

بررسی اثرات توسط عصاره متانولی گیاه هیسوپیفولیا در اسهال القاء

شده با سروتونین و روغن کرچک در موش سوری

ایلیاد عیسی بیگلو^{۱*}، محمدتقی زاده^۲

چکیده

اسهال یکی از مشکلات دستگاه گوارشی است که به دلایل و بیماری‌های مختلفی ایجاد شده و عملکرد فرد را تحت الشعاع قرار می‌دهد. *L. hyssopifolia* گیاهی است که اثر ضد اسهالی آن در طب سنتی علی‌الخصوص در شبه قاره هند مورد تاکید قرار گرفته است. جهت اثبات اثر این گیاه، تمامی قسمت‌های خشک شده آن برای عصاره گیری سرد متوالی توسط ان-هگزان، اتیل استات و متانول مورد استفاده قرار گرفت. جهت مطالعه فعالیت ضد اسهالی با دادن روغن کرچک، ۶ گروه از موش‌های آلبینو، هر گروه متشکل از ۱۰ حیوان و ۳ گروه هر کدام متشکل از ۱۰ حیوان جهت فعالیت ضد اسهالی بر روی اسهال القاء شده توسط سروتونین و ۳۰ موش جهت تست تحرک دستگاه گوارش توسط سولفات باریوم مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد عصاره متانولی این گیاه که به اندازه ۱٪ از گیاه استخراج شده بوسیله کاهش تعداد دفعات اسهال در اسهال القاء شده توسط روغن کرچک و اسهال القاشده با سروتونین در موش‌های آزمایشگاهی در دوز بالای ۱۰۰ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با داروی استاندارد لوپرامید که در یک دوز ۶۶/۶۷ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به موش‌ها داده شده بود خاصیت ضد اسهالی چشمگیری از خود نشان داد. کاهش درصد دفعات اسهال به ترتیب به صورت ۵۶/۳۲ و ۸۹/۶۶ بعد از دادن روغن کرچک و ۵۹/۰۹ و ۸۶/۳۶ در اسهال القاشده توسط سروتونین در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg مشاهده شد. مشخص گردید که عصاره LHM حرکات دستگاه گوارش را در مقایسه با گروه شاهد به میزان ۵۳/۸٪ در دوز ۱۰۰ mg/kg کاهش می‌دهد در حالی که هیچ مهار قابل توجهی در دوز ۵۰ mg/kg از این عصاره در حرکت دستگاه گوارش دیده نشد. این نتایج نشان داد که عصاره در دوز ۱۰۰ mg/kg حرکات دستگاه گوارش را به میزان ۵۳/۸٪ نسبت به گروه شاهد کاهش می‌دهد که این رقم قابل مقایسه با داروی استاندارد لوپرامید است که باعث کاهش ۶۸/۸٪ حرکات دستگاه گوارش نسبت به گروه شاهد می‌شود.

واژگان کلیدی: هیسوپیفولیا، اسهال، روغن کرچک، سروتونین، موش سوری.

درصد قابل توجهی از کشورهای در حال توسعه برای درمان اسهال به داروهای گیاهی متکی هستند. با در نظر گرفتن این واقعیت، سازمان جهانی بهداشت یک برنامه کنترل بیماری‌های اسهالی را ترتیب داد که شامل مطالعات طب سنتی توام با بالا بردن آموزش بهداشت و راه‌های پیشگیری از آن بود (۴). در ادامه تلاش‌ها برای ارزیابی فعالیت‌های بیولوژیکی گیاهان دارویی طبیعی متفاوت تلاش بر آن بوده است تا پتانسیل ضد اسهالی گیاه *Ludwigia hyssopifolia* linn بررسی گردد. این گیاه یک گیاه یک ساله می‌باشد که به طور وسیعی در اکثر نقاط بنگلادش، هندوستان (به جز منطقه کویری غربی) و سریلانکا می‌روید (۶).

این گیاه به عنوان داروی قابض، ضد کرم، داروی ضد نفخ و مدر مورد توجه قرار گرفته است. جوشانده آن در اسهال، دیسانتری (اسهال خونی)، نفخ، به عنوان داروی خلط آور و رقیق کردن خون به کار می‌رود. برگ‌های این گیاه به عنوان مرهم یا ضماد در التهاب بیضه و غده های لنفاوی گردن به کار می‌رود (۱). یافته های آزمایشگاهی در مورد فعالیت ضد باکتریایی و ضد تومور عصاره الکلی گیاه توسط DAS و همکارانش گزارش شده است (۴).

مواد و روش کار

تمامی قسمت‌های گیاه توسط بخش هرباریوم گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز جمع‌آوری و تشخیص هویت داده شده است.

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۴ تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۱۹

مقدمه

بیماری‌های اسهال از عوامل مرگ و میر به خصوص در کودکان کشورهای در حال توسعه به شمار می‌رود (۳).

*- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده علوم پزشکی، گروه فارماکولوژی، تبریز، ایران.

Dr.e.issabegloo@gmail.com

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده علوم پزشکی، گروه پاتولوژی، تبریز، ایران.

روش عصاره گیری و آنالیز فیتوشیمیائی

پودر زبر و خشک شده گیاه (2 Kg) به صورت عصاره گیری پی در پی توسط فرایند عصاره گیری سرد توسط آن-هگزان، اتیل استات و متانول بدست آمده است.

آماده سازی محلول نمونه

ابتدا عصاره متانول (100mg) در نرمال سالین (4ml) به اضافه DMSO (1ml) حل گردید.

سپس محلول مورد نظر توسط نرمال سالین رقیق شد تا غلظت های مختلف 10mg/ml، 5mg/ml و 2/5 mg/ml از آن بدست آید. بنابراین دوزهای 50، 100، 200 و 400 میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تهیه شد و همچنین داروی استاندارد لوپرامید برای بدست آوردن دوز 66/67 mg/kg تدارک دیده شد.

مطالعه فعالیت ضد اسهالی با دادن روغن کرچک

6 گروه از موشهای bulb/c آلبینو، هر گروه متشکل از 10 حیوان، به منظور مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. گروه I به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد و برای آنها نرمال سالین استفاده گردید و در این حال گروه های II، III، IV و V به عنوان گروه های مورد آزمایش در نظر گرفته شدند و برای آنها عصاره متانولی این گیاه با دوزهای 400، 200، 100، 50 mg/kg استفاده گردید و برای گروه VI داروی ضد اسهال استاندارد لوپرامید خوراکی با دوز 66/67mg/kg وزن بدن داده شد.

درمان اولیه با عصاره به صورت خوراکی یک ساعت قبل از دادن دوز استاندارد 1ml روغن کرچک در واحد خوراکی انجام گرفت.

حیوانات در قفس های انفرادی قرار داده شدند و از حیث بروز اسهال ساعت به ساعت در طول 5 ساعت بعد از دادن روغن کرچک مورد آزمایش و مشاهده قرار گرفتند (9). اسهال به صورت ظاهر شدن مواد مایع در مدفوع حیوان تعبیر می شود که کاغذ جاذب زیر قفس ها را رنگی می کند. تعداد دفعات اسهال به صورت شمارش تعداد قطرات اندازه گیری شد و عدد

تجمعی دفعات اسهال تا پنجمین ساعت مطالعه محاسبه گردید.

مطالعه فعالیت ضد اسهالی بر روی اسهال القا شده توسط سروتونین (5-HT)

این روش اول بار توسط Shrotri و Yegnanarayan در سال 1982 به کار گرفته شده است (10). موش های bulb/c آلبینو ابتدا به وسیله دادن 600mg/kg سروتونین سولفات به صورت خوراکی غریبال شدند و حیواناتی که دچار اسهال شدند برای این مطالعه انتخاب گردیدند.

3 گروه هر کدام متشکل از 10 حیوان، برای مطالعه به کار گرفته شدند شد. گروه I به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد در حالیکه به گروه های II و III عصاره متانولی گیاه *L. hyssopifolia* در دوزهای (mg/kg) 200 و 400 به ازای وزن بدن داده شد.

پیش درمانی با عصاره، به صورت خوراکی و یک ساعت قبل از اینکه به موشها دوز استاندارد سروتونین داده شود انجام شد. حیوانات در قفس های انفرادی قرار داده شده و تعداد دفعات اسهال به صورت شمارش قطرات به صورت ساعتی اندازه گیری شد و عدد تجمعی دفعات اسهال تا چهارمین ساعت بعد از دادن سروتونین محاسبه گردید.

تست تحرک دستگاه گوارش توسط سولفات باریوم:

این آزمایش با استفاده از روش Chatterjee (2) با اندکی تغییرات انجام پذیرفت. محلول باریوم سولفات (به صورت 15٪ سولفات باریوم در 0/5٪ سدیم کربوکسی متیل سلولز) به گروه 15 تایی از موشها (هم گروه شاهد و هم گروه آزمایش) بعد از 10 دقیقه از تجویز عصاره مورد آزمایش، به صورت داخل صفاقی تجویز گردید. موش های تحت درمان به دو گروه تقسیم و بعد از 30 دقیقه از تجویز محلول سولفات باریوم کشته شدند.

مسافت پیموده شده توسط محلول سولفات باریوم اندازه گیری و به عنوان درصدی از طول کامل روده کوچک در نظر گرفته شد (از ناحیه پیلور تا دریچه ایلئوسکال). حرکات محتویات

Dragendorff این موضوع را تأیید می کند. فعالیت ضد اسهالی LHM توسط آزمایش استفاده از روغن کرچک (1 mg/ml) در موش آزمایشگاهی در دوزهای (mg/kg) ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ بررسی شد. نتیجه آزمایش (جدول ۱) نشان می دهد که عصاره LHM در یک دوز ۵۰ mg/kg فعالیت چشمگیر ضد اسهالی چندانی نشان نداد.

در دوز ۱۰۰ mg/kg نتیجه ای مشابه نتیجه بدست آمده از تاثیر داروی استاندارد لوپرامید در کاهش تعداد دفعات اسهال نشان داد. عصاره در دوزهای بالاتر از ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰، تعداد دفعات مدفوع را بیشتر از آنچه در مورد استفاده از داروی استاندارد لوپرامید بود کاهش داد.

دستگاه گوارش به صورت درصد میزان طی شده، محاسبه و با میزان گروه شاهد مقایسه گردید.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات:

بررسی یافته های آماری این مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام پذیرفت.

نتایج

عصاره متانولی گیاه *L. hyssopifolia* (LHM) به میزان ۱٪ تهیه گردید. به دلیل استفاده از این گیاه به صورت درمان سنتی اسهال، برای بررسی فعالیت ضد اسهالی، عصاره متانول مورد ارزیابی قرار گرفت.

غربالگری فیتو شیمیایی گیاه، حضور ترکیبات تریپتوئید و آلکالوئید را در عصاره مشخص کرد. به طوریکه لایه نازک کروماتوگرام آغشته به وانیلین سولفوریک اسید و معرف

جدول ۱- اثر ضد اسهالی عصاره متانولی *L. hyssopifolia* بر روی اسهال القاء شده توسط روغن کرچک در طول ۵ ساعت بعد از تجویز

گروه حیوانات	Dose	زمان شروع اسهال Mean ± SE (min)	عدد تجمعی ایزودهای اسهال Mean ± SE (min)	درصد مهار ایزودهای اسهال
شاهد	سالین	۳/۰۰±۲/۴۳	۱۷/۴۰±۲/۴۳	--
LHM	۵۰ mg/kg	۴/۲۰±۰/۸۸	۱۶/۴۰±۱/۱۵	۵/۷۵
LHM	۱۰۰ mg/kg	۷۳/۰±۲/۱۴	۱۳/۲۰±۰/۸۷	۲۴/۱۴
LHM	۲۰۰ mg/kg	۱۰۴/۲۰±۲/۴۴	۷/۶۰±۱/۸۰	۵۳/۳۲
LHM	۴۰۰ mg/kg	۱۴۰/۸۰±۳/۰۸	۱/۸۰±۰/۷۲*	۸۹/۶۶
LHM	۶۶/۶۷ μg/kg	۶۶/۶۰±۲/۹۴	۱۱/۰۰±۰/۹۴*	۳۶/۷۸

مقادیر به صورت Mean ± SE ارائه گردیده اند. * P<0.001

تجویز داروی استاندارد لوپرامید، شروع اسهال را ۶۶/۶۰±۲/۹۴ دقیقه نشان داد که کمتر از میزان مشاهده شده با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg از عصاره بود. عدد تجمعی بروز اسهال در بعد از پنجین ساعت مطالعه ۱۷/۴۰، ۱۶/۴۰، ۱۳/۲۰، ۷/۶۰، ۱/۸۰ و ۱۱/۰۰ برای گروه شاهد، ۵۰ mg/kg، ۱۰۰ mg/kg، ۲۰۰ mg/kg و ۴۰۰ mg/kg به ترتیب برای دوز عصاره و لوپرامید بودند.

در این مطالعه ظهور مواد مایع در مدفوع به عنوان دفعات اسهال مورد توجه قرار گرفت. شروع اسهال در گروه کنترل سریع بود (۳±۰/۳۲ دقیقه). همچنین در گروهی که تحت درمان با LHM با دوز ۵۰ mg/kg بود شروع اسهال با تاخیر مواجه بود (۴/۲۰±۰/۸۸ دقیقه). همچنین در گروههایی که دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg به آنها داده شده بود به ترتیب ۷۳±۲/۱۴، ۱۰۴/۲۰±۲/۴۴ و ۱۴۰/۸۰±۳/۰۸ دقیقه بود.

دیگر LHM برای فعالیت ضد اسهالی آن در اسهال القا شده توسط سروتونین ارزیابی شد به این صورت که برای این منظور، عصاره در دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg داده شد. عصاره در هر ۲ دوز به صورت معنی داری ($P < 0.001$) کاهش در تعداد دفعات اسهال در مقایسه با گروه شاهد را نشان داد.

مقادیر کاهش یافته در ساعات متفاوت مطالعه، فعالیت ضد اسهالی خوبی از عصاره را در هر دو دوز نشان می دهد (جدول ۲). بعد از چهارمین ساعت آزمایش، مقادیر تجمعی بروز اسهال برای گروه شاهد به صورت ۴/۴، ۱/۸ و ۰/۶ به ترتیب برای گروه شاهد، دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg از عصاره بود.

درصد مهار دفعات تجمعی مدفوع اسهالی بوسیله عصاره، به صورت ۵/۷۵، ۲۴/۱۴، ۵۶/۳۲، ۸۹/۶۶ و ۳۶/۷۸ به ترتیب برای دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ mg/kg از عصاره و داروی استاندارد لوپرامید بود.

نتایج نشان می دهد که عصاره متانولی گیاه *L. hyssopifolia* تاثیر بسزایی در کنترل اسهال ناشی از روغن کرچک در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg داشته است. ولی تاثیر متوسطی از این حیث در دوز ۱۰۰ mg/kg دارا بود.

همچنین مشخص شد که عصاره در دوز ۵۰ mg/kg تاثیری بر اثر ضد اسهالی ناشی از روغن کرچک ندارد. از طرف

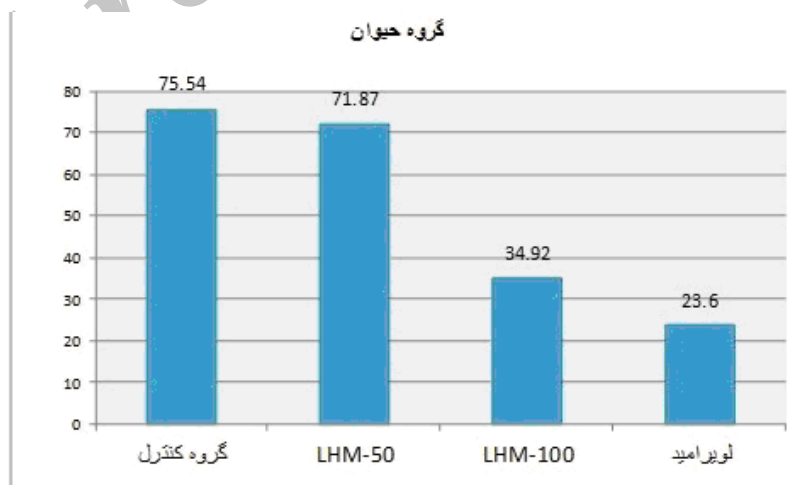
جدول ۲- اثر ضد اسهالی عصاره متانولی *L. hyssopifolia* بر روی اسهال القاء شده توسط سروتونین در طول ۴ ساعت بعد از تجویز

گروه حیوانات	Dose (mg/kg)	عدد تجمعی ایزودهای اسهال Mean ± SE (min)	درصد مهار ایزودهای اسهال
شاهد	سالین	۴/۴۰ ± ۰/۴۶	--
LHM	۲۰۰	۱/۸۰ ± ۰/۵۹ *	۵۹/۰۹
LHM	۴۰۰	۰/۶۰ ± ۰/۲۲ *	۸۶/۳۶

* $P < 0.001$ مقادیر به صورت Mean ± SE ارائه گردیده اند.

سولفات باریوم، ۷۵/۵۴٪ از مجرای گوارشی را در طول مدت زمان ۳۰ دقیقه در گروه شاهد طی می کند.

در قسمت دیگر آزمایشات، تاثیرات LHM بر حرکات دستگاه گوارش در موش های آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این آزمایشات (نمودار ۱) نشان داد که محلول



نمودار ۱- تاثیر عصاره گیاه هیسوپیفولیا بر حرکات دستگاه گوارش

در مخاط دستگاه گوارش قرار دارد و هنگامیکه توسط یک آگونیست فعال می شود سبب اسهال می گردد (۷). بنابراین مطالعات فیتو شیمیایی بیشتر نیاز می باشد تا اجزای دارای خاصیت ضد اسهالی عصاره از آن جدا شود تا نحوه دقیق فعالیت ضد اسهالی گیاه مشخص شود.

REFERENCES

1. Ambasta, S.P. (1986): The Useful Plants of India, Publications and Directorate, CSIR, New Delhi, P: 305.
2. Chatterjee, T.K. (1993): Handbook on Laboratory Mice and Rats (1st edition), Department of Pharmaceutical Technology, Jadavpur University, Kolkata. P: 157.
3. Das, A.K., Mandal, S.C., Banerjee, S.K., Sinha, S., Das, J., Saha, B.P. and Pal, M. (1999): Studies of antidiarrheal activity of Punica granatum seed extracts. J. Ethnopharmacol. 68: 205-208.
4. Das, B., Bachar, S.C., Kundu, J.K. (2002): Evaluation of Antitumor and Antibacterial Activity of Ludwigia Hyssopifolia Linn. Bang J. Bot. 31(1): 15-18.
5. Goodman, A., Gillman, A. (1996): The Pharmacological Basis of Therapeutics. (9 Edition). Macmillan Publishers. New York. P: 924-926.
6. Hooker, J.D. (1973): Flora of British India, Periodical Book Agency, New Delhi. P: 588-589.
7. Huq, A.M. (1986): Name Changes in Bangladesh Angiosperms. Bangladesh National Herbarium, BARC, Dhaka. P: 56.
8. Mycek, M.J., Harvey, R.A., Champe, P.C. (1997): Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology (2nd Edition), Lippincott-Raven Publishers, New York. P: 40.
9. Nwodo, O.F.C., Alumanah, E.O. (1991): Studies on Abrus Precatorius Seeds.II: Antidiarrhoeal activity. J. Ethnopharmacol. 31(3): 391-395.
10. Yegnanarayan, R., Shrotri, D.S. (1982): Comparison of antidiarrheal activity of some drugs in experimental diarrhea. Ind J. Pharmacol. 14(4): 293-299.

پیش روی محتویات دستگاه گوارش به صورت ۰/۷۱/۸۷، ۰/۳۴/۹۲، ۰/۳۰/۶۰ از طول مجرای گوارش بعد از ۳۰ دقیقه از تجویز عصاره LHM با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg (به ترتیب) و داروی استاندارد لوپرامید در دوز ۶۶/۶۷ mg/kg بود.

بحث

این نتایج نشان داد که عصاره در دوز ۱۰۰ mg/kg حرکات دستگاه گوارش را به میزان ۵۳/۸٪ نسبت به گروه شاهد کاهش می دهد که این رقم قابل مقایسه با داروی استاندارد لوپرامید است که باعث کاهش ۶۸/۸٪ حرکات دستگاه گوارش نسبت به گروه شاهد می شود.

به هر حال عصاره در دوز ۵۰ mg/kg هیچ تاثیر مهاری در حرکات محتویات دستگاه گوارش از خود نشان نمی دهد. علی رغم اینکه مشخص شده که عصاره، دفعات اسهال ناشی از روغن کرچک و سروتونین را کاهش می دهد ولی مکانیسم فعالیت ضد اسهالی آن نامشخص است.

به دلیل اینکه روغن کرچک بوسیله جلوگیری از جذب آب و الکترولیت ها سبب اسهال می شود و بنابراین سبب افزایش در حرکات گوارشی می گردد (۵)؛ یکی از مکانیسم های محتمل فعالیت ضد اسهالی عصاره مورد آزمایش (LHM) ممکن است توانایی آن در افزایش جذب مایع و الکترولیت ها درون دستگاه گوارش باشد.

به خاطر اینکه تحریک کولینرژیک بوسیله افزایش حرکات دستگاه گوارش اغلب سبب اسهال می شود (۸)؛ مهار چشمگیر حرکات دستگاه گوارش توسط عصاره LHM باعث جلوگیری از انتقال کولینرژیک می شود و یا اثر آنتی کولینرژیک آن را روی مخاط دستگاه گوارش نمایان می سازد. در کنار این مسئله، احتمالاً عصاره تحت بررسی ممکن است محتوی اجزای مشخصی باشد که دارای خاصیت چسبندگی به گیرنده های μ (مو) باشند که یک گیرنده اپیوئیدی بوده و