H رنگ آمیزی شده است- بزرگنمائی ۶۶۰ برابر

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر نشان میدهد که تجویز پالپ با دوز ۲۰۰mg/kg باعث مرگ خرگوش ها میگردد، در صورتیکه تجویز دانه ها با دوز مشابه چنین نتایجی را سبب نمی شود. یافته ها همچنین بیانگر غلظت بالای ساپونین ها ، استرول ها و فلاوونوئیدها در عصاره پالپ نسبت به عصاره دانه میباشد. بنابراین میتوان فرض کرد که علت مرگ خرگوش های دریافت کننده عصاره پالپ میتواند ناشی از غلظت بالای این ترکیبات بویژه ساپونین ها نسبت به دانه باشد. از طرف دیگر، تخریب مخاط روده نیز در گروههای دریافت کننده عصاره پالپ نسبت به دانه بیشتر بود که باز میتواند عامل دیگری برای علت مرگ خرگوش های دریافت کننده عصاره پالپ باشد.

دیگر یافته این بررسی افزایش چشمگیر و معنی دار لنفوسیت های نفوذی به اپی تلیوم مخاط روده در گروههای آزمایش نسبت به گروه کنترل بود. این افزایش در گروه دریافت کننده عصاره دانه نسبت به گروه دریافت کننده عصاره پالپ بیشتر بود($p<۰/۰۵$). این واقعیت بیانگر فعال شدن سیستم ایمنی تحت تاثیر عصاره پالپ و دانه میوه هندوانه ابوجهل می باشد. این نتایج همچنین نشان دهنده این است که عصاره دانه هندوانه ابوجهل در مقایسه با عصاره پالپ آن سیستم ایمنی بدن خرگوش را بیشتر تحریک می کند که میتواند احتمالا ناشی از غلظت بالای آلکالوئیدها در آن باشد.

تحریک سیستم ایمنی بوسیله سایر گیاهان داروئی از جمله Ginseng وMilk thistle نیز بصورت افزایش تکثیر لنفوسیتها گزارش شده(۲۰) و نیز تکثیر لنفوسیتهای B باعصاره گیاه juzen-taiho-to نشان داده شده است(۲۱). در مطالعه ای دیگری گزارش شده که مخلوط گیاهان چینی منجر به تکثیرلنفوسیتهای T می گردند (۲۲). اصولا با توجه به ارتباط نزدیک سیستم ایمنی و بروز سرطان، اساس درمان با بعضی از گیاهان داروئی بر تحریک سیستم ایمنی توسط آنها استوار بوده(۲۳)، ضمن اینکه افزایش تعداد لنفوسیتها نفوذی در مخاط روده بعنوان معیاری برای تحریک سیستم ایمنی مورد توجه محققان میباشد (۲۴) این یافته بطور غیر مستقیم میتواند بیانگر افزایش تکثیر سلولهای ایمنی نیز باشد که در هر صورت موید یافته های مطالعه حاضر است. بر این اساس میتوان گفت که ترکیبات موجود در عصاره های پالپ و دانه باعث تحریک سیستم ایمنی می گردند.

هریک از ترکیبات پالپ و دانه به تنهائی یا در کنار سایر مواد میتوانند منشا چنین اثری باشند. برآیند اثرات فارماکولوژیک مواد تشکیل دهنده گیاهان میتواند نتیجه اثرات سینرژیستی یا آنتاگونیستی آنها در نظر گرفته شود و ممکن است همان اثر با یک ترکیب واحد مشاهده نگردد(۲۵). بطوریکه ساپونینها ضمن اینکه خود اثرات تحریکی بر ایمنی دارند(۲۸-۲۶) با تخریب کردن غشا مخاطی روده ،به مواد غیر فابل جذب اجازه عبور میدهند و از اینرو ساپونینها خود به همراه سایر مواد به خون وارد شده واثرات فارماکولوژیک ایجاد میکنند(۲۹). آلکالوئیدها از دیگر ترکیبات هندوانه ابوجهل نیز دارای اثرات تنظیم کنندگی بر سیستم ایمنی میباشند(۳۰). همچنین فلاونوئیدها با خواص آنتی اکسیدانتی بر ایمنی تاثیر گذاشته(۳۱) و احتمالاً باافزایش مقاومت میزبان(۳۲) رد پیوند توسط میزبان را مهار میکنند(۳۳). درهر حال مجموع اثرات مواد مختلف پالپ و دانه باعث افزایش سلولهای لنفاوی مخاطی روده گردیده است.

اختلاف قابل توجه در افزایش لنفوسیتهای نفوذی بهمراه تجویز عصاره دانه و عصاره پالپ حاکی از آن است که احتمالاً مواد محرک ایمنی دانه از نظر نوع و مقدار، نسبت به پالپ متفاوت است. همچنین تداخل عمل اجزاء تشکیل دهنده این عصاره ها در ایجاد اثرات سینرژیستی و آنتاگونیستی را نمی توان نادیده گرفت. پالپ هندوانه ابوجهل باعث تخریب شدید مخاط روده باریک میشود درحالیکه دانه میزان تخریب کمتر ایجاد میکند(۳۴) . بنابراین با ازهم پاشیده شدن سد مخاطی، آنتی ژنهای موجود در لومن روده به آستر مخاط وارد شده و سیستم ایمنی برای پاسخ برانگیخته میشود(۲۹). اگر چنین اثری عامل اصلی تحریک ایمنی بود انتظار میرفت لنفوسیتهای نفوذی درگروه استفاده کننده از اثر پالپ بیشتر از گروه استفاده کننده از عصاره دانه افزایش یابد، ولی در مشاهدات ما افزایش این سلولها درگروه استفاده کننده از عصاره دانه بیشتر بود.

از دیگر مطالعاتی که نتایج آنها در حمایت از یافته های بررسی حاضر میباشد لکوسیتوز حاصل از تجویز عصاره تام میوه هندوانه ابوجهل میباشد(۱۲و۱۵). هم چنین گزارشات مربوط به ضد التهابی بودن دیگر گونه های کوکوربیتاسه است که اثرات ضد التهابی معمولا با افزایش تعداد سلولهای ایمنی همراه میباشد. در این راستا اثرات ضد التهابی گیاه Ecballium elaterium به اثبات رسیده است(۳۷-۳۵). علاوه بر این، نشان داده شده است که استفاده از گیاه Emblica officinalis بعنوان ضد التهاب باعث افزایش تعداد لنفوسیتها شده است(۳۸).

نتیجه گیری

بعنوان نتیجه گیری کلی میتوان گفت که عصاره های پالپ و دانه میوه هندوانه ابوجهل دارای اثرات سمی و تخریبی در مخاط روده میباشند که اثرات سمی عصاره پالپ نسبت به عصاره دانه بیشتر است. از طرف دیگر، بر اساس افزایش تعداد لنفوسیتهای نفوذی به مخاط روده، عصاره پالپ و دانه میوه هندوانه ابوجهل سیستم ایمنی بدن خرگوش را تحریک میکنند که تحریک سیستم ایمنی توسط عصاره دانه بیشتر از عصاره پالپ است.

تقدیر و تشکر

مولفین مراتب تشکر وسپاس خود را از مرکز تحقیقات کاربردی داروئی بواسطه حمایت مالی در انجام این پروژه تحقیقاتی و همکاریهای صمیمانه اعلام میدارند.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Wilasrusmee C, Kittur S, Siddiqui J, Bruch D, Wilasrusmee S, Kittur DS. In vitro immunomodulatory effects of ten commonly used herbs on murine lymphocytes. *Altern Complement Med*. 2002; **8**(4): 467-75.
2. Spelman K, Burns J, Nichols D, Winters N, Ottersberg S, Tenborg M; Modulation of cytokine expression by traditional medicines: a review of herbal immunomodulators. *Altern Med Rev*. 2006; **11**(2): 128-50.
3. Schwarz E, Metzler J, Diedrich JP, Freudenstein J, Bode C, Bode JC; Oral administration of freshly expressed juice of Echinacea purpurea herbs fail to stimulate the nonspecific immune response in healthy young men: results of a double-blind, placebo-controlled crossover study. *J Immunother*. 2002; **25**(5): 413-20.
4. Natio AR, Hatam Donald A, Whiting N, Yousif J; Cucurbitacin Glycosides from citrullus colocynthis. *Phytochemistry* 1989; **28**(4): 1268-71.
5. Maatooq GT, El-Sharkawy SH, Afifi MS, Rosazza PN; C-*p*-Hydroxybenzoyl glycoflavones from *Citrullus colocynth. Phytochemistry* 1997; **44**(1): 187-190.
6. Darwish SM, Balbaa SI, Afifi MSA; Nitrogenous basses the different organ of *Citrullus colocynthis*. *Planta Medica* 1973; **24**(3): 260-5.
7. Nmila R, Gross R, Rchid H, Roye M, Manteghetti M, Petit ,M.Tijane P , Ribes G, Sauvaire Y; Insulinotropic effect of citrullus colocynthis Fruit Extracts. *Planta medica* 2000; **66:** 418-23.
8. Delazar A, Gibbons S, Kosari A, Nazemiyeh H, Modarresi M, Nahar L, et al; Flavone C-Glycosides and Cucurbitacin Glycosides from Citrullus colocynthis. *DARU*, 2006; **14**(3): 109-114.
9. Abdel-Hassan IA, Abdel-barry JA, Tariq Mohammeda S; The hypoglycaemic and antihypoglycaemic effect of Citrullus colocynthis fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology* 2000; **71**: 325-30.
10. Grover JK , Yadav S , Vats V; Medical plants of India with anti-diabetic potential Journal. *Ethanopharmacology*, 2002; **81:** 81-100.
11. Tannin-Spitz T, Grossman S, Dovrat S, Gottlieb HE, Bergman M; Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from Citrullus colocynthis on human breast cancer cells. *Biochem Pharmacol*. 2007; **73**(1): 56-67.
12. Elawad AA, Abdel Bari EM, Mahmoud OM, Adam SE; The effect of Citrullus colocynthis on sheep. *Vet Hum Toxicol*, 1984, **26**(6): 481-5.
13. Madari H, Jacobs R S; An analysis of cytotoxic botanical formulations used in the traditional medicine of ancient Persia as abortifacient. *J. Nat. Prods*, 2004; **67**: 1204-1210.
14. Mahdavi R, Dashti N, Ostadrahimi A, Delazar A, Rezazadeh H; Antidabetic effect of Citrullus colocynthis fruit aqueous extract on plasma glucose levels in diabetic rabbits. *Pharmaceutical sciences Journal of Faculty of Pharmacy*, 2005; **3**:15-19.
15. Al-Yahya MA, Al-Farhan AH, Adam SEI; Preliminary toxicity study on the individual and combined effect of Citrullus colocynthis and Nerium oleander in rats. *Fitoterapia* 2000,**71**:385-91.
16. Yesilada E, Tanaka S, Sezik E, Tabata M; Isolation of an anti-inflammatory principle from the fruit juice of Ecballium elaterium. *J Nat Prod* 1988; **51**(3): 504-8.
17. Harborne JB. *Phytochemical Methods*. 2th ed. Chapman and Hall, London, 1984; 120-128, 192-202.
18. Karumi Y, Onyeyili PA, Ogugbuaja VO, Identification of active principles of M. balsamina (Balsam Apple) leaf extract. *journal of Medical Sciences* 2004; **4**(3): 179-182.
19. Diwan FH, Abdel-Hassan IA , Mohammed ST; Effect of saponin on mortality and histopathological changes in mice. *Eastern Mediterranean Health Journal* 2000; **6**(2/3): 354-351.
20. Shan BE, Yoshida Y, Sugiura T, Yamashita U. Stimulating activity of Chinese medicinal herbs on human lymphocytes in vitro. *Int J Immunopharmacol*. 1999; **21**(3): 149-59.
21. Wilasrusmee C, Kittur S, Siddiqui J, Bruch D, Wilasrusmee S, Kittur DS; In vitro immunomodulatory effects of ten commonly used herbs on murine lymphocytes. *Altern Complement Med*. 2002; **8**(4): 467-75.
22. Takemoto N, Kiyohara H, Maruyama H, Komatsu Y, Yamada H, Kawamura HA; novel type of B-cell mitogen isolated from juzen-taiho-to (TJ-48), a Japanese traditional medicine. *Int J Immunopharmacol.* 1994; **16**(11): 919-29.
23. Luo Z, Huang W, Wang J, Yu B, Cui Y, Liao Z. et al; The effects of Chinese medicine herb mixture on cell-mediated immune functions and four kinds of acute-phase reaction proteins in burn patients. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 1998; **36**(6): 366-9.
24. Chang F, Mahadeva U, Deere H; Pathological and clinical significance of increased intraepithelial lymphocytes (IELs) in small bowel mucosa. *APMIS*. 2005; **113**(6): 385-99.
25. Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H; Combination Effects of Herbs in a Multi-herbal Formula: Expression of Juzen-taiho-to's Immunomodulatory Activity on the Intestinal Immune

www.SID.ir

Archive of SID

System. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2004 ; **1**(1): 83–91.
26. Lin HW, Han GY, Liao SX; Studies on the active constituents of the Chinese traditional medicine Polygonatum odoratum (Mill.). *Druce Yao Xue Xue Bao*. 1994; **29**(3): 215-22
27. Sun HX, Ye YP, Pan HJ, Pan YJ; Adjuvant effect of Panax notoginseng saponins on the immune responses to ovalbumin in mice. *Vaccine* 2004; **22** (29-30): 3882-3889.
28. Takei M, Tachikawa E, Hasegawa H , Lee JJ; Dendritic cells maturation promoted by M1 and M4, end products of steroidal ginseng saponins metabolized in digestive tracts, drive a potent Th1 polarization. *Biochem Pharmaco* 2004; **68** (3): 441-452
29. George F, Zohar K, Harider PSM, Klaus B; The biological action of saponins in animal system:a review. *British Journal of Nutrition* 2002; **88**:587-605
30. Mur E, Schennach H, Schroecksnadel K, Wirleitner B, Winkler C, Fuchs D; In vitro Effects of Two Extracts and Two Pure Alkaloid Preparations of Uncaria tomentosa on Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Planta med* 2004; **70**: 205-210.
31. Huang SL, Tsai HL, Duch PD, Yen GC; Pro-oxidative properties of flavonoids in human lymphocytes. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2003; **67**(6): 1215-22.
32. Guo T, McCay J, Zhang L, Brown R, You L, Karrow N, etal. Genistein modulates immune responses and increases host resistance to B16F10 tumor in adult female B6C3F1 mice. *J Nutr*. 2001; **131**(12): 3251-8.
33. Okamoto I, Ikeda M, Kohno K, Tanimaoto T, Koya-Miyata S, Iwaki K; The flavonoid Kaempferol suppresses the graft-versus-host reaction by inhibiting type 1 cytokine production and CD8+ T cell engraftment. *Clin Immunol*. 2002; **103**(2): 132-44
34. Shafaei H, Soleimani Rad J, Delazar A, Nazemiyeh H, Rashidi MR, Mahdavi R, etal. Studying the effect of citrullus colocynthis fruit as anhypoglycemic agent on intestine of diabetic rabbits. In 4th Iranian International Congress of Gastroenterology & Hepatology, December 5-7,2004; Tehran, Iran.
35. Attard E, Brincat MP, Cuschieri A; Immunomodulatory activity of cucurbitacin E isolated from Ecballium elaterium. *Fitoterapia* 2005; **76**(5): 439-441
36. 36- Orsi C, Manezlil S, Bonucelli M, Prieto M, Rios JL, Cerda-Nicolas M, etal; Anti-Inflammatory Activity of Two Cucurbitacins Isolated from Cayaponia tayuya Roots. *Planta med* 2004; **70**: 414-420.
37. Gupta MB, Bhalla TN, Gupta GP, Mitra CR, Bhargava KP; Anti-inflammatory activity of natural products (I) triterpenoids. *European Journal of Pharmacology* 1969; **6**(1): 67-70. Ganju L, Karan D, Chanda S, Srivastava KK, Sawhney RC, Selvamurthy W; Immunomodulatory effects of agents of plant origin. *Biomed Pharmacother*. 2003; **57**(7): 296-300.

www.SID.ir