

بررسی اثر مهارى اسانس زیره کوهی (*Bunium persicum* Boiss) بر اسهال ایجاد شده با

روغن کرچک

قادر جلیل زاده‌امین^{۱*}، حسین نبی زاده^۲، مسعود مهام^۳

خلاصه

مقدمه: زیره کوهی، از خانواده *Apiaceae* و میوه آن حاوی مقادیر زیادی روغن فرار می‌باشد که در طب سنتی به عنوان یک گیاه دارویی و بومی استفاده می‌شود. روش: اسانس زیره کوهی توسط دستگاه کلونجر با استفاده از روش تقطیر با آب استخراج گردید. میزان دوز کشنده ۵۰ درصد (LD₅₀ یا Lethal dose, 50%) بر اساس روش لورک تعیین شد. تأثیر اسانس با دوزهای مختلف (۸۰-۲۰ mg/kg)، بر روی زمان عبور مواد و اسهال القا شده با روغن کرچک بر روی موش‌های صحرایی با دامنه وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم از هر دو جنس ارزیابی گردید. یافته‌ها: مقدار LD₅₀ برابر با ۳۷۵ mg/kg محاسبه گردید. تغییرات رفتاری مربوط به مسمومیت در این دسته از حیوانات، شامل عدم تعادل، کاهش فعالیت حرکتی یا جابه‌جایی، عدم تحرک، تنفس سطحی و سریع و زمین‌گیری جانبی بود. دوز ۲۰ mg/kg در مقایسه با آتروپین، باعث مهار بیشتر و دوز ۴۰ mg/kg اثراتی مشابه با آتروپین ایجاد کرد. تأثیر دوزهای اشاره شده به لحاظ آماری $P < 0/05$ معنی‌دار بود. تأثیر اسانس به همراه آتروپین، به مقدار ناچیزی افزایش می‌یابد. اسانس زیره (۸۰ و ۲۰) به شکل وابسته به دوز، معیارهای مربوط به اسهال را تخفیف می‌دهد و به طور واضحی، در برابر اسهال القا شده محافظت می‌نماید. حداکثر اثر اسانس، شبیه لوپرامید بود که به عنوان مؤثرترین و پر کاربردترین داروی ضد اسهال مصرف می‌گردد. نتیجه‌گیری: یافته‌های اولیه این تحقیق نشان می‌دهد که اسانس این گیاه، دارای مواد بیولوژیکی فعال است که باعث بروز اثرات ضد اسپاسمی و ضد اسهالی می‌شود و مؤید استفاده از این گیاه در طب سنتی برای رفع مشکلات گوارشی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: حرکات، روغن کرچک، گیاهان دارویی، زیره کوهی، اسهال

۱- استادیار، بخش بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه ۲- دانش‌آموخته، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه ۳- دانشیار، بخش

بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

* نویسنده مسؤل، آدرس پست الکترونیک: g.jalilzadeh@urmia.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱۱/۳۰ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۲/۴/۲۲ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۵/۹

مقدمه

خانواده چتریان (Apiaceae) تعلق دارد و در ایران در مناطق با آب و هوای گرمسیری به صورت وحشی می‌روید، اما با توجه به اهمیت این گیاه در طب سنتی، امروزه یکی از تولیدات مهم کشاورزی و اقتصادی در این مناطق به شمار می‌آید. بذر این گیاه غنی از اسانس است و به طور وسیعی به عنوان ادویه استفاده می‌گردد. این گیاه در طب سنتی در موارد ضد گرفتگی عضلات، بادشکن، اشتهاآور، خلط‌آور، افزایش دهنده ترشح شیر و طعم دهنده در صنایع غذایی مورد مصرف قرار می‌گیرد (۴). دیگر خواص دارویی زیره شامل اثرات ضد سرطانی، مهار کننده رشد باکتری، کاهش دهنده قند خون، ضد نفخ، محرک، اشتهاآور، قابض و طعم دهنده می‌باشد و همچنین در درمان موارد اسهال و اختلالات هضمی، مفید ذکر شده است (۳).

از ترکیبات عمده و مهم این گیاه، می‌توان به لیمونین، ساینین، کاروون، کاروئول، فلاونوئیدها، پلی ساکاریدها، کومارین، کومین آلدئید، دی هیدرو کاروئول، پنین ترین اشاره نمود (۵). اثرات ضد قارچی (۶) و ضد میکروبی (۷) ترکیبات موجود در اسانس زیره کوهی اثبات گردیده است. همچنین در مطالعات قبلی توسط همین تیم بعد از تجزیه و شناسایی ترکیبات موجود در اسانس، تأثیر شل کنندگی آن بر روی عضلات صاف شکمبه و شیردان در گوسفند و روده موش صحرایی به صورت برون زیستی (*In vitro*) ارزیابی شده است (۸). بنابراین، در ادامه بررسی‌ها با در نظر گرفتن نتایج پیشین و با توجه به گرایش روزافزون در سراسر دنیا به سمت طب گیاهی و نیز مصرف سنتی زیره کوهی به عنوان آرام بخش دردهای گوارشی، در این پژوهش تأثیر اسانس گیاه بر روی حرکات روده‌ای و اسهال، به صورت درون زیستی (*In vivo*) مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

آماده‌سازی گیاه و تهیه اسانس

دانه‌های گیاه زیره کوهی که در معرض هوا و در محل سایه خشک شده بودند، در تابستان ۱۳۸۹ از شهر زنند استان کرمان تهیه گردید. گیاه مورد استفاده در واحد

حرکات دستگاه گوارشی به عنوان یک فعالیت حرکتی در دستگاه هضمی می‌باشند که باعث مخلوط شدن مواد غذایی با شیره هضمی می‌شوند و منجر به عبور دایمی محتویات داخل لومنی در دستگاه گوارشی می‌گردند. مشکلات ناشی از مختل شدن حرکات این دستگاه و اختلالات عملکردی آن به صورت درد شکمی، اسهال، استفراغ، تهوع و سوء هضم و یا یبوست دنبال می‌گردد. شیوع این نوع از اختلالات، در جوامع پیشرفته هم مشکل عمده‌ای محسوب می‌گردد؛ به طوری که طبق آمار، بیش از ۲۵ درصد از جامعه آمریکا را متأثر کرده است و در حالت کلی این اختلالات در حدود ۴۰ درصد از مشکلات دستگاه گوارشی را در بر می‌گیرد (۱).

در بحث اختلالات گوارشی، اسهال یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی - درمانی به خصوص در کودکان انسان و یکی از شایع‌ترین علل مرگ و میر کودکان می‌باشد. در ایران، دومین علت مرگ کودکان بعد از عفونت‌های تنفسی، اسهال می‌باشد. اسهال، در بین نوزادان دام‌های اهلی نیز به طور دقیق، مشابه اسهال کودکان در جوامع انسانی و نیازمند توجه هر چه بیشتر می‌باشد. اسهال طولانی مدت و کشنده، می‌تواند باعث از دست رفتن سریع آب شود، به این معنی که بدن مایعات کافی برای عملکرد طبیعی را از دست می‌دهد که همین می‌تواند عوارض جبران ناپذیری را به خصوص برای بچه‌ها و افراد مسن ایجاد نماید. بنابراین، اقدامات درمانی باید سریع اعمال شود (۲).

هر چند از داروهای صنعتی مختلفی برای درمان اسهال و اختلالات مشابه استفاده می‌گردد، اما امروزه یک رویکرد روزافزون، نسبت به بهره‌گیری از طب سنتی و گیاهان دارویی موجود در این زمینه مشاهده می‌گردد. یکی از گیاهان دارویی ایران که بدین منظور استفاده می‌شود، زیره کوهی می‌باشد (۳) که به لحاظ سهولت دسترسی نسبت به داروهای صنعتی، جایگزین بسیار مناسبی محسوب می‌گردد.

زیره کرمانی یا زیره کوهی وحشی (*Bunium persicum Boiss*) یک گیاه دارویی می‌باشد که به

هر گروه، پنج سر حیوان در نظر گرفته شد و حیوانات به مدت چهارده روز تحت نظر بودند.

روش بررسی ترانزیت مواد در دستگاه گوارش موش‌های صحرایی ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش‌ها از غذا محروم شدند؛ اما دسترسی نامحدود به آب داشتند (۱۱). در بررسی زمان عبور مواد به گروه اول توین، گروه دوم تا پنجم اسانس با دوزهای ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ mg/kg گروه ششم آتروپین (۰/۱ mg/kg) به طور داخل صفاقی به عنوان گروه شاهد مثبت و در گروه هفتم جهت بررسی مکانیسم اثر سیستم کولینرژیک و اسانس، ابتدا آتروپین و سپس دوز ۸۰ mg/kg اسانس تجویز گردید.

نیم ساعت بعد، ۱/۵ میلی‌لیتر خوراک زغال (سوسپانسیون ۱۰ درصد زغال فعال با ۵ درصد صمغ عربی) به موش‌های تمام گروه‌ها خوراندند (۱۲) و بعد نیم ساعت، حیوانات با روش آسان‌کشی کشته شدند. سپس به طور سریع، محوطه شکمی باز گردید و کل دستگاه گوارشی بیرون آورده شد. تمام طول روده‌ها به دقت معاینه شد و بعد از ثبت اندازه کل روده‌ها از انتهای پیلور تا ابتدای دریچه ایلئوسکال، مسیر طی شده توسط زغال فعال با استفاده از متر مخصوص اندازه‌گیری و به صورت درصدی از کل طول روده‌های کوچک ثبت گردید.

$$100 \times (A/B) = \text{درصد ترانزیت}$$

A: مسیر طی شده توسط زغال در داخل روده کوچک

B: طول کلی روده کوچک

روش بررسی تأثیر اسانس بر روی اسهال القایی جهت بررسی تأثیر اسانس بر روی اسهال القاشده توسط روغن کرچک (Caster oil) در رت‌ها، از چهار گروه شش‌تایی استفاده گردید. موش‌های مورد استفاده در این پروتکل، از قبل به مدت ۲۴ ساعت محروم از غذا بودند و دسترسی آزاد به آب داشتند:

گروه اول: تجویز توین ۲ درصد به صورت خوراکی (گروه شاهد)، گروه دوم: تجویز خوراکی اسانس (mg/kg) ۲۰، گروه سوم: تجویز خوراکی اسانس (mg/kg) ۸۰، گروه

تاکسونومی بخش بیولوژی گیاهی در دانشکده علوم پایه دانشگاه تربیت مدرس شناسایی گردید. یک نمونه با شماره هرباریومی (۳۹۶۴۷) نگهداری شد.

جهت اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب، مقدار ۱۰۰ گرم از بذرها در داخل دستگاه کلونجر به مدت ۳/۵ ساعت قرار داده شد. ابتدا آب همراه اسانس به دست آمده جدا گردید (۸). در راستای محافظت اسانس در برابر نور، روغن فرار تهیه شده در بطری شیشه‌ای سیاه رنگ در داخل یخچال در دمای ۴°C نگهداری شد. از آن جایی که توین ۸۰ در غلظت ۲ درصد، انتشار اسانس را در محیط آبی تسهیل می‌کند (۹)، در تمامی مراحل، اسانس زیره کوهی ابتدا در محلول ۲ درصد توین ۸۰ رقیق شد و در مقادیر مورد نظر به حیوانات خوراندند.

آماده‌سازی حیوانات

موش‌های صحرایی بالغ نژاد ویستار (Wistar) با محدوده وزنی ۱۷۰-۲۰۰ گرم از هر دو جنس نر و ماده از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در کلینیک تخصصی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. حیوانات تحت شرایط محیطی استاندارد و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری می‌شدند. روش کار این تحقیق توسط کمیته اخلاقی استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در دانشکده دامپزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه مورد تأیید قرار گرفت.

روش تعیین مقدار میزان دوز کشنده ۵۰ درصد (Lethal dose, 50%) یا LD₅₀ برای اسانس زیره

مقدار LD₅₀ با استفاده از یکی از متداول‌ترین روش‌ها یعنی روش لورک محاسبه گردید (۱۰). تعیین LD₅₀ در این روش، در دو مرحله انجام می‌شود. در مرحله اول، دوزهای ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان تجویز گردید. بر اساس نتایج به دست آمده از مرحله اول، از دوزهای ۱۶۰۰، ۲۹۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، برای انجام مرحله دوم انتخاب شد. در

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷/۰ انجام گرفت و نتایج آزمایش‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ گزارش گردید. مقدار $P < 0/05$ بین گروه‌های مورد آزمایش از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد. ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها ارزیابی گردید. برای مقایسه میانگین داده‌ها، آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way-ANOVA) و پس از آن آزمون Dunnett برای مقایسه تفاوت بین گروه‌های اسانس (با غلظت متفاوت) و گروه شاهد (توین ۲ درصد) به کار گرفته شد.

نتایج

اسانس‌گیری

بازده اسانس حاصل از بذر گیاه *Bunium persicum* Boiss. تهیه شده از شهر زرنده استان کرمان ۴/۶ درصد بود. اسانس با رنگ زرد طلایی و بوی خیلی تند و اختصاصی گیاه زیره بود.

تعیین مقدار LD_{50} و بررسی مسمومیت حاد با اسانس زیره مقدار LD_{50} با استفاده از روش لورک محاسبه گردید. مقدار LD_{50} در این روش، برای اسانس زیره مورد بررسی به میزان ۳۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن گزارش می‌گردد. مشاهدات نشان داد که تزریق محلول ۲ درصد توین ۸۰ در موش‌های مورد مطالعه، هیچ نوع تغییر رفتار قابل توجهی را ایجاد نکرد. تمامی موش‌های مسموم شده با دوزهای ۱۰۰۰، ۷۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در فاصله زمانی ۸-۲ ساعت بعد از تزریق اسانس، تلف شدند. تغییرات رفتاری در این دسته از حیوانات شامل عدم تعادل، کاهش فعالیت حرکتی یا جابه‌جایی، عدم تحرک، تنفس سطحی و سریع و زمین‌گیری جانبی مشاهده گردید و در نهایت، با عدم پاسخ به واکنش Righting (Righting reflex test) دنبال می‌شد. در دو مورد از موش‌های مربوط به گروهی که بالاترین دوز مسمومیت را تجربه کرده بودند، مایع زرد رنگی از دهان و بینی ریزش پیدا کرد. در گروه مسموم

چهارم: تجویز لوپرامید ($3/0 \text{ mg/kg}$) به صورت خوراکی (گروه شاهد مثبت) که یک ساعت بعد از تجویز داروها و دوزهای مختلف اسانس، تمامی حیوانات مورد آزمایش در این پروتکل، کاستر اوایل را در حجم ۲ میلی‌لیتر به صورت خوراکی دریافت کردند. بعد از القای اسهال، حیوانات به مدت چهار ساعت در داخل قفس‌های با کف توری و دارای کاغذ سفید در زیر آن، به صورت انفرادی تحت نظر قرار گرفتند.

ابتدا، زمان شروع اسهال برای هر کدام از موش‌ها ثبت شد و در ادامه، معیارهای زیر در دوره چهار ساعته هر ساعت یک بار مورد ارزیابی قرار گرفت: نمره اسهال بر اساس قوام مدفوع دفع شده (درجه یک: قوام طبیعی، درجه دو: کمی شل‌تر از قوام طبیعی (خمیری)، درجه سه: بدون قوام (اسهال شدید)، تعداد فضله (مدفوع موش)، وزن مدفوع دفع شده (۱۳).

بررسی تأثیر اسانس بر روی تجمع مایعات در اسهال القا شده توسط کاستر اوایل (Castor oil induced fluid accumulation)

در این روش، از چهار گروه شش‌تایی موش استفاده شد. یک ساعت بعد از تجویز داروها و دوزهای مختلف اسانس، تمامی حیوانات مورد آزمایش در این پروتکل کاستر اوایل همراه با زغال فعال ۵ درصد در حجم ۲ میلی‌لیتر را به صورت خوراکی دریافت کردند. بعد از گذشت نیم ساعت از القای اسهال، حیوانات با روش آسان‌کشی کشته شدند، محوطه شکمی باز و کل دستگاه گوارشی استخراج شد. طول کل روده کوچک و مسیر طی شده توسط زغال فعال اندازه‌گیری گردید.

برای ارزیابی حجم مایعات مترشحه در داخل روده‌ها، بعد از بیرون آوردن دستگاه گوارش، دو لیگاتور یکی در محل اسفنکتر پیلور و دیگری در محل اتصال ایلئوم به سکوم کار گذاشته شد و بعد از جدا نمودن از سایر قسمت‌های لوله گوارشی، محتویات روده به درون لوله مدرج سانتی‌فیوژ، تخلیه و حجم آن‌ها اندازه‌گیری شد (۱۴).

که دوز ۲۰ mg/kg در مقایسه با آتروپین، باعث مهار بیشتر ترانزیت مواد در دستگاه گوارشی شده است. این در حالی است که دوز ۴۰ mg/kg به طور تقریبی اثراتی مشابه با آتروپین ایجاد کرده است. تأثیر دوزهای اشاره شده به لحاظ آماری $P < 0/05$ معنی دار بود.

این روند کاهشی یعنی کاهش اثر مهاری با افزایش دوز مورد استفاده تا مرز ۸۰ mg/kg به شکل وابسته به دوز ادامه داشت تا این که در دوز ۸۰ mg/kg مشاهده شد که اثر مهاری بر روی حرکات، خیلی کمتر از اثر مهاری آتروپین می باشد؛ این اثر در مقایسه با گروه شاهد، معنی دار نبود ($P < 0/05$). همچنین مشخص گردید که اسانس در همراهی با آتروپین میزان مهار بیشتری در مقایسه با استفاده اسانس به تنهایی ایجاد می کند (جدول ۱).

در حالی که ترکیب اسانس با آتروپین، اثر مهار کنندگی کمتری نسبت به آتروپین نشان داد؛ البته هیچ کدام از اثرات اشاره شده، از لحاظ آماری معنی دار نبودند ($P < 0/05$).

شده با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به جای تنفس سطحی و سریع، تنفس عمیق مشاهده گردید. تنها یک سر از حیوانات گروه دریافت کننده ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس، در طی آزمایش تلف شد و در سایرین نشانه های بالینی همچون بروز اسهال، کاهش فعالیت، تنفس سطحی، تشنج و زمین گیری جانبی دیده شد که البته این نشانه ها در همان چند ساعت اول، خودبه خود از بین رفتند. هیچ کدام از موش های دریافت کننده ۱۲۵ mg/kg از اسانس زیره، در طی چهار روز تحت نظر بودن، تلف نشدند و تنها نشانه بالینی، اسهال ملایمی بود که در همان اوایل مشاهده گردید.

بررسی ترانزیت مواد در دستگاه گوارش

تأثیر اسانس زیره کوهی بر روی عبور مواد داخل دستگاه گوارشی با استفاده از خوردن خوراک زغال به موش های صحرایی که ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش ها از غذا محروم شدند و دسترسی نامحدود به آب داشتند، انجام گرفت. نتایج نشان داد که تأثیر اسانس در دوزهای پایین تر به شکل مهاری نمایان گردیده است (نمودار ۱)؛ به طوری

نمودار ۱. تأثیر اسانس زیره کوهی بر روی میزان عبور معده - روده ای یک وعده خوراک زغال در موش صحرایی را نشان می دهد. نتایج



* $P < 0/05$ بین گروه های مورد آزمایش در مقایسه با گروه شاهد، از نظر آماری معنی دار تلقی شده است.

تأثیر اسانس بر روی اسهال القایی با کاستر اوایل

در مورد زمان وقوع و شروع اسهال، نتایج نشان داد که در تمامی تیمارهای مورد بررسی در طی ساعت اول اسهالی مشاهده نگردید. در چهار ساعت بعدی، فقط اسانس با دوز ۸۰ mg/kg توانست محافظت صد درصدی در برابر القای اسهال داشته باشد (جدول ۲). با توجه به اعداد به دست آمده، در گروه دریافت کننده اسانس ۲۰ mg/kg، اسهال دیرتر (دقیقه ۱۷/۵۱ ± ۱۱۵/۱۶) از گروه شاهد (دقیقه ۸/۴۶ ± ۱۰۳/۶۶) شروع می‌گردد؛ اما این تفاوت معنی دار نمی‌باشد (P < ۰/۰۵). اسانس استفاده شده در دوز بالا یعنی ۸۰ mg/kg همچون داروی استاندارد مورد مطالعه (لوپرامید) در دوره چهار ساعته، نشانه اسهال را در موش‌ها ایجاد نکرد.

بررسی درجه یا نمره اسهال ایجاد شده در موش‌ها، تفاوت معنی داری را در بین گروه شاهد و گروه دریافت کننده اسانس به میزان ۲۰ mg/kg نشان نمی‌دهد؛ هر چند در ظاهر امر، اسهال شدیدتری در گروه شاهد ایجاد شده است (جدول ۳).

شمارش تعداد فضله‌های دفع شده در طی چهار ساعت بررسی، تغییر معنی داری را در بین گروه شاهد و گروه دریافت کننده اسانس به میزان ۲۰ mg/kg نشان نداد (جدول ۳). در گروه درمان شده با لوپرامید و اسانس ۸۰ mg/kg هیچ مدفوعی دفع نگردید.

جدول ۱. تأثیر اسانس زیره سیاه بر روی میزان عبور معدی- روده‌ای یک وعده خوراک زغال در موش

تیمار	دوز خوراکی (mg/kg)	تعداد حیوان	پیشرفت زغال (%)	درصد مهار ترانزیت	درصد مهار ترانزیت نسبت به آتروپین
شاهد (توین ۲)	-	۶	۶۳/۱ ± ۷/۵۳	-	-
آتروپین	۰/۱	۶	۵۱ ± ۱/۵۷*	۱۹/۱۷	۱۰۰
اسانس	۸۰	۶	۵۹/۹۵ ± ۰/۴۴	۴/۹۹	۲۶/۰۳
آتروپین + اسانس	۸۰ + ۰/۱	۶	۵۳/۴۹ ± ۱/۳۵	۱۵/۲۰	۷۹/۲۹

نتایج آزمایش‌ها به صورت Mean ± SEM گزارش گردیده است.

* P < ۰/۰۵ بین گروه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه شاهد، از نظر آماری معنی دار تلقی شد.

جدول ۲. تأثیر اسانس زیره سیاه در جهت محافظت در برابر اسهال القا شده توسط کاستر اوایل در موش صحرایی

تیمار	دوز خوراکی (mg/kg)	زمان (ساعت)							
		۱		۲		۳		۴	
		تیمار شده / اسهال (%)	محافظة از بروز اسهال (%)	تیمار شده / اسهالی	محافظة از بروز اسهال (%)	تیمار شده / اسهالی	محافظة (%)	تیمار شده / اسهالی	محافظة (%)
شاهد (توین ۲)	-	۰/۶	۱۰۰	۵/۶	۱۶/۶۶	۶/۶	۰	۶/۶	۰
لوپرامید	۳۰	۰/۶	۱۰۰	۰/۶	۱۰۰*	۰/۶	*۱۰۰	۰/۶	۱۰۰*
اسانس	۲۰	۰/۶	۱۰۰	۴/۶	۳۳/۳۳*	۶/۶	۰	۶/۶	۰
اسانس	۸۰	۰/۶	۱۰۰	۰/۶	۱۰۰*	۰/۶	*۱۰۰	۰/۶	۱۰۰*

a نشان دهنده تعداد کل موش‌های گروه (تیمار شده) و تعداد حیواناتی که نشانه اسهال را نشان داده‌اند، می‌باشد.

* P < ۰/۰۵ بین گروه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه شاهد، از نظر آماری معنی دار تلقی شده است.

جدول ۳. تأثیر اسانس زیره سیاه بر روی درجه اسهال، تعداد و وزن پلیت‌های مدفوعی ایجاد شده در اسهال القایی توسط کاستر اوایل

تیمار	دوز خوراکی (mg/kg)	تعداد حیوان			ساعت اول			ساعت دوم			ساعت سوم			ساعت چهارم	
		وزن	تعداد	درجه	وزن	تعداد	درجه	وزن	تعداد	درجه	وزن	تعداد	درجه	وزن	تعداد
شاهد (توین ۲٪)	۱۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰
لوپرامید	۳۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰
اسانس	۲۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰
اسانس	۸۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰	۰	۶	۰

نتایج آزمایش‌ها به صورت Mean \pm SEM درجه اسهال، تعداد و وزن پلیت‌های مدفوعی (فضله) گزارش گردیده است.

* $P < 0/05$ بین گروه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه شاهد، از نظر آماری معنی دار تلقی شده است.

نشان می‌دهند، در تمامی گروه‌ها، مقدار ترشح و تجمع مایع در داخل روده کاهش پیدا کرده است (جدول ۴). اندازه‌گیری فاصله طی شده توسط زغال در داخل روده‌ها در بعد از اسهال القا شده با کاستر اوایل، نشان داد که اسانس در دوز پایین می‌تواند مسیر طی شده توسط خوراک زغال را کاهش دهد؛ اما این مقدار مهار، به لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۴). در مقابل، استفاده از اسانس با دوز بالاتر در حد معنی‌داری، حرکات روده‌ای القا شده با کاستر اوایل را مهار می‌سازد. اگر چه این اثر مهار به اندازه تأثیر داروی استاندارد یعنی لوپرامید نمی‌باشد ($P < 0/05$).

در سه ساعت اول، ارزیابی تغییرات وزن مدفوع اسهالی، اختلاف معنی‌داری را بین گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده اسانس با دوز پایین نشان نمی‌دهد (جدول ۳). در صورتی که در ساعت چهارم وزن مدفوع دفع شده در گروه تیمار شده با اسانس ۲۰ mg/kg در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌دار بیشتر می‌باشد ($P < 0/05$). در گروه درمان شده با لوپرامید و اسانس ۸۰ mg/kg هیچ مدفوعی دفع نگردید.

سنجش میزان مایعات تجمع یافته در روده‌ها در اثر اسهال القا شده با کاستر اوایل، تغییر محسوس را در تیمارهای مورد بررسی نشان می‌دهد و همان‌طور که نتایج

جدول ۴. تأثیر اسانس زیره سیاه و لوپرامید بر روی مایعات تجمع یافته و عبور خوراک زغال در روده‌ها در اسهال ایجاد شده با کاستر اوایل

تیمار خوراکی	تعداد حیوان	ترازیت روده‌ای (سانتی‌متر)	درصد مهار ترازیت روده‌ای	میزان تجمع مایعات (میلی‌لیتر)	درصد مهار تجمع مایعات
شاهد (توین ۲٪) + کاستر اوایل	۶	۸۵/۰۵ \pm ۴/۳۳	-	۳/۲۵ \pm ۰/۲۸	-
لوپرامید (۳۰ mg/kg) + کاستر اوایل	۶	۵۵/۷۶ \pm ۶/۵۱*	۳۴/۴۳	۱/۸۳ \pm ۰/۱۶*	۴۳/۶۹
اسانس (۲۰ mg/kg) + کاستر اوایل	۶	۷۰/۸۳ \pm ۲/۴۶	۱۶/۶۸	۲/۱۶ \pm ۰/۳۸*	۳۳/۵۳
اسانس (۸۰ mg/kg) + کاستر اوایل	۶	۶۱/۹۵ \pm ۵/۲۵*	۲۷/۱۶	۲/۰۸ \pm ۰/۳۲*	۳۶

نتایج آزمایش‌ها به صورت Mean \pm SEM فاصله طی شده توسط زغال در داخل روده‌ها بر حسب سانتی‌متر و مایعات تجمع یافته در روده‌ها بر حسب میلی‌لیتر گزارش گردیده است.

* $P < 0/05$ بین گروه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه شاهد، از نظر آماری معنی دار تلقی شده است.

بحث

استفاده از گیاهان دارویی و مکمل‌های غذایی در راستای درمان و پیشگیری از بیماری‌ها از دیرباز در بین مردم دنیا مورد توجه بوده است. بررسی حاضر، مدارکی را به دست می‌دهد که اسانس زیره کوهی می‌تواند همان‌طور که انقباضات عضلات صاف دستگاه گوارشی را به صورت وابسته به مقدار، در آزمایش‌های برون‌زیستی کاهش داده بود (۸)، بر روی حیوان زنده نیز اثرات مشابهی را ایجاد کند و معیارهای مربوط به اسهال تجربی را تقلیل دهد. همان‌طور که اشاره شد، اسانس گیاهان دارویی هر چند دارای ترکیباتی هستند که می‌تواند خیلی مفید باشد، اما در کنار آن به خاطر دارا بودن ترکیبات مضر و آسیب‌رسان می‌تواند خیلی خطرناک باشند و صرف طبیعی بودن مواد، نمی‌تواند دلیلی بر بی‌خطر بودن آن‌ها در حین استفاده تلقی شود (۱۵). نتایج نشان داد که دریافت بیش از حد اسانس، می‌تواند به عنوان یک خطر تهدید کننده زندگی محسوب گردد.

اسانس در دوزهای پایین‌تر، باعث مهار ترانزیت مواد در دستگاه گوارشی می‌گردد که مقدار این مهار، مشابه با آتروپین یا حتی بیشتر است و موافق با مشاهدات محققینی است که تأثیر این اسانس بر روی روده موش را به صورت برون‌زیستی ارزیابی و اسپاسمولیتیک بودن آن را گزارش کرده‌اند (۸). تأثیر مهاری اسانس در دوزهای بالاتر، کاهش می‌یابد. در توجیه این رویداد، می‌توان چنین گفت که با افزایش دوز اسانس شاید ترکیب یا ترکیباتی وجود دارند که اثر آن‌ها برجسته‌تر می‌شود و در نتیجه، تأثیر مهاری کمتری را نسبت به دوزهای پایین آشکار می‌سازند. با یادآوری این مطلب که در مقالات مربوط به اثرات فارماکولوژیکی گیاهان دارویی، یافته‌هایی از این دست وجود دارد (۱۲)؛ با توجه به اهمیت سیستم اعصاب پاراسمپاتیک در پاتوفیزیولوژی اختلالات حرکتی در دستگاه گوارش، به نظر می‌رسد هر گونه تغییر در الگوهای حرکتی ممکن است با متأثر کردن این سیستم‌ها و گیرنده‌های آن‌ها ایجاد شود. مشخص گردید که اسانس در

همراهی با آتروپین میزان مهار بیشتری در مقایسه با استفاده اسانس به تنهایی ایجاد می‌کند و در مقایسه با گروهی که فقط آتروپین دریافت کرده بودند، ترکیب اسانس با آتروپین، اثر مهار کننده‌گی کمتری را نشان می‌دهد.

در واقع، این مواد به طریقی از عملکرد آتروپین ممانعت می‌کنند و یا باعث بروز اثرات متضادی در برابر تأثیر مهاری آتروپین می‌شوند. البته مکانیسم‌های گوناگونی در ایجاد حالت شلی در عضلات صاف و کاهش حرکات، نقش دارند که شامل دخالت مواد ممانعت کننده از واسطه‌های تحریکی (آنتی‌کولینرژیک) (۱۶)، مواد با فعالیت آنتی‌هیستامینی (۱۷) یا از طریق فعال کردن واسطه‌های مهاری مثل مواد آدرنرژیک، پورینرژیک (۱۸) و گابائریژیک (۱۹) و یا از طریق دنبال کردن اثرات مشابه اثر نیتریک اکسید (۲۰) می‌باشند. بنابراین به‌طور حتم، یکی و یا ترکیبی از مکانیسم‌های اشاره شده، در بروز اثرات اسانس دخیل بوده است.

صدرایی و همکاران گزارش کرده‌اند که آلفا-پینن از تحریکات ایجاد شده توسط استیل‌کولین در بافت‌ها ممانعت می‌نماید (۲۱) و Astudillo و همکاران نشان داده‌اند که مونوترپن‌ها همچون تیمول، کامفور و گاما-ترپینن اثرات آنتی‌اسپاسمودیک بر روی نمونه‌های بافتی تهیه شده از ژئوزنوم خرگوش اعمال می‌کنند (۲۲) که در اسانس کار شده در این پژوهش، مقادیر زیادی آلفا-پینن (۳/۳۷ درصد) و گاما-ترپینن (۱۴/۴۸ درصد) وجود دارد (۸).

بنابراین، می‌توان بخشی از اثرات مشاهده شده را به حضور این ترکیب نسبت داد. در این میان، برخی از مدارک علمی وجود دارند که اثبات کرده‌اند گونه‌هایی از گیاهان خانواده Umbelliferae از طریق اثر آنتی‌کولینرژیک، آنتی‌هیستامینیکی و یا با مسدود کردن کانال‌های کلسیمی، روی عضلات صاف اعمال اثر می‌نمایند (۲۳-۲۵). از مجموع ۱۸ ترکیب شناسایی شده در اسانس زیره کوهی مورد مطالعه، ترکیبات عمده شامل کومین آلدئید (۲۳/۰۴ درصد) و گاما ترپینن (۱۴/۴۸ درصد) بودند (۸). تأثیر گاما-ترپینن نیز در مطالعات گذشته مشخص شده است

قابل مقایسه با داروی استاندارد یعنی لوپرامید نیست. نتیجه مشابه در مطالعه Majumdar و همکاران به کاهش سرعت عبور مواد گوارشی و افزایش ظرفیت روده‌ها در برگشت مایعات از داخل روده‌ها ارتباط داده شده است (۲۸).

در بحث خواص ضد اسهالی و ضد دیسانتری گیاهان دارویی، ثابت شده است که این امر به دلیل حضور تانین‌ها، آلکالوئیدها، ساپونین، فلاونوئیدها، استروئیدها و یا ترپنوئیدها می‌باشد (۳۰، ۲۹، ۱۴). با توجه به تجزیه اسانس، مشخص شد که ترکیباتی از این دسته (ترپنوئیدها)، در داخل اسانس زیره وجود داشت. از این رو، این مواد ممکن است مسؤول فعالیت ضد اسهالی اسانس مورد مطالعه باشند. البته تحقیقات بیشتری برای مشخص نمودن مکانیسم کلی و نحوه اثر این اسانس و اجزای اصلی آن ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

عملکرد بسیار قوی اسانس زیره در مهار حرکات روده و اسهال القا شده با روغن کرچک به صورت درون زیستی، حاکی از این مطلب است که اسانس حاوی ترکیبات فعال ضد اسپاسمی و ضد اسهالی می‌باشد که می‌تواند مؤید کاربرد سنتی این گیاه و عرق آن برای رفع مشکلات گوارشی باشد.

سپاسگزاری

محققین این مطالعه از آقای دکتر شاهرخ کاظم‌پور استاد دانشکده علوم پایه دانشگاه تربیت مدرس جهت شناسایی گیاه مورد استفاده کمال تشکر و سپاسگزاری را دارند.

(۲۲). به نظر می‌آید ترکیب اصلی اسانس زیره کوهی، یعنی کومین آلدئید نیز در بروز اثرات شل کنندگی مؤثر باشد؛ چرا که مقادیر زیادی از آن در اسانس وجود دارد، اما مطالعه‌ای در این مورد انجام نگرفته است.

روغن کرچک با ایجاد اختلال در نفوذ پذیری مخاط، انتقال الکتروولیت و حرکات دودی روده، نوعی واکنش پر ترشچی و اسهال را باعث می‌گردد (۲۶). اسید ریسینوکلئیک ایجاد شده، نفوذ پذیری بافت پوششی روده را افزایش می‌دهد و با تخریب موضعی و ایجاد التهاب روده، با فعال کردن آدنیل سیکلاز در سلول‌های مخاطی، پروستاگلاندین‌ها را می‌سازد؛ در نتیجه، موجب افزایش ترشح آب و الکتروولیت‌های روده کوچک می‌شود (۲۷). ثابت شده است که برخی از گیاهان دارویی از طریق مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها وارد عمل می‌شوند (۲۸).

نتایج مربوط به القای تجربی اسهال، نشان می‌دهد که در تمامی تیمارهای مورد بررسی در طی ساعت اول، اسهال مشاهده نگردید و در طی چهار ساعت بعدی، لوپرامید و اسانس با دوز ۸۰ mg/kg توانست محافظت صد درصدی در برابر القای اسهال داشته باشد. نتایج مشاهده شده در دوز بالا، قابل مقایسه با تأثیر داروی استاندارد همچون لوپرامید می‌باشد. چنین به نظر می‌آید که اسانس از طریق عملکرد ضد ترشچی و یا مهار حرکات روده‌ای، باعث محافظت در برابر اسهال گردیده است. چون مدفوعی دفع نشده است و در شش ساعت بعد از القای اسهال که حیوانات تحت شاهد بودند، مدفوع دفع شده دارای رطوبت زیادی که شبیه به مدفوع اسهالی باشد، نبود.

اسانس زیره، میزان مایعات تجمع یافته در روده‌ها در اثر اسهال القا شده با کاستر اوایل را کاهش داد؛ اما این اثر،

References

1. Parkman HP, Orr WC. The gastrointestinal motility laboratory. *Gastroenterol Clin North Am* 2007; 36(3): 515-viii.
2. Allahtavakoli M, Moradi R, Shamsi S, Shamsi K. Effect of Hydro-Alcoholic Extract of *Teucrium Polium* on Castor Oil-Induced Diarrhea in Male Rat. *Zahedan J Res Med Sci* 2013; 15(6): 54-7. [In Persian].
3. Baser KHC, Ozek T, Abduganiev BE, Abdullaev UA, Aripov KH. Composition of The Essential Oil of *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch. From Tajikistan. *J Essent Oil Res* 2008; 3(4): 225-8.
4. Zargari A. Medicinal Plants. Tehran, Iran: Tehran University Publication; 1997. p. 940. [In Persian].
5. Thappa RK, Ghosh S, Agarwal SG. Comparative studies on the major volatiles of Kalazira (*Bunium persicum seed*) of wild and cultivated sources. *Food Chemistry* 1991; 41(2): 129-34.
6. Sekine T, Sugano M, Majid A, Fujii Y. Antifungal effects of volatile compounds from black zira (*Bunium persicum*) and other spices and herbs. *J Chem Ecol* 2007; 33(11): 2123-32.
7. Oroojalian F, Kasra-Kermanshahi R, Azizi M, Bassami MR. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chem* 2010; 120(3): 765-70.
8. Jalilzadeh-Amin G, Maham M, Dalir-Naghadeh B, Kheiri F. Effects of *Bunium persicum* (Boiss.) Essential Oil on the Contractile Responses of Smooth Muscle (An in vitro Study). *Vet Res Forum* 2011; 2(2): 87-96.
9. Lahlou M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother Res* 2004; 18(6): 435-48.
10. Lorke D. A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch Toxicol* 1983; 54(4): 275-87.
11. Nwafor PA, Okwuasaba FK. Effect of methanolic extract of *Cassia nigricans* leaves on rat gastrointestinal tract. *Fitoterapia* 2001; 72(3): 206-14.
12. Wang X, Zhang F, Liu Z, Feng H, Yu ZB, Lu Y, et al. Effects of essential oil from *Croton tiglium* L. on intestinal transit in mice. *J Ethnopharmacol* 2008; 117(1): 102-7.
13. Adeyemi OO, Akindele AJ, Ogunleye EA. Evaluation of the antidiarrhoeal effect of *Sansevieria liberica* Gerome & Labroy (Agavaceae) root extract. *J Ethnopharmacol* 2009; 123(3): 459-63.
14. Di Carlo G, Mascolo N, Antonio Izzo A, Capasso F. Effects of quercetin on the gastrointestinal tract in rats and mice. *Phytother Res* 1994; 8(1): 42-5.
15. Dweck AC. Toxicology of essential oils reviewed. *Personal Care* 2009; 65-77. Available from: URL: http://www.zenitech.com/documents/Toxicity_of_essential_oils_p1.pdf.
16. Unno T, Matsuyama H, Izumi Y, Yamada M, Wess J, Komori S. Roles of M2 and M3 muscarinic receptors in cholinergic nerve-induced contractions in mouse ileum studied with receptor knockout mice. *Br J Pharmacol* 2006; 149(8): 1022-30.
17. Sa-Nunes A, Corrado AP, Baruffi MD, Faccioli LH. Disodium cromoglycate prevents ileum hyperreactivity to histamine in *Toxocara canis*-infected guinea pigs. *Pharmacol Res* 2003; 48(5): 451-5.

18. Van CK, Van NL, Timmermans JP, Lefebvre RA. Inhibitory purinergic P2 receptor characterisation in rat distal colon. *Neuropharmacology* 2007; 53(2): 257-71.
19. Zizzo MG, Mule F, Serio R. Functional evidence for GABA as modulator of the contractility of the longitudinal muscle in mouse duodenum: role of GABA(A) and GABA(C) receptors. *Neuropharmacology* 2007; 52(8): 1685-90.
20. Kito Y, Suzuki H. Effects of Dai-kenchu-to on spontaneous activity in the mouse small intestine. *J Smooth Muscle Res* 2006; 42(6): 189-201.
21. Sadraei H, Asghari GR, Hajhashemi V, Kolagar A, Ebrahimi M. Spasmolytic activity of essential oil and various extracts of *Ferula gummosa* Boiss. on ileum contractions. *Phytomedicine* 2001; 8(5): 370-6.
22. Astudillo A, Hong E, Bye R, Navarrete A. Antispasmodic activity of extracts and compounds of *Acalypha phleoides* Cav. *Phytother Res* 2004; 18(2): 102-6.
23. Boskabady MH, Shaikhi J. Inhibitory effect of *Carum copticum* on histamine (H1) receptors of isolated guinea-pig tracheal chains. *J Ethnopharmacol* 2000; 69(3): 217-27.
24. Boskabady MH, Moetamedshariati V. Bronchodilatory and anticholinergic effect of *Carum copticum* on isolated guinea-pig tracheal chain. *Eur Respir J* 1996; 9(Suppl 23): 28s.
25. Gilani AH, Jabeen Q, Ghayur MN, Janbaz KH, Akhtar MS. Studies on the antihypertensive, antispasmodic, bronchodilator and hepatoprotective activities of the *Carum copticum* seed extract. *J Ethnopharmacol* 2005; 98: 127-35.
26. Kumar B, Divakar K, Tiwari P, Salhan M, Goli D. Evaluation of anti diarrhoeal effect of aqueous and ethanolic extracts of fruit pulp of *Terminalia belerica* in rats. *Int J Drug Dev Res* 2010; 2(4): 769-79.
27. Venkat Rao N, Chandra Prakash K, Chandra Prakash SM. Pharmacological investigation of *Cardiospermum halicacabum* (Linn) in different animal models of diarrhea. Department of Pharmacology 2006; 38(5): 346-9.
28. Majumdar AM, Upadhye AS, Misar AV. Studies on antidiarrhoeal activity of *Jatropha curcas* root extract in albino mice. *J Ethnopharmacol* 2000; 70: 183-7.
29. Hasan R, Hossain M, Akter R, Jamila M, Mazumder ME, Islam I, et al. Antioxidant, antidiarrhoeal and cytotoxic properties of *Punica granatum* Linn. *Lat Am J Pharm* 2009; 28(5): 783-8.
30. Gabriel SE, Davenport SE, Steagall RJ, Vimal V, Carlson T, Rozhon EJ. A novel plant-derived inhibitor of cAMP-mediated fluid and chloride secretion. *Am J Physiol* 1999; 276(1 Pt 1): G58-G63.

Inhibitory Effect of *Bunium persicum* Boiss Essential Oil on Castor-Oil Induced Diarrhea**Jalilzadeh-Amin G., D.V.Sc^{1*}, Nabizadeh H., D.V.M², Maham M., D.V.Sc³**

1 Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

2 Graduated, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

3. Associate Professor, Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

* Corresponding author; e-mail: g.jalilzadeh@urmia.ac.ir

(Received: 19 Feb. 2013)

Accepted: 31 July 2013

Abstract**Background & Aims:** *Bunium persicum* Boiss. Belongs to Apiaceae family and its fruit contains high level of essential oils used as native medicinal plant in traditional medicine.**Methods:** The essential oil of *Bunium persicum* (EOBP) was extracted by Clevenger apparatus using hydrodistillation. Lethal dose, 50% (LD50) was calculated based on Lorke's method. Effects of EOBP (20-80 mg/kg) on upper gastrointestinal transit and on castor oil-induced diarrhea were investigated in adult Wistar rats weighting 200-220 g of either sex.**Results:** The LD50 was determined as 375 mg/kg. Abnormal behavioural activities included lethargy, weakness, recumbence, and slow and shallow respiration. EOBP (20 mg/kg) showed inhibitory effects more than atropine where high doses (40 mg/kg) had same inhibition in contrast with atropine. EOBP inhibited intestinal motility more than atropine at lower doses. EOBP inhibitory effect was enhanced with atropine insignificantly. The EOBP (20 and 80 mg/kg) also caused a dose-dependent decrease of diarrheal parameters and markedly protected rats against castor oil-induced diarrhea. The maximal effect of the EOBP was similar to loperamide, one of the most efficacious and widely employed antidiarrheal drugs at the present time.**Conclusion:** These primary data indicated that the plant may contain some biologically active constituents that may reveal antimotility and antidiarrheal effects and support the popular therapeutic use of *Bunium persicum* in traditional medicine for gastrointestinal disorders.**Keywords:** Motility, Castor-oil, Medicinal plants, *Bunium persicum*, Diarrhea