فرمولاسیون و ارزیابی فیزیکوشیمیایی پماد تهیه شده از گیاهان شنبلیله، سیاه دانه و بلوط برای درمان هموروئید های داخلی رکتوم

ابوالفضل اصلانی [۱*]، سیدمحمدحسن امامی [۲،۳]، علیرضا قنادی [۱]، مهدی اژدری [۱]

[۱] دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم داروئی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران. [۲] دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران. [۳] موسسه علمی پژوهشی پورسینای حکیم، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۸۶/۸/۵ ، تاریخ پذیرش: ۸۷ /۳/۲۸

Formulation and physicochemical evaluation of an herbal antihemorrohid ointment from Quercus, Black cumin and Fenugreek for the treatment of internal anal hemorrhoids

Aslani A.[1*], Emami S.M.H.[2,3], Ghannadi A.[1], Ajdari M.[1]

[1]School of Pharmacy and Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

[2]School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan , Iran [3] Poursina Hakim Research Institution, Isfahan, Iran

Received: 27 Oct. 2007, Accepted: 17 Jun. 2008

Objectives: Hemorrhoids are one of the most common gastrointestinal disorders and may cause symptoms, such as rectal bleeding, pain, soiling, prolapse, secretion and pruritus. The previously marketed ointment had low efficacy in the treatment of hemorrhoids. The aim of this study was to formulate an herbal ointment from Quercus, Black cumin and Fenugreek for the treatment of internal anal hemorrhoids. **Methods:** The plants were extracted using percolation method. Tannin percent in Quercus and mucilage content in Fenugreek were determined. The pH and percent of dried extraction were determined. The extracts were incorporated in absorption bases and after preliminary studies 5 formulations were prepared finally. Physicochemical tests such as content uniformity, creaming and coalescence, centrifugal tests, freeze and thaw test, cooling and heating test, thermal tests and pH changing were determined. **Results:** After concentration of extracts, from every 100 g of Quercus, Black cumin and Fenugreek, 26.1±4.1, 25.5±2.1, 22.3±3.5 gram concentrated extract were resulted respectively. After drying of extracts, weight of dried extracts result from 100 g extract of Quercus, Black cumin and Fenugreek were 16.7±2.2, 18.8±1.9, 15.2±1.4 gram respectively. The pH of extracts used in the formulations were in the range of 6.0- 6.4. All formulations except No. 4 had appropriate physicochemical characteristics with respect to appearance, consistency, viscosity, content uniformity and stability parameters. **Conclusion:** The prepared formulations were stable in the experimental conditions. From 5 formulations, 4 were stable and the third formulation was selected for the next clinical trial on hemorrhoids.

Keywords: Antihemorrhoid ointment, Stability, Quercus, Black cumin, Fenugreek.

زمینه و هدف: هموروئید بیماری شایعی است که با علائمی چون خونریزی، درد، پرولاپس، عدم کنترل در دفع گاز و مدفوع و همچنین وجود ترشح همراه است. با توجه به نارضایتی بیماران از داروهای موجود در بازار، در این مطالعه سعی شده است از خواص هموستاتیک بلوط، خاصیت ضد التهاب سیاه‌دانه و اثرات نرم کنندگی دانه شنبلیله در درمان و یا کاهش علائم این بیماری به شکل یک پماد موضعی استفاده شود. **روش ها:** گیاهان مورد نظر با روش پرکولاسیون عصاره‌گیری شده، درصد تانن در بلوط و موسیلاژ در شنبلیله اندازه گیری شد. pH و همچنین درصد مادهٔ خشک عصاره ها تعیین گردید. عصاره‌ها وارد پایه جاذب شده و سر انجام پس از مطالعات اولیه ۵ فرمولاسیون تهیه گردید. آزمایش های کنترل فیزیکوشیمیایی نظیر یکنواختی فرآورده‌ها، بررسی فرمولاسیون ها از نظر عدم ایجاد کرمینگ و کوالسانس، پایداری در برابر نیروی گریز از مرکز، آزمایش تغییرات دمایی، آزمایش انجماد و ذوب شدن، پایداری فرآورده ها در برابر گرم و سرد شدن و اندازه گیری pH بر روی فرمولاسیون ها انجام گردید. **یافته ها:** در پایان عمل عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون و تغلیظ عصاره‌ها، از هر ۱۰۰ گرم بلوط، سیاه دانه و دانه شنبلیله به ترتیب ۲۶/۱±۴/۱ ، ۲۵/۵±۲/۱ و ۲۲/۳±۳/۵ گرم عصاره تغلیظ شده بدست آمد. پس از خشک کردن عصاره‌ها، وزن عصاره خشک حاصل از ۱۰۰ گرم عصارهٔ بلوط، سیاه دانه و شنبلیله بعد از توزین، به ترتیب معادل ۱۶/۷±۲/۲ ، ۱۸/۸ ±۱/۹ و ۱۵/۲ ±۱/۴ گرم بود. pH عصاره‌های به کار رفته در فرمولاسیونها در محدوده ۶/۴-۶/۰ بود. همه فرمولاسیونها بجز شماره ٤ آزمایش های پایداری مذکور را بخوبی تحمل نمودند. **نتیجه گیری:** در مجموع، فرمولاسیونهای تهیه شده پایداری خوبی از خود در برابر شرایط فوق نشان دادند و از ۵ فرمولاسیون تهیه شده ٤ فرمولاسیون کاملا پایدار بودند که از بین آنها فرمولاسیون شماره ۳ برای مطالعه بالینی انتخاب گردید.

واژه‌های کلیدی: پماد آنتی هموروئید، فرمولاسیون، پایداری، بلوط ، شنبلیله، سیاه‌دانه.

*نویسنده مسئول: ابوالفضل اصلانی، استادیار، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران تلفن: ۷۹۲۲۶۱۷-۰۳۱۱، نمابر: ٦٦٨٠٠١١-۰۳۱۱،

**Corresponding Author: Abolfazl Aslani, Assistant Professor, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. Tel: +98-311- 7922617; Fax: +98-311-6680011; E-mail: aslani@pharm.mui.ac.ir*

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

درمان هموروئیدهای داخلی علامت‌دار باید با توجه به شرایط بیمار انتخاب شود. وجود هموروئید یک مسأله طبیعی است. بنابراین هدف از درمان نباید از بین بردن شبکه عروقی مذکور باشد، بلکه باید علائم بیمار برطرف شود. شواهد نشان می دهد بیماران درجه ۱ و ۲ به درمان‌های موضعی بهتر از بیماران درجه ۳ و ٤ جواب می‌دهند (۱). از درمان‌های موضعی می‌توان ژل لیدوکائین، پماد لیدوکائین H، شیاف و پماد آنتی هموروئید را نام برد که حاوی لیدوکایین، ساب استات آلومینیوم، اکسید روی و هیدروکورتیزون هستند. علاوه بر درمان‌های موضعی استفاده از رژیم غذایی غنی از فیبر نیز توصیه می‌شود. امروزه از فرمولاسیون‌های گیاهی هم جهت درمان این بیماری استفاده می‌شود. از این دسته ،گیاه هاماملیس را می‌توان نام برد که بطور وسیعی در فرمولاسیون موضعی آنتی هموروئیدها بکار می‌رود و حتی فرآورده‌ای از آن نیز با نام تجاری ® Tucks در بازار دارویی وجود دارد (۲). از دیگر فرآورده‌های موضعی به پماد ® Proctolog می‌توان اشاره کرد که حاوی ساپوژنین‌های *Ruscus aculeatus* L. است (۳).

با توجه به مطالعاتی که بر روی اشکال خوراکی داروها، اعم از گیاهی و شیمیایی برای درمان این بیماری صورت گرفته است، اهمیت درمان توام موضعی و خوراکی روشن شده است. از بین این داروها، می‌توان موارد زیر را نام برد: قرص کلسیم دوبسیلات (٤)، پودر پسیلیوم (۵)، قرص گیاهی دافلون که حاوی دیوسمین می‌باشد (۵)، قرص گیاهی ژینکو تهیه شده از گیاه *Ginkgo biloba* L. (٦). در مواردی مخلوطی از چندین گیاه نیز برای این بیماران تجویز شده است (۷).

در سالهای اخیر تحقیقات زیادی برای درمان این بیماری صورت گرفته و درمان‌های دیگری علاوه بر درمانهای سنتی مد نظر قرار گرفته‌اند. از جمله، استفاده از پماد ۰/۳ درصد نیفدیپین (۸)، پماد ایزوسورباید یک درصد (۹)، فنیل افرین به شکل موضعی (۵) شیاف و پماد نیتروگلیسیرین ۰/۲ درصد (۱۰،۱۱) را می‌توان ذکر کرد.

نشستن در آب گرم و استفاده از پودر تالک می‌تواند در بیماران اثر بخش باشد. در موارد شدید این بیماری گاهی نیاز به جراحی نیز پیش می‌آید (۱).

با توجه به مطالب فوق و عدم رضایت کافی بیماران مبتلا به هموروئید از داروهای موجود در بازار، در این مطالعه سعی شده است که یک فرم دارویی موضعی از عصاره چند گیاه تهیه و جهت درمان و یا کاهش علائم این بیماری مورد بررسی قرار گیرد.

۱-۱: معرفی گیاهان مورد استفاده

۱-۱-۱:معرفی سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) و کاربرد آن در طب سنتی

استفاده از این گیاه از قدیم الایام معمول بوده است، به طوری که بقراط از این گیاه در آثار خود نام برده است. دانه‌هایش اثر قاعده‌آور، ضد کرم، مسهل و زیاد کنندهٔ شیر دارد. علاوه بر این سیاه دانه به عنوان محرک، ضد نفخ و مدر نیز مصرف می‌شود و ضماد آن در درمان آبسه و روماتیسم کاربرد دارد. همچنین درطب گذشته، این گیاه در درمان بیماریهای مختلف کبدی و ناراحتی‌های تنفسی نیز مورد استفاده قرار گرفته است. درکتب طب سنتی سیاه‌دانه برای درمان بواسیر توصیه گردیده است (۱۲).

مهمترین ترکیبات موجود در سیاه دانه روغن‌های ثابت و فرار، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و ساپونین‌ها هستند. در سیاه دانه ٤۰- ۳۰ درصد روغن و ۱/۵-۰/۵ درصد اسانس و قندهای مختلف وجود دارد. فلاونول تری‌گلیکوزیدها نیز در این گیاه یافت می‌شوند. در اسانس فرار گیاه بیش از ۸۵٪ ترکیبات مونوترپنوئیدی وجود دارد. در اسانس فرار آن ترکیباتی چون پاراسیمن[1]، سیس توجون[2]، تیموکینون[3]، آلفاتوجن[4]، لونجی‌فولن[5]، بتا- پی‌نن[6]، کارواکرول[7]، آلفا- پی‌نن[8] وجود دارند. عصاره پلی‌فنلی سیاه دانه حاوی کوئرستین[9] نیز می‌باشد (۱۵-۱۳).

۱-۱-۲: معرفی گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) و کاربرد آن در طب سنتی

بررسی‌های انجام شده در طب گذشته نشان داده که دانه شنبلیله در تقویت قوای جسمی و روحی مؤثر بوده است. از جوشانده شنبلیله به صورت غرغره برای رفع ورم لوزه، درد گلو و به صورت تنقیه برای ورم معده و روده، بواسیر و بصورت لوسیون در درمان آفت استفاده می‌شود. این گیاه با داشتن املاح مختلف برای رفع بی‌اشتهایی، ضعف و لاغری مفید می‌باشد (۱٦).

1- para-Cymene
2 -cis-Thujone
3 -Thymoquinone
4 -α-Thujene
5 -Longifolene
6 -β-Pinene
7 -Carvacrol
8 -α-Pinene
9 -Quercetin

Archive of SID

www.SID.ir

از مهمترین ترکیبات موجود در شنبلیله به ساپونین‌ها، ترکیبات موسیلاژی، فلاونوئیدی و آلکالوئیدها می توان اشاره کرد (۱۷،۱۸). ساپونین‌های استروئیدی شامل دیوسژنین[10]، اسمیلاژنین[11] و جیتوژنین[12] هستند که از ساپوژنین‌های گیاه محسوب می شوند (۱۷). آلکالوئید مهم گیاه، تریگونلین[13] نام دارد که با غلظت ۰/۳۶ درصد در دانه شنبلیله وجود دارد. اورینتین[14] و ویتکسین[15] و کوئرستین مهمترین ترکیبات فلاونوئیدی موجود در این گیاه را تشکیل می‌دهند(۱۹). علاوه بر ترکیبات مذکور، روغن‌های ثابت و ترکیبات پروتئینی نیز در دانه گیاه یافت می‌شوند (۱۹).

۳-۱-۱: معرفی بلوط(*Quercus brantii* L.) و کاربرد آن در طب سنتی

این درخت به نام بلوط ایرانی، بلوط غرب و بلوط زاگرس شهرت یافته است. وجه تسمیه آن نامی بوده است که به گونه آن داده شده است. به همین سبب با نام *Quercus persica* L. نیز شناخته می‌شود. انتشار این گونه در ارتفاعات زاگرس و آذربایجان غربی میباشد.

درختانی بزرگ با ارتفاع حدود ۲۰ متر با تاج کروی بزرگ هستند که برگ‌های آن یکنواخت و تخم مرغی شکل با حاشیه‌ای دندانه‌دار است. کرک ستاره‌ای شکلی نیز روی برگ‌های آن وجود دارد. میوه آن بیضی شکل و در پیاله سفید رنگ مخملی و مخروطی شکل جای گرفته است (۲۰).

قسمت‌های مختلف این گیاه دارای مصارف درمانی گوناگونی است. بلوط در درمان خونریزیهای گوناگون، زخم معده، دیسانتری، بواسیر، رفع التهاب لوزه و ورم حنجره به کار می‌رود. پوست آن نیز به عنوان پادزهری برای مسمومیت ناشی از آلکالوئیدها استفاده می شود. همچنین استعمال جوشانده پوست بلوط در بیماریهای پوستی مزمن، اگزما و واریس اثر بخش می‌باشد (۱۶).

همچنین در درمان برخی بیماریهای پوستی مثل اگزما[16] و برص مؤثر بوده است. در رفع التهاب گلو و همچنین درمان پولیپ‌های بینی هم کاربرد دارد (۱۶).

ترکیبات پلی‌فنلی و تانن‌ها از مهمترین مواد موجود در بلوط هستند. گونه‌های مختلف بلوط از نظر ترکیب شیمیایی، به هم شبیه هستند. از جمله این دسته ترکیبات کاتشین[17] و اپی‌کاتشین[18] و گالوکاتشین[19] را می‌توان نام برد (۲۳-۲۱). به طور کلی تانن‌ها را به دو دسته کندانسه و قابل هیدرولیز تقسیم می‌نمایند که از دسته اول به کاتشین و اپی‌کاتشین و از دسته دوم این ترکیبات به گالیک اسید[20] و الاژیک اسید[21] می‌توان اشاره کرد (۲۴). بلوط با داشتن درصد بالایی تانن اثرات درمانی مختلفی از خود نشان می‌دهد. در سالهای اخیر از این گیاه برای درمان التهاب و هموروئید استفاده شده است (۲۴).

گالها برجستگیهایی هستند که روی گونه های مختلف از جمله *Quercus infectoria* L. دیده می‌شوند و بین ۵۰ تا ۷۰ درصد گالوتانیک[22] اسید دارند (۲۳).

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱: استخراج عصاره‌ها

روش انتخاب شده برای عصاره‌گیری، روش پرکولاسیون می‌باشد. برای عمل عصاره گیری باید پودر گیاه را در ابتدا با ۳۰٪ حلال به مدت ۲ ساعت مرطوب نمود. روی صفحه مشبک ته پرکولاتور یک تکه پنبه قرار داده و پودر مرطوب شده گیاه به تدریج وارد دستگاه می شود. روی پودر ها یک تکه کاغذ صافی قرار داده می شود و بقیه حلال افزوده می گردد. این در حالی است که شیر پرکولاتور باز است. با خروج اولین قطره حلال شیر دستگاه بسته می شود و عمل عصاره گیری به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت انجام می شود. سپس باید ضمن ورود حلال از بالا با باز کردن شیر دستگاه عصاره ها را که با سرعت ٤ تا ٦ قطره در دقیقه (به ازای هر ۱۰۰ گرم پودر) خارج می شود جمع آوری نمود (۱۹).

۲-۱-۱: سیستم حلال

الکل به عنوان حلال برای بسیاری از ترکیبات گیاهی مطرح است. حلال به کار رفته در استخراج عصاره‌ها از بلوط و سیاه دانه الکل ۷۰ درجه و در مورد شنبلیله الکل ۵۰ درجه می‌باشد (۲۶-۲۵).

۲-۱-۲: عصاره‌گیری

۱۰۰ گرم از پودر هر گیاه برای انجام عصاره‌گیری توزین گردید. عمل عصاره‌گیری از این گیاهان، به مدت ٤٨ ساعت بطول انجامید (۱۹).

10 -Diosgenine
11 -Smilagenin
12 -Gitogenin
13 -Trigonelline
14 -Orientin
15 -Vitexin
16 - Eczema
17 - Catechin
18 - Epicatechin
19 - Gallocatechin
20 - Gallic acid
21 - Ellagic acid
22 - Gallotannic acid

Archive of SID

www.SID.ir

۳-۱-۲: تغلیظ عصاره‌ها

عصاره‌های جمع‌آوری شده، توسط دستگاه روتاری در دمای ٤٠ درجه سانتیگراد و پس از آن توسط بن‌ماری در همان دمای ٤٠ درجه سانتیگراد و به مدت ٨-٤ ساعت تغلیظ گردیدند. در پایان عصاره‌های بدست آمده توزین شدند.

٤-۱-۲: تعیین مقدار عصارهٔ خشک

در این روش ۲ میلی لیتر از عصاره برداشته شد و پس از تبخیر حلال آن در حمام بخار، به مدت ۳ ساعت در آون با دمای ۱۰۵-۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا به وزن ثابت برسد. سپس به مدت یک ساعت در دسیکاتور قرار گرفت. در پایان، وزن باقی مانده به دست آمد. این تعیین مقدار ۳ مرتبه تکرار گردید (۲۷).

۵-۱-۲: تعیین pH عصاره‌ها

قبل از وارد نمودن عصاره‌ها به فرمولاسیون، pH هر یک از عصاره‌ها به صورت جداگانه و با استفاده از دستگاه pH متر اندازه‌گیری شد. این عمل موقعی انجام شد که عصاره‌ها به طور کامل تغلیظ نشده بودند. pH عصاره‌ها، به ترتیب ٤٨ ساعت، یک هفته ،یک ماه و سه ماه بعد نیز تعیین گردید. در این مدت عصاره ها در یخچال ٨-٢ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در هر مرتبه، تعیین pH سه بار تکرار گردید (۲۸).

۲-۲: استاندارد سازی گیاهان بر اساس یکی از مواد مؤثره در هر گیاه

۱-۲-۲: تعیین مقدار تانن موجود در عصاره بلوط

تعیین مقدار تانن براساس روش رنگ سنجی و توسط معرف فولین- دنیس[۲۳] انجام شد (۲۹). در این روش پس از رسم منحنی استاندارد، جذب محلول نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتری درطول موج ۷٦۰ nm خوانده شد و سپس درصد تانن محاسبه گردید. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت های مختلف محلول اسید تانیک استفاده شد. بدین ترتیب که در یک بالون ۱۰۰ میلی لیتری یک میلی لیتر از محلول استوک اسید تانیک را به همراه ۵ میلی لیتر معرف فولین ـ دنیس و ۱۰ میلی لیتر از محلول سدیم کربنات وارد نموده، با آب مقطر به حجم رسانده شد. در واقع غلظت اسید تانیک در محلول مذکور برابر با ۰/۱ میلی گرم در دسی لیتر است. با همین شیوه محلول حاوی اسید تانیک با غلظت های ۰/۲ تا ۱ میلی گرم در دسی لیتر تهیه گردید که پس از گذشت زمان ۳۰ دقیقه و کامل شدن واکنش در محلول می توان جذب محلول ها را در طول موج ذکر شده خواند و نمودار استاندارد را بر حسب جذب های خوانده شده از غلظت های مختلف اسید تانیک به دست آورد. لازم به ذکر است که رنگ محلول های تهیه شده آبی میگردد که بر حسب غلظت اسید تانیک موجود در آن شدت رنگ متفاوت است (۲۹).

برای تهیه محلول نمونه۱۰۰ میلی‌گرم از پودر بلوط پس از توزین برای استخراج و تعیین مقدار تانن داخل یک بشر ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد. ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر داغ نیز به آن افزوده شد. در این مرحله لازم است که بشر و محتویات آن به مدت چند دقیقه تکان داده شود. پس از آن محلول با کمک کاغذ صافی و قیف صاف گردید. کاغذ صافی و پودر باقی مانده روی آن با ۵ میلی لیتر آب داغ شستشو داده شد و محلول حاصل به محلول قبلی افزوده شد. حجم محلول حاصل در پایان به ۱۲ میلی‌لیتر رسید. سرانجام یک سی‌سی از آن برای تعیین مقدار تانن موجود در بلوط مورد استفاده قرار گرفت (۲۹).

۲-۲-۲: تعیین درصد ترکیبات موجود در اسانس سیاه دانه

ترکیبات اسانس سیاه دانه به کار برده شده در این تحقیق، در مطالعه قبلی با استفاده از GC و GC-MS مورد شناسایی قرار گرفته بود (۱۳).

۳-۲-۲: تعیین شاخص تورم در مورد دانه‌های شنبلیله

شاخص تورم، حجمی را به میلی لیتر نشان میدهد که یک گرم دارو بعد از جذب رطوبت پس از ٤ ساعت در یک محلول آبی ایجاد می نماید. یک گرم از پودر گیاه وارد یک مزور ۲۵ میلی لیتری گردیده و با یک میلی لیتر اتانل ۹٦ درجه مرطوب شد. سپس ۲۵ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. بعد از بستن در مزور به مدت یک ساعت و با فواصل ده دقیقه ای به شدت تکان داده شد. بعد از آن ۳ ساعت مزور به حال سکون باقی ماند. ۹۰ دقیقه بعد از شروع آزمایش قسمت اعظم بافت گیاهی شناور در سطح مزور با چرخاندن مزور به پهلو خارج می شود و در نهایت حجم موسیلاژ متورم شده از روی درجات مزور تعیین می شود. این آزمایش که در اکثر فارماکوپه های معتبر آمده است، به عنوان یک معیار مناسب برای گیاهان دارای موسیلاژ مطرح است. این آزمایش همزمان برای ۳ نمونه از پودر شنبلیله انجام شد (۱۹،۳۰).

عمل متورم شدن داروی گیاهی در اصل به علت وجود موسیلاژ انجام می پذیرد و موجب می گردد که با تعیین مقدار تورم آن، معیار بسیار خوبی برای ارزیابی این گونه گیاهان فراهم شود (۱۹).

[23] Folin Dennis

Archive of SID

www.SID.ir

۳-۲: فرمولاسیون پماد آنتی هموروئید

پایه انتخاب شده، پایه جاذب است که انتخاب اجزای فرمولاسیون آن با توجه به موضع مورد مصرف صورت گرفت.

در ابتدا چند فرمولاسیون اولیه برای انتخاب اجزای فرمولاسیون با استفاده از دیاگرام های سه تایی تهیه شد که پس از انجام آزمایش های مختلف فیزیکوشیمیایی پایدارترین آنها انتخاب گردید. مواد اولیه وازلین زرد، روغن زیتون، موم زرد، استئاریل الکل، کلسترول، عصاره بلوط، عصاره سیاه دانه و عصارهٔ شنبلیله در تهیه فرمولاسیون ها مورد استفاده قرار گرفتند. در ادامه مطالعه پنج فرمولاسیون مختلف با استفاده از اجزای مذکور تهیه و آزمایش های مختلف فیزیکوشیمیایی بر روی آنها انجام گرفت. درصدهای انتخاب شده برای عصاره ها میانگین مقادیر ذکر شده در منابع معتبر بود و مقادیر آنها در همه فرمولاسیون ها یکسان بود (جدول ۱).

روش تهیه پایه فرمولاسیون روش ذوب کردن بوده، ابتدا مواد نیمه جامد و جامد تشکیل دهنده پایه که شامل وازلین زرد، موم زرد و استئاریل الکل می باشد، ذوب شده و روغن زیتون نیز به مخلوط مذاب افزوده شد و دمای مخلوط مذاب به ۷۰ درجه سانتیگراد رسانده شد و کلسترول در این مخلوط مذاب حل گردید و سپس تا زمان رسیدن به دمای ٤٠ درجه سانتیگراد عمل همزدن ادامه یافت. در این مرحله عصاره‌های تغلیظ شده که به صورت نیمه جامد بودند هر یک به صورت جداگانه با مقداری از پایه به روش هندسی لویگه گردیده و به بقیه پایه افزوده شد و عمل مخلوط کردن تا یکنواخت شدن فراورده ادامه یافت و سپس فرمولاسیون تهیه شده در تیوب های ۱۵ گرمی مناسب بسته‌بندی گردید (۳۱).

٤-۲: روش کنترل فرمولاسیون ها

۱-٤-۲: یکنواختی فرمولاسیون ها

برای مطالعه یکنواختی فرمولاسیون ها، ٢٤ ساعت بعد از تهیه فرمولاسیون لایه نازکی از پماد بر روی لام قرار داده شد و یکنواختی فرمولاسیون در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به ترتیب ٤٨ ساعت بعد از زمان تهیه، یک هفته، یک ماه و سه ماه بعد نیز انجام شد. فراورده ای قابل قبول است که دارای پراکندگی و یکنواختی مناسب باشد (۲۸).

۲-٤-۲: بررسی فرمولاسیون ها از نظر عدم ایجاد کرمینگ و کوالسانس

پدیده کرمینگ به این مفهوم است که ذرات و قطرات معلق در امولسیون، در اثر نیروی ثقل به سمت بالا یا پایین حرکت می کنند. در صورتی که در کرمینگ لخته های سخت به وجود نیاید با به هم زدن، به راحتی به حالت اول خود بر می گردد. کوالسانس نیز به معنای پیوستن قطرات درشت است. این دو پدیده از علایم ناپایداری امولسیونها هستند. بدین علت بررسی فراورده ها از لحاظ ایجاد این دو حالت لازم به نظر می رسد (۲۸).

۳-٤-۲: پایداری در برابر نیروی گریز از مرکز

٤٨ ساعت بعد از تهیه فرمولاسیون ها، مقداری از پماد وارد یک لوله آزمایش به قطر ۱ و طول ۱۰ سانتی‌متر گردیده عمل سانتریفوژ با سرعت rpm ۲۰۰۰ بر روی آن انجام شد(۲۸). با توجه به اینکه فاصله مرکز سانتریفوژ تا وسط لوله آزمایش۱۲/۵ سانتی متر بود، لذا نیروی ثقل وارده به محتویات لوله آزمایش برابر با g ۵۵۹ بود که این بدان معنی است که نیروی وارده معادل ۵۵۹ برابر نیروی جاذبه در حالت عادی می باشد. پس از گذشت ۵ ، ۱۵، ۳۰ و ٦٠ دقیقه از زمان سانتریفوژ، پایداری فرمولاسیون های تهیه شده مورد بررسی قرار گرفت (۲۸).

٤-٤-۲:آزمایش تغییرات دمایی

برای بررسی پایداری فراورده ها در فصول مختلف و شرایط گوناگـــون آب وهوایی، از این آزمایش استفاده می شود. تغییرات دمایی با تسریع واکنش های داخلی فـــراورده ها، باعث کاهش پایداری می گردند لذا یک فرمولاسیون مطلوب باید بتواند در دوره های معین و در دماهای گوناگون کیفیت خود را از نظر خواص ارگانولپتیک مانند رنگ، بو، ویسکوزیته و یکنواختی حفظ نماید.

در این آزمایش، پس از رسیدن فرمولاسیون ها به تعادل، ۳ نمونه ۱۵ گرمی از هر فرمولاسیون انتخاب گردید. یکی از نمونه ها در دمای ٤ تا ٦ درجه سانتیگراد، دیگری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و سومی در دمای ٤٥ تا ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. بررسی فرمولاسیون ها از لحاظ خصوصیات ظاهری به ترتیب٢٤ ساعت، یک هفته، یک ماه و سه ماه بعد صورت گرفت(۲۸).

۵-٤-۲: آزمایش انجماد و ذوب شدن

هدف از انجام این آزمایش بررسی پایداری فرمولاسیون در سرمای شدید است. یک فرمولاسیون پایدار حتی در دمای انجماد نیز می تواندکیفیت خود را حفظ کند. به منظور انجام این آزمایش، فراورده در دوره های متوالی، در دمای انجماد و دمای محیط قرار می گیرد. در پایان، کیفیت فراورده از نظر عدم تغییر ظاهری و جدا شدن فازها بررسی میگردد. برای انجام این آزمایش مقدار ۱۵ گرم از هر فرمولاسیون پس از رسیدن به تعادل، در ٦ دوره متوالی هر یک شامل ٤٨ ساعت در دمای ۸- درجه سانتیگراد و ٤٨

Archive of SID

www.SID.ir

ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت و پس از پایان ٦ دوره ، کیفیت ظاهری فرمولاسیون ها بررسی گردید (۲۸).

٦-٤-۲: پایداری فرمولاسیون ها در برابر گرم و سرد شدن

این آزمایش بدین منظور صورت می‌گیرد که بتوان تحمل فرمولاسیون ها را در برابر تغییرات دمایی شدید مورد بررسی قرار داد. برای انجام این آزمایش مقدار ۱۵ گرم از هر فرمولاسیون ٤۸ ساعت بعد از تهیه فرمولاسیون ها داخل ظرف مناسب وارد و به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۵۰-٤۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از آن فرمولاسیون ها به مدت ٤۸ ساعت در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. این عمل برای هر فرمولاسیون ٦ بار تکرار گردید و پس از پایان ٦ دوره، کیفیت ظاهری فرمولاسیون ها بررسی گردید (۲۸).

۷-٤-۲:اندازه گیریpH فرمولاسیونها

بررسی فرمولاسیون ها از لحاظ تغییرات pH نیز حایز اهمیت می‌باشد. زیرا این تغییرات می‌تواند نشانه فعالیت عوامل قارچی یا میکروبی باشد که به نوعی سبب تخریب فرمولاسیون ها می‌شود. لذا pH فرمولاسیون ها طی یک دوره زمانی از ٤۸ ساعت بعد از تهیه آنها تا ۳ ماه بعد اندازه‌گیری گردید (۲۸).

۸-٤-۲:اندازه گیری عبور دارو از غشاء سنتتیک

به منظور اندازه گیری میزان عبور دارو از غشاء سنتتیک از جنس استات سلولز با قطر منافذ ۰/۱ میکرون و سلول انتشار فرانس به مدت ٦ ساعت استفاده شد. وزن نمونه مورد آزمایش (فاز دهنده) ۰/۵ گرم بوده و در طول این مدت دمای محیط بوسیله جریان آب در حدود ۳۷°C حفظ شد. در این آزمایش از آب خالص به عنوان فاز گیرنده استفاده شد (۳۲). ۲۸ میلی‌لیتر آب خالص به عنوان فاز گیرنده انتخاب و درهر بار۲ میلی‌لیتر از آن نمونه‌برداری شد و ۲ میلی لیتر آب خالص جایگزین آن شد. نمونه‌گیری از فاز گیرنده در زمانهای ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ٤، ۵ و ٦ ساعت انجام گرفت و غلظت داروی موجود در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد اسید تانیک و منظور کردن ضریب رقت انجام گرفت. برای محاسبه مقدار واقعی داروی آزاد شده، یک فاکتور تصحیح مورد استفاده قرار گرفت. این فاکتور تصحیح براساس رابطه زیر محاسبه شده و با افزودن عدد حاصل به مقدار ظاهری آزاد شده، مقدار حقیقی بدست آمد (۳۳).

$$C_n = C + \frac{C_{n-1}.V}{V_t}$$

C_n = غلظت حقیقی داروی آزاد شده در نمونه n

C= غلظت ظاهری داروی آزاد شده در نمونه n

C_{n-1}= غلظت حقیقی داروی آزاد شده در نمونه n-1

V= حجم نمونه

V_t= حجم کل محیط انحلال

۵-۲: نحوه تجزیه و تحلیل داده‌ها

آنالیز داده ها با استفاده ازنرم افزار SPSS، آزمون t-test و آزمون‌های ناپارامترهای من-ویتنی یا ویلکاکسون انجام گرفت.

۳- نتایج

۱-۳: استخراج و تغلیظ عصاره‌ها

در پایان عمل عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون و تغلیظ عصاره‌ها، از هر ۱۰۰ گرم بلوط، سیاه دانه و دانه شنبلیله به ترتیب ٤/۱±۲٦/۱، ۲/۱±۲۵/۵ و ۳/۵±۲۲/۳ گرم عصاره تغلیظ شده بدست آمد که برای استفاده در فرمولاسیونها در یخچال نگهداری شد.

۱-۱-۳: تعیین مقدار عصاره خشک

پس از خشک کردن عصاره‌ها، وزن عصاره خشک حاصل از ۱۰۰ گرم عصارهٔ بلوط، سیاه دانه و شنبلیله بعد از توزین، به ترتیب معادل ۲/۲±۱٦/۷ و ۱/۹± ۱۸/۸ و ۱/٤± ۱۵/۲ گرم به دست آمد.

۲-۱-۳: تعیین pH عصاره‌ها

pH عصاره‌های مورد استفاده در فرمولاسیونها به شرح جدول ۲ می باشد.

۳-۱-۳: تعیین مقدار تانن موجود در میوه بلوط

ابتدا برای تعیین غلظت تانن منحنی استاندارد اسید تانیک رسم گردید (نمودار ۱).

مقدار تانن موجود در ۱۰۰ میلی گرم پودر بلوط ۱۰/٦۲ میلی گرم می باشد.

٤-۱-۳: تعیین مقدار مواد موجود در اسانس سیاه دانه

ترکیبات اسانس سیاه دانه به کار برده شده در این تحقیق، در پژوهش قبلی با استفاده از GC و GC-MS مورد شناسایی و تعیین مقدار قرار گرفته بود(۱۳).

Archive of SID

www.SID.ir

۵-۱-۳: تعیین شاخص تورم

شاخص تورم برای دانه‌های شنبلیله مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و برابر با ۰/۳ ±۵/۶٪ بدست آمد.

۲-۳: کنترل فرمولاسیون‌ها

۱-۲-۳: یکنواختی فرمولاسیون‌ها

یکنواختی فرمولاسیون‌ها پس از تهیه، در زیرمیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت و هر ۵ فرمولاسیون توانستند تا پایان دوره سه ماهه یکنواختی خود را حفظ کنند.

۲-۲-۳: بررسی فرمولاسیون ها از نظر عدم ایجاد کرمینگ و کوالسانس

هر ۵ فرمولاسیون تهیه شده توانستند در طی سه ماه نگهداری در شرایط دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، کیفیت خود را به خوبی حفظ نمایند.

۳-۲-۳: پایداری در برابر نیروی گریز از مرکز

هر ۵ فرمولاسیون به خوبی توانستند پایداری خود را در برابر نیروی گریز از مرکز حفظ نمایند و در هیچ کدام جدا شدن فازها دیده نشد.

٤-۲-۳: نتایج آزمایش تغییرات دمایی

فرمولاسیون ها تا یک ماه پس از قرار گرفتن در دماهای گوناگون هیچ تغییری را نشان ندادند. در بررسی فرمولاسیون ها بعد از سه ماه ملاحظه گردید فرمولاسیون شماره ٤ اندکی تغییر رنگ و بو داده است .

۵-۲-۳: نتایج آزمایش انجماد وذوب شدن

بعد از انجام این آزمایش بر روی فرمولاسیون ها، تغییرات جزیی در فرمولاسیون شماره ٤ دیده شد. بقیه فرمولاسیون ها پایداری اولیه خود را حفظ نمودند.

٦-۲-۳: پایداری در برابر سرد و گرم شدن

پایداری همه فرمولاسیون ها پس ازتحمل ٦ دوره متوالی سرد و گرم شدن مناسب بود.

۷-۲-۳: نتایج حاصل از میزان عبور دارو از غشاء سنتتیک

این آزمایش به منظور اندازه‌گیری میزان تانن آزاد شده از پایه صورت گرفت. از نسبت دادن مقدار داروی عبور کرده از غشاء به کل داروی موجود در فرمولاسیون‌ها، درصد داروی آزاد شده محاسبه شد، که با رسم آن در مقابل زمان منحنی‌های مربوطه بدست آمد (نمودار ۲).

نتایج آزمون ANOVA در مورد اندازه‌گیری مقدار عبور دارو از غشاء در فرمولاسیون‌های مختلف نشان داد که بین ثابتهای آزادسازی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($P > ۰/۰۵$)

۳-۳: انتخاب فرمولاسیون برای مطالعات بالینی

در طی مراحل انجام آزمایشات پایداری و کنترل کیفی بر روی فرمولاسیون ها، فرمولاسیون شماره ٤ نتوانست پایداری مناسب مورد نیاز را از خود نشان دهد. بقیه فرمولاسیون ها پایداری مناسب لازم را از خود نشان دادند (جدول ۳). از بین ٤ فرمولاسیون تهیه شده پایدار، فرمولاسیون شماره ۳ به علت داشتن خصوصیات ارگانولپتیک مناسبتر ، برای مطالعات بالینی انتخاب گردید.

جدول ۱. مواد و مقادیر به کار رفته در فرمولاسیون ها

مواد (گرم)	فرمولاسیون۱	فرمولاسیون ۲	فرمولاسیون ۳	فرمولاسیون ٤	فرمولاسیون ۵
وازلین زرد	۳۵	۳۱	۳۵	۳۰	۳۲
روغن زیتون	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۲۵
موم زنبور عسل	۵	٤	٤	۳	٤
استئاریل الکل	۵	۵	۳	۳	٤/۵
کلسترول	۵	۵	۳	٤	٤/۵
عصاره بلوط	۷/۵	۷/۵	۷/۵	۷/۵	۷/۵
عصاره سیاه دانه	۷/۵	۷/۵	۷/۵	۷/۵	۷/۵
عصاره شنبلیله	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵

Archive of SID

www.SID.ir

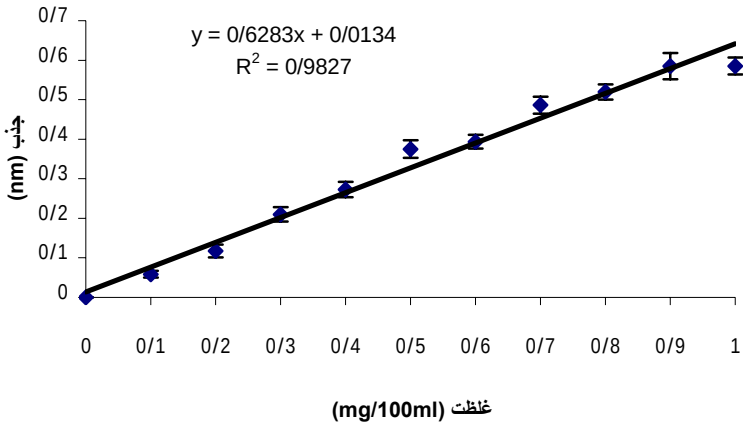
جدول ۲. تهیه pH عصاره ها

زمان	عصاره بلوط	عصاره سیاه‌دانه	عصاره شنبلیله
زمان تهیه	٦/٢±٠/٣	٦/٤±٠/٢	٦/١±٠/٢
٤٨ ساعت بعد	٦/٤±٠/٢	٦/٢±٠/٢	٦/١±٠/٣
یک هفته بعد	٦/٣±٠/٢	٦/٢±٠/٣	٦/١±٠/٣
یک ماه بعد	٦/٤±٠/٢	٦/٣±٠/٢	٦/١±٠/٢
سه ماه بعد	٦/٤±٠/١	٦/٣±٠/١	٦/٢±٠/٢

جدول۳. نتایج آزمایشات کنترل فرمولاسیون ها

نوع آزمایش	فرمولاسیون ۱	فرمولاسیون ۲	فرمولاسیون ۳	فرمولاسیون ٤	فرمولاسیون ٥
یکنواختی فراورده	+	+	+	+	+
کرمینگ وکوالسانس	+	+	+	+	+
نیروی گریز از مرکز	+	+	+	+	+
تغییرات دمایی	+	+	+	−	+
انجماد و ذوب شدن	+	+	+	−	+
گرم و سرد شدن	+	+	+	+	+

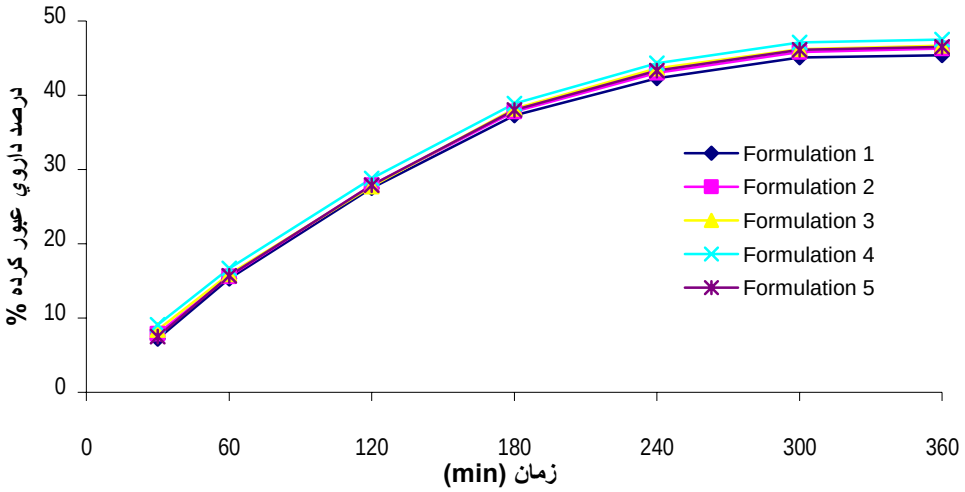
علامت مثبت (+) به مفهوم پایداری مناسب و علامت (ـ) به معنی تغییرات نامناسب میباشد.



نمودار ۱. منحنی استاندارد جذب غلظت تانن بر حسب اسید تانیک

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۲. مقدار داروی عبور کرده از غشاء سنتتیک بر حسب زمان برای فرمولاسیونهای مختلف

٤- بحث

قدمت استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماریها به سالیان نخست زندگی بشر بر می‌گردد که طی قرون متمادی، تکامل و توسعه یافته است. در کتب طب سنتی از خواص درمانی گیاهان زیادی صحبت شده که از جمله می‌توان بلوط، سیاه‌دانه و شنبلیله را نام برد.

بلوط حاوی مقادیر زیادی تانن و ترکیبات پلی‌فنلی است که مصرف موضعی آن بر روی مخاط اثر هموستاتیک دارد. همچنین به علت داشتن اثر قابض پوستی و بیحس کنندگی حایز اهمیت می‌باشد (١٦). نتایج حاصل از تحقیقات بر روی فراکسیون‌های مختلف سیاه‌دانه نشان می‌دهد که اثر ضد التهاب عصاره آبکی سیاه‌دانه در حیوان آزمایشگاهی تقریباً معادل آسپیرین (٣٤) و اثر ضد التهاب عصاره هیدروالکلی آن تقریباً معادل ایندومتاسین است (١٣). دانه‌های شنبلیله هم با داشتن درصد بالایی موسیلاژ اثر ضد التهاب و همچنین نرم کنندگی دارد (٣٧-٣٥).

براساس روش‌های ذکر شده تعیین مقدار مواد مؤثره موجود در هر گیاه انجام شد. با توجه به این که درصد تانن موجود در قسمت‌های مختلف بلوط براساس منابع ١٠ تا ٢٠ درصد گزارش شده است، تانن موجود در بلوط مورد استفاده در محدودهٔ مذکور قرار داشت (٣٠).

اندیس متورم شدن حاصله برای دانه‌های شنبلیله از لحاظ عددی با فارماکوپه گیاهی ایران مطابقت داشت (١٩). تیموکینون و ترکیبات دیگر موجود در اسانس سیاه دانه هم براساس تحقیقات قبلی گزارش شده که۱۳/۷ درصد بوده است (١٣).

اندازه‌گیری pH عصاره‌های بدست آمده نشان داد که با توجه به نزدیک بودن pH آنها به pH خنثی، عصاره ها برای وارد شدن در فرمولاسیون مورد نظر مناسب هستند. این در حالی است که pH ناحیه رکتوم نیز تقریباً خنثی می‌باشد (١).

براساس تحقیقات قبلی بهترین پایه مورد استفاده برای فرآورده‌های رکتال، پایه جذبی است. حجم مایع در ناحیه رکتوم حدود ٢ تا ٣ میلی‌لیتر است. به همین جهت فرآوردهٔ مورد استفاده نباید باعث احتباس آب در ناحیه مذکور گردد (٣٨)، در غیر این صورت پذیرش بیمار کاهش می‌یابد. با توجه به اینکه عصاره ها به صورت تغلیظ شده وارد پایه شده بودند انتظار می رفت مقدار آب موجود در فرمولاسیون ها بسیار کم باشد. نتایج آزمایش تعیین مقدار آب نیز این مساله را تایید کرد. روغن زیتون که در این فرمولاسیون به مقدار زیادی به کار رفته است، از قدیم الایام برای درمان هموروئید مرسوم بوده است(٣٩).

موم و استئاریل الکل در این فرمولاسیون به خاطر خاصیت قوام دهندگی و قدرت جذب آب مورد استفاده قرار گرفت. کلسترول نیز باعث افزایش قوام فرمولاسیون می‌گردد (٣٩). با تغییر درصد این مواد در فرمولاسیون قوام فرمولاسیون تغییر خواهد کرد. درصد عصاره‌های به کار رفته در تهیه فرمولاسیون ها با توجه به دوز درمانی آنها که در منابع ذکر شده انجام گرفت (١٩،٣٦،٣٧).

بعد از تهیه فرمولاسیون ها باید آزمایش هایی بر روی فراورده ها صورت گیرد و با در نظر گرفتن زمان طولانی

Archive of SID

www.SID.ir

مورد نیاز، این آزمایشات به صورت تسریع شده انجام شدند.

برای بررسی یکنواختی فرآورده از میکروسکوپ نوری استفاده شد. فراورده‌ای قابل قبول است که اولاً بر روی پوست ایجاد حالت زبری نکند و به صورت دانه های گرانولی نباشد، ثانیاً از لحاظ میکروسکوپی دارای پراکندگی مناسب باشد. در ضمن حباب هوا یا ذرات فولیکوله نیز در آن دیده نشود (۲۸).

پایداری فراورده در برابر نیروی گریز از مرکز نیز یکی از فاکتورهای تعیین کننده برای داشتن پایداری مناسب می‌باشد. در غیر این صورت احتمال دو یا چند فازی شدن فراورده طی گذشت زمان زیاد است (۲۸).

برای بررسی بیشتر فراورده آزمایش گرم و سرد شدن نیز انجام شد. هدف از انجام این آزمایش، بررسی پایداری فرمولاسیون در برابر تغییرات دمایی است. پماد فرموله شده علاوه بر پایداری در برابر آزمایشات فوق، توانست پایداری خود را در طی آزمایشات تغییر دما، انجماد و ذوب شدن به خوبی حفظ کند. تغییرات بسیار اندک pH طی یک دوره زمانی ۳ ماهه نیز نشان دهنده پایداری خوب فرآورده بود.

آزمایش دیگری که نتیجه آن در مورد پایداری فراورده اهمیت دارد بررسی فراورده ها از نظر عدم ایجاد کرمینگ و کوالسانس است. خوشبختانه در طی یک دوره ۳ ماهه این دو پدیده مشاهده نگردید.

انواع حاملهای مورد استفاده در مطالعه آزادسازی داروها شامل بافرفسفات، آب، اتانول، پروپیلن گلیکول و اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال می‌باشد(٤٠).

مقایسه پروفایلهای آزادسازی فرمولاسیونهای ۱، ۲، ۳، ٤ و ۵ نشان می دهد که پروفایلهای آزادسازی دارو تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشته ($P>0/05$) و الگوی آزاد سازی در همه فرمولاسیونها از مدل درجه یک پیروی کرده و بسیار به هم نزدیک است که به علت نزدیک بودن مقادیر مواد متشکله در فرمولاسیونها می باشد.

۵- نتیجه‌گیری

در مجموع، فرمولاسیون های تهیه شده پایداری خوبی در برابر شرایط آزمایش از خود نشان دادند و از ۵ فرمولاسیون تهیه شده ٤ فرمولاسیون کاملا پایدار بودند که از بین آنها فرمولاسیون شماره ۳ برای مطالعه بالینی انتخاب گردید.

References:

1. Burkitt H.G., Quick C.G., Gott D. Essential surgery.2th ed. Lea and Febiger, Sheffield, 1999: 2084-6.
2. Shi Z. Results of treatment hemorrhoid, Chin. J. Integrated Tradit. West Med., 1998, 18(4): 201-3.
3. Ho Y.H., Seow-Choen F., Low J.Y., Tan M., Leong AP. Randomized controlled trial of trimebutine (anal sphincter relaxant) for pain after haemorrhoidectomy, British Journal of surgery, 1997, 84(3): 377-94.
4. Sarabia M., Leon S., Vivas J., Lizarzabal M., Rangel R., Fernandez J. and et al. Calcium dobesilate versus purified flavonoid fraction of diosmin in the treatment of hemorrhoidal crises, Current Therapeutic Research, 2001, 62: 7-10.
5. Yohanson F.J. Nonsurgical treatment of hemorrhoids, Journal of Gastrointestinal Surgery, 2002, 6(3): 290-294.
6. Hep A., Robek O., Skricka T. Treatment of hemorrhoids from the viewpoint of the gastroenterologist, Personal experience with the ginkor fort preparation, Interi gastroenterologicka klinika., 2000 May, 46(5): 282-5.
7. Prakash P., Pralhad P., Nishikant J. Efficacy of an indigenous formulation in patients with bleeding piles: A preliminary clinical study, Fitoterapia. 2000, 71: 41-45.
8. Perrotti P., Antropoli C., Molino D., De Stefano G., Antropoli M. Conservative treatment of acute thrombosed external hemorrhoids with topical nifedipine, Disease of the Colon and Rectum, 2001, 44 (3): 405-9.
9. Briel J.W., Zimmerman D.D., Schouten W.R. Treatment of acute strangulated internal hemorrhoids by topical application of isosorbide dinitrate ointment, International Journal of Colorectal Disease, 2000, 15(4): 253-4.
10. Emami M.H., Sayyedyahossein S., Aslani A. Saffety and efficacy of new glyceryl trinitrate suppository formula: First double blind placebo-controlled clinical trial. Disease of the Colon and Rectum, 2008, 51(7): 1079-1083.
11. Cavcic J., Turcic J., Martinac P., Mestrovic T., Maladina R., Pezerovic-Panijan R. Comparison of topically applied 0.2% glycerin trinitrate ointment, incision and excision in the treatment of perianal thrombosis, Digestive and Liver Diseases, 2001, 33(4): 335-40.
12. Ghannadi A., Hajhashemi V., Jafarabadi H. An investigation of the analgesic and anti-inflammatory effects of *Nigella sativa* seed polyphenols, Journal of Medicinal Food, 2005, 8(4): 488-93.
13. Hajhashemi V., Ghannadi A., Jafarabadi H. Black cumin seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug, Phytotherapy Research, 2004, 18(3): 195-199.
14. Harborne J.B. The flavonoids, Chapman and Hall, New York, 1998: 303-6.

Archive of SID

www.SID.ir

15. Metfort I. Flavonol triglycosides from seeds of *Nigella Sativa* L. Phytochemistry, 1997, 46(2): 359-63.
16. Zargari A. Medicinal Plants. 5Th ed. Vol. 1, Tehran University Publications, 1991, 43-44, 63-72.
17. Murakami T., Kishi A., Matsuda H., Yoshikawa M. Medicinal food stuffs XVII. Fenugreek seed: Structures of new furostanol sort steroid saponins, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 2000, 48 (7): 994-1000.
18. Sauvaire Y., Ribes G., Baccou J.C., Loubatieeres-Mariani M.M. Implication of steroid saponins and sapogenins in the hypocholesterolemic effect of fenugreek, Lipids, 1991, 26: 191-197.
19. Iranian herbal pharmacopoeia. Ministry of Health and Medical Education Publications, Tehran, 2002, 8, 12, 413-467, 497-503.
20. Sabeti H. Forests, trees and shrubs of Iran. Yazd University Publications, Yazd, 1995, 575-584.
21. Sheu S.Y., Tsuang Y.H., Hsu F.L., Lu F.J., Chiang H.C. Superoxide anion scavenger effect of Quercus in whole blood of patient with ankylosing spondylitis, American Journal of Chinese Medicine, 1997, 25 (3-4): 707-15.
22. Evans W.C. Pharmacognosy. 14th ed. W. B. Saunders, London, 1996, 224-227.
23. Andrew C. The Encyclopedia of medicinal plants, First ed. Dorling Kindersley, London, 1996, 175.
24. Jeffery A. Chemical dictionary of economic plants, Wiley Editorial Office, New York, 2001, 109, 123, 127, 228.
25. Momeni T. Herbal extracts. Shahid Reza Publications, Tehran, 2000, 45-48.
26. David T.B., Levente L.D. Rapid aqueous extraction of mucilage from whole white mustard seed, Food Research International, 2000, 33: 347-56.
27. British pharmaceutical codex. The pharmaceutical press, London, 2001, 1783.
28. Poucher W.A. Poucher's perfum, cosmetics and soaps, Vol 3. Chapman and Hall, New York, 1993: 628-40.
29. Price M.L., Butller L.G. Rapid visual estimation and spectrophotomeric determination of tannin content of sorghum grain, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1997, 25(6): 1267-73.
30. World Health Organization, Quality control methods for medicinal plant materials. WHO Publication, Geneva, 1998, 45.
31. Aslani A. Formulation of pharmaceutical compounding products in the pharmacy. First ed. Isfahan University of Medical Sciences Publications, Isfahan, 2007, 42-50.
32. Shah V., Maibachh. Topical drug Bioavailability, Bioequivalence, and penetration, plenum press, New York, 1993, 113.
33. Sajjadi S.E., Aslani A., Peymani A. Formulation of topical glycyrrhetinic acid cream for treatment of psoriasis, Daneshvar, Shahed University, 2008, 72: 33-40.
34. Al-Ghamdi M.S. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic of *Nigella sativa* L., Journal of Ethnopharmacology, 2001, 76 (1): 45-8.
35. Oncina R., DelRio J.A., Gomez P., Ortuno A. Effect of ethylene on diosgenin accumulation in callus cultures of *Trigonella foenum-graecum* L., Food chemistry, 2002, 76: 475-9.
36. Leung A.Y., Foster S. Encyclopedia of common natural ingredients used in foods, drugs and cosmetics. 2th ed., John Wiley & Sons, New York, 1996, 243-5.
37. Duke J.A. CRC handbook of medicinal herbs, CRC Press, London, 1989, 490.
38. Sworbrick J., Boylan J. Encyclopedia of pharmaceutical technology, Marcel Dekker, New York, 1996, 13: 335-50.
39. Rowe R.C., Sheskey P.J., Weller P.J. Handbook of pharmaceutical excipients. Pharmaceutical Press, London, 2003, 155, 414, 417.
40. Adrangui M. Skin physiology and topical preparations. Ayneh Ketab Publications, 1990, 17-19, 24-27, 324, 338-345, 363-366, 374, 929-930.

Archive of SID

www.SID.ir