

اثر اسانس زیره سیاه بر زخم معده القا شده موش‌های صحرائی

دکتر قادر جلیل زاده امین*^۱، دکتر علیرضا یوسفی^۲، دکتر مهدی عبدالهی پیربازاری^۳

۱- استادیار بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه. ۲- دستیار تخصصی جراحی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه.

۳- دستیار تخصصی بیماری‌های داخلی دام‌های کوچک، دانشگاه تهران.

چکیده

زمینه و هدف: زیره سیاه در طب سنتی ایرانی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله اختلالات دستگاه گوارشی و به‌ویژه درمان زخم‌های معده کاربرد دارد. این مطالعه به منظور تعیین اثر اسانس زیره سیاه بر زخم معده القا شده با ایندومتاسین و اتانول در موش‌های صحرائی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی میزان LD_{50} موش‌های صحرائی بر اساس روش لورک تعیین شد. برای بررسی مسمومیت کوتاه‌مدت ۲۴ سر موش به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. در گروه‌های اول تا سوم به ترتیب غلظت‌های ۸۰، ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از اسانس زیره سیاه و در گروه چهارم حجم برابری از توین ۸۰ (۲ درصد) به مدت ۱۴ روز به موش‌ها خوراندند. برای سنجش فعالیت ضدزخمی اسانس زیره سیاه موش‌های صحرائی در گروه‌های ۶ تایی شامل دریافت کننده توین، دریافت کننده سایمتدین 100 mg/kg/bw ، امپرازول 30 mg/kg/bw و اسانس زیره سیاه با دوزهای 20 mg/kg/bw ، 40 و 80 در دو گروه زخم معده القا شده با ایندومتاسین 100 mg/kg/bw و اتانول خالص یک میلی‌لیتر قرار گرفتند.

یافته‌ها: مقدار LD_{50} برابر با 375 mg/kg محاسبه شد. دریافت تک دوز و روزانه در دوزهای مورد بررسی بدون این که تغییری در رفتار، وزن بدن و وزن ارگان‌های آنها ایجاد نماید؛ توسط موش‌ها تحمل گردید. در پایان دوره تغییر معنی‌داری در میزان پروتئین تام، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) مشاهده نگردید. تیمار با اسانس زیره در دوزهای 40 و 80 mg/kg/bw توانست شاخص زخم در مدل زخم معده ایجاد شده با ایندومتاسین را به ترتیب به میزان $27/41 \pm 2/8$ درصد و $18/02 \pm 1/01$ درصد کاهش دهد ($P < 0/05$). در مدل زخم اتانولی نیز در دوزهای 40 و 80 mg/kg/bw میزان مهار زخم به ترتیب $65/65 \pm 4/3$ درصد و $58/42 \pm 1/6$ درصد تعیین شد ($P < 0/05$). شاخص پیشگیری زخم در مدل زخم معده ایجاد شده با ایندومتاسین در تیمار با اسانس زیره در دوزهای 40 و 80 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب $37/98$ درصد و $59/21$ درصد و در مدل زخم اتانولی در دوزهای 40 و 80 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب $12/4$ درصد و $22/05$ درصد تعیین شد.

نتیجه‌گیری: اسانس حاصل از زیره سیاه بی‌خطر و به صورت حفاظتی در دوزهای 40 و 80 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن توانست زخم معده ایجاد شده را کاهش دهد و این اثر وابسته به دوز بود.

کلید واژه‌ها: زیره سیاه، زخم معده، ایندومتاسین، اتانول

* نویسنده مسؤول: دکتر قادر جلیل زاده امین، پست الکترونیکی g.jalilzadeh@urmia.ac.ir

نشانی: ارومیه، ابتدای جاده سلماس، اول سه راهی ناحیه انتظامی، کلینیک تخصصی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

تلفن ۲۷۷۷۰۹۹-۰۴۴۱-۲۷۷۴۷۳۷

وصول مقاله: ۹۲/۲/۱۱، اصلاح نهایی: ۹۲/۵/۲۹، پذیرش مقاله: ۹۲/۵/۲۹

مقدمه

داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی (NSAIDs) و استرس (۱) اشاره کرد. درمان‌های موجود برای بیماران مبتلا به زخم‌های معده-روده‌ای شامل استفاده از مواد آنتی‌اسید، سوکرافات، پروستاگلاندین‌ها، آنتاگونیست‌های موسکارینی، آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینی نوع ۲ و به‌ویژه مهارکننده‌های پمپ پروتونی است. این

بر اساس آمارهای موجود هزاران نفر از مردم دنیا با زخم‌های معده و دوازدهه درگیر هستند. در حال حاضر این نوع زخم‌ها یک مشکل بهداشتی جهانی به حساب می‌آید (۱). چندین عامل در افزایش وقوع بیماری زخم پپتیک معده موثر است که می‌توان به مصرف سیگار و الکل (۲) کمبودهای تغذیه‌ای، استفاده مکرر از

خشک شده بودند؛ از شهر زرنده استان کرمان تهیه گردید. گیاه مورد استفاده در واحد تاکسونومی بخش بیولوژی گیاهی در دانشکده علوم پایه دانشگاه تربیت مدرس (شماره هرباریوم ۳۹۶۴) شناسایی گردید. برای اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب مقدار ۱۰۰ گرم از بذرها گیاه در داخل دستگاه کلونجر به مدت ۳/۵ ساعت قرار داده شدند. ابتدا آب همراه اسانس حاصله جدا گردید و سپس توسط دستگاه کروماتوگراف گازی (Thermofinigan, USA) متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد تجزیه قرار گرفت. روش کار با دستگاه مذکور و نتایج مربوط به آنالیز اسانس قبلاً توسط این گروه گزارش شده است (۹). در راستای محافظت اسانس در برابر نور، روغن فرار تهیه شده در بطری‌های شیشه‌ای سیاه‌رنگ در داخل یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. از آنجایی که توین ۸۰ در غلظت ۲ درصد انتشار اسانس را در محیط آبی تسهیل می‌کند (۱۲)؛ لذا در تمامی مراحل اسانس زیره سیاه ابتدا در محلول ۲ درصد توین ۸۰ رقیق شده و در مقادیر مورد نظر به حیوانات خورانده شد.

موش‌های صحرایی نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۰۰ گرم از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه به درمانگاه تخصصی انتقال یافتند. پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی مصوبه کمیته اخلاق دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه رعایت گردید. به منظور سازگاری با محیط جدید، پیش از شروع آزمایشات تجربی، حیوانات در گروه‌های جداگانه‌ای در قفس‌های مخصوص به مدت دو هفته در دما و رطوبت کنترل شده با ۱۲ ساعت چرخه روشنایی و تاریکی و دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند.

در ابتدا از ۱۰۸ سر موش صحرایی استفاده شد. ۴۸ سر موش برای تعیین LD₅₀ و بررسی مسمومیت کوتاه‌مدت و بقیه حیوانات در ۱۰ گروه ۶ تایی برای مطالعه فعالیت محافظتی در برابر زخم معده به‌طور تصادفی قرار گرفتند. مقدار حجم تجویزی در تمامی آزمایشات با دوز ۱۰ ml/kg در موش‌ها رعایت گردید.

داروهای سایمتدین، امپرازول و ایندومتاسین از شرکت سیگما (Sigma Chemical Co., USA)، اتانول و توین ۸۰ از شرکت Merck آلمان تهیه گردید. در تمامی مراحل آزمایشات وزن موش‌ها به‌طور دقیق با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد و میزان دارو یا اسانس برای حیوان براساس آن و با در نظر گرفتن دوز محاسبه شد.

مقدار LD₅₀ برای اسانس زیره سیاه با استفاده روش متداول لورک محاسبه شد (۱۳). به طوری که تعیین LD₅₀ در دو مرحله انجام شد. در مرحله اول محدوده دوز سمی که سبب ایجاد اثرات می‌شود؛ محاسبه شد و در مرحله دوم دوزهای اختصاصی برای

در حالی است که استفاده طولانی مدت آنتاگونیست‌های گیرنده‌های هیستامینی نوع ۲ و مهارکننده‌های پمپ پروتونی باعث هیپرپلازی سلول‌های شبه‌انتروکرومافینی می‌گردد که خود باعث عود مجدد بیماری زخم معده و حتی منجر به سرطان معده می‌شود (۳). همچنین ممکن است اثرات جانبی همچون ایجاد افزایش حساسیت، انواع آریتمی‌ها، ناتوانی جنسی و بزرگی پستان در مردها و اختلالات خونسازی را در پی داشته باشد. لذا نیاز جدی برای جستجوی مواد ضد زخم بی‌خطر، ارزان قیمت، با دسترسی راحت و در عین حال خیلی موثر با اثرات جانبی کمتر قابل درک است (۱۰).

در حدود ۸۰ درصد از جوامع روستایی هند برای حفظ سلامتی خود به گیاهان دارویی وابسته هستند (۴). اسانس یا روغن‌های فرار، ترکیباتی هستند که با روش‌های تقطیر با بخار یا تقطیر با آب از مواد گیاهی به دست می‌آیند و بیشتر آنها دارای خواص بیولوژیکی و فارماکولوژیکی شناخته شده‌ای هستند که می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروهای سنتتیک باشند.

زیره سیاه یا زیره کوهی (وحشی) با نام علمی *Bunium persicum* Boiss. گیاه دارویی مهمی است که به خانواده چتریان (Umbelliferae) تعلق دارد و در ایران در مناطق با آب و هوای گرمسیری به صورت وحشی می‌روید. 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 بوده و به طور وسیعی به‌عنوان ادویه استفاده می‌گردد. این گیاه در طب سنتی در موارد ضد گرفتگی عضلات، بادشکن، اشتها آور، خلط آور، افزایش دهنده ترشح شیر و در صنایع غذایی به‌عنوان طعم‌دهنده کاربرد دارد (۵). از ترکیبات عمده و مهم این گیاه می‌توان به لیمونین، ساینین، کاروون، کاروتول، فلاونوئیدها، پلی‌ساکاریدها، کومارین، کومین‌آلدئید، دی‌هیدروکاروتولوپینین ترین اشاره نمود (۶). اثرات ضد قارچی (۷)، ضد میکروبی (۸)، ضد اسپاسمی (۹)، ضد درد و ضد التهاب (۱۰) و ضد تشنجی (۱۱) ترکیبات موجود در اسانس زیره سیاه اثبات شده است.

در این مطالعه بعد از تعیین دوز سمیت حاد اسانس (LD₅₀)، اثر مصرف روزانه و کوتاه‌مدت اسانس زیره سیاه (مسمومیت کوتاه‌مدت) و نیز قدرت حفاظتی اسانس این گیاه در برابر مدل‌های زخم معده ایجاد شده با ایندومتاسین و اتانول در موش صحرایی بررسی شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۰ انجام گردید.

دانه‌های گیاه زیره سیاه که در معرض هوا و در محل سایه

آسان‌کشی کشته شدند.

ارزیابی اثر اسانس بر زخم معده ایجاد شده توسط خوراندن اتانول: پس از محرومیت موش‌ها به مدت ۱۲ ساعت از غذا و به مدت ۲ ساعت از آب (۱۵)؛ گروه اول (گروه کنترل منفی) یک میلی‌لیتر از حلال و گروه دوم امپرازول (۳۰ mg/kg/bw) دریافت نمود و در گروه‌های بعدی اسانس با مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خورانده شد. یک ساعت بعد تمامی گروه‌ها اتانول خالص را به مقدار یک میلی‌لیتر دریافت نمودند و بعد از گذشت یک ساعت از دریافت اتانول، حیوانات با روش آسان‌کشی کشته شدند.

روش ارزیابی زخم‌ها: بعد از کشتن موش‌ها (در هر دو روش ایجاد زخم)، سریعاً محوطه شکمی باز گردید و کل معده بیرون آورده شد. برشی در طول خم بزرگ معده داده شد و در داخل فرمالدئید ۱۰ درصد قرار گرفت. معاینات ماکروسکوپی با استفاده از لوپ و یا یک عدسی دستی برای مشاهده حضور زخم‌های ایجاد شده انجام گردید و جراحات زخم نمره‌بندی شد. با بهره‌گیری از روش استاندارد (۱۴) برای تمام گروه‌های زخم‌های معدی با قطر یک میلی‌متر یا بیشتر شمارش گردید و پنج زخم با قطر کمتر از یک میلی‌متر پتشی (petechiae) به عنوان یک زخم با قطر یک میلی‌متر در نظر گرفته شد. شاخص زخم (Ulcer index: UI) بر مبنای سطح مقطع زخم‌ها (برحسب میلی‌متر مربع) در هر گروه مشخص گردید و سپس براساس فرمول زیر درصد شاخص پیشگیری زخم برای هر گروه مشخص شد.

$$\text{شاخص پیشگیری (درصد)} = 100 \times [(A-B)/A]$$

A: شاخص زخم در گروه دریافت‌کننده ایندومتاسین و یا اتانول به تنهایی

B: شاخص زخم در گروه دریافت‌کننده اسانس

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS-17 انجام شد. ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها ارزیابی گردید. برای مقایسه میانگین داده‌ها، آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه و پس آزمون، تست دانت (Dunnet's test) برای مقایسه تفاوت بین گروه‌های اسانس (با غلظت متفاوت) و گروه کنترل (توین ۲ درصد) به کار گرفته شد. نتایج آزمایشات به صورت Mean±SEM گزارش شد. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطوح معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

مقدار LD₅₀ اسانس زیره سیاه ۳۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تعیین شد. تجویز محلول ۲ درصد توین ۸۰ در موش‌ها 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 نشانه‌های مربوط به مسمومیت را نشان دادند. تغییرات رفتاری در این دسته از حیوانات شامل عدم تعادل، کاهش فعالیت حرکتی یا جابجایی، عدم تحرک، تنفس سطحی و سریع بود. نشانه‌های بالینی همچون بروز اسهال، کاهش فعالیت،

محاسبه LD₅₀ تجویز گردید. در مرحله اول دوزهای ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان تجویز گردید. براساس نتایج حاصل از مرحله اول، از دوزهای ۱۶۰۰، ۲۹۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مرحله دوم استفاده شد. در هر گروه ۵ سر حیوان در نظر گرفته شد و سپس با توجه به تلفات مشاهده شده در مرحله دوم، میزان LD₅₀ محاسبه گردید. علائم بروز مسمومیت در موش‌ها شامل عدم تعادل، کاهش فعالیت حرکتی یا جابجایی، عدم تحرک، تنفس سطحی و سریع، اسهال، کاهش فعالیت، تنفس سطحی، تشنج و زمین‌گیری جانبی بود.

برای بررسی مسمومیت کوتاه‌مدت اسانس زیره، پس از تعیین مقدار LD₅₀ در ۴ گروه ۶ تایی از موش‌ها دوزهای اسانس با مقادیر ۸۰، ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت روزانه خورانده شد و در گروه کنترل این بخش به موش‌ها در حجم برابر از توین ۲ درصد به مدت ۱۴ روز متوالی استفاده گردید. نشانه‌های بالینی مسمومیت و وضعیت دریافت آب و غذا به‌طور روزانه بررسی شد و وزن حیوانات در روزهای صفر، هفت و چهارده با ترازوی دیجیتال (شرکت پند، ایران) با دقت ۰/۱ گرم اندازه‌گیری شد.

در پایان روز چهارده موش‌ها با اثر بیهوش شدند و بعد از تهیه نمونه خونی از قلب در لوله‌های حاوی EDTA، کالبدگشایی انجام گردید. سطح مخاط معده موش‌ها به لحاظ وجود یا عدم وجود ضایعات مورد ارزیابی قرار گرفت. ضمن بررسی‌های ظاهری اندام‌ها، کبد، طحال، کلیه‌ها، قلب و ریه‌ها از بدن جدا گردید و وزن آنها در تمام گروه‌ها اندازه‌گیری شدند. وزن نسبی ارگان‌ها با فرمول «وزن نسبی ارگان = ۱۰۰ × وزن موش (برحسب گرم) / وزن ارگان (برحسب گرم)» محاسبه گردید.

برای تهیه سرم ابتدا نمونه خونی در دمای اتاق لخته شد و سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (Sigma 101, USA) سرم جداسازی شد. مقدار پروتئین تام و میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون اندازه‌گیری شد (۱۳).

ارزیابی اثر اسانس بر زخم معده ایجاد شده توسط خوراندن ایندومتاسین: پس از محرومیت موش‌ها به مدت ۱۲ ساعت از غذا و به مدت ۲ ساعت از آب (۱۴)؛ در گروه اول (گروه کنترل مثبت) سایمتدین (۱۰۰ mg/kg/bw) حل شده در توین ۲ درصد خوراکی و در گروه دوم (گروه کنترل منفی) توین ۲ درصد به شکل خوراکی گاوآذ گردید. در گروه‌های بعدی اسانس با مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خورانده شد. یک ساعت بعد از تجویز سایمتدین و دوزهای مختلف اسانس تمامی گروه‌ها، ایندومتاسین (۱۰۰ mg/kg/bw) را به صورت خوراکی دریافت نمودند و بعد از گذشت ۴ ساعت از دریافت ایندومتاسین، حیوانات با روش

جدول ۱: وزن نسبی اندام‌های داخلی و غلظت سرمی آنزیم‌های کبدی و پروتئین تام در گروه‌های دریافت کننده اسانس زیره سیاه و شاهد

گروه‌های دریافت کننده اسانس زیره میانگین و انحراف معیار			گروه کنترل (توین ۲ درصد)		
۲۵۰ mg/kg/bw	۱۲۵ mg/kg/bw	۸۰ mg/kg/bw			
۱/۱±۲/۷۵	۰/۱±۲/۶۵	۰/۲۱±۳/۰۱	۱/۱±۳/۱۱	کبد	وزن نسبی
۰/۰۴±۰/۷۲	۰/۰۶±۰/۷۳	۰/۰۶±۰/۷۱	۰/۰۳±۰/۷۵	کلیه ها	اندام
۰/۰۱±۰/۳۵	۰/۰۶±۰/۳۲	۰/۰۵±۰/۳۶	۰/۰۵±۰/۳۵	قلب	(درصد)
۰/۰۸±۰/۱۹	۰/۰۳±۰/۲۰	۰/۰۶±۰/۲۱	۰/۰۳±۰/۱۸	طحال	
۰/۰۶±۱/۸۵	۰/۰۲±۱/۷۵	۰/۰۴±۱/۶۵	۰/۰۱±۱/۷۵	ریه ها	
۲/۳۴±۳۹/۰۹	۱۵/۶۳±۴۰/۱۱	۱۰/۹۸±۴۱/۰۶	۸/۶±۴۱/۵۸	ALT (U/L)	پارامتر
۲۰/۶۸±۱۱۲	۱۴/۰۵±۱۱۵	۱۶/۰۶±۱۱۷	۷/۰۲±۱۲۲	AST (U/L)	بیوشیمیایی
۵/۹۱±۷۴/۲۲	۷/۹۸±۷۱/۳۳	۴/۰۷±۶۹/۸۷	۴/۰۷±۷۰/۱۶	پروتئین تام (g/l)	

جدول ۲: اثر اسانس زیره سیاه بر تعداد، شاخص زخم‌های معده (برحسب میلی متر مربع) و شاخص پیشگیری در زخم معده ایجاد شده با ایندومتاسین و اتانول

شاخص پیشگیری (درصد)	شاخص زخم (mm ²) میانگین و انحراف معیار	تعداد موش	دوز	تیمار (خوراکی)	
-	۱۷/۰۳±۴۴/۱۹	۶	۱۰ ml/kg	کنترل (توین ۲ درصد)	
۸۹/۰۳	۸/۰۱±۴/۸۵ *	۶	۱۰۰ mg/kg/bw	سایمتیدین	ایندومتاسین
۲۵/۰۶	۱/۲۲±۳۳/۱۲	۶	۲۰ mg/kg/bw	اسانس	
۳۷/۹۸	۲/۸±۲۷/۴۱ *	۶	۴۰ mg/kg/bw	اسانس	
۵۹/۲۱	۱/۰۱±۱۸/۰۲ *	۶	۸۰ mg/kg/bw	اسانس	
-	۱۲/۳±۷۴/۹۵	۶	۱۰ ml/kg	کنترل (توین ۲ درصد)	
۸۰/۸۱	۲۲/۰۲±۱۴/۳۹ *	۶	۳۰ mg/kg/bw	امپرازول	اتانول
۸/۷۱	۱۱/۰۵±۶۸/۴۲	۶	۲۰ mg/kg/bw	اسانس	
۱۲/۴۰	۴/۳۰±۶۵/۶۵	۶	۴۰ mg/kg/bw	اسانس	
۲۲/۰۵	۱۶/۰±۵۸/۴۲ *	۶	۸۰ mg/kg/bw	اسانس	

* P<۰/۰۵

پیشگیری ضایعات مخاطی معده در جدول ۲ آمده است. ضایعات ناشی از خوردن ایندومتاسین در گروه کنترل به صورت نواحی ملتهب همراه با خونریزی‌های وسیع و زخم‌های معدی بزرگ مشاهده شد. به طور میانگین تمامی نواحی معده به جز فوندوس دچار ضایعه شده بود. با توجه به جدول ۲ بین گروه کنترل منفی و گروه دریافت کننده سایمتیدین تفاوت آماری معنی داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). اسانس زیره نیز فقط در دوزهای بالای اسانس (۸۰ و ۴۰ mg/kg/bw) اثر محافظتی قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل منفی نشان داد (P<۰/۰۵).

در تمامی گروه‌ها پرخونی معده و زخم‌های ریز مشاهده گردید که گویای اثر بسیار سریع و شدید اتانول بر روی مخاط معده است. امپرازول به عنوان یک داروی استاندارد (کنترل مثبت) به طور معنی داری (P<۰/۰۵) مانع از ایجاد زخم توسط اتانول گردید. در مقادیر پایین اسانس اثرات محافظتی بسیار ناچیزی مشاهده شد. نتایج نشان داد که اسانس زیره در بالاترین دوز استفاده شده (۸۰ mg/kg/bw) به صورت معنی داری (P<۰/۰۵) توانست از بروز زخم‌های معده توسط اتانول پیشگیری نماید (جدول ۲).

تنفس سطحی، تشنج و زمین گیری جانبی به صورت موردی دیده شد؛ البته این نشانه‌ها در همان چندساعت اول خودبه‌خود از بین رفتند. هیچ کدام از موش‌های دریافت کننده اسانس زیره طی چهارده روز تحت نظر بودن تلف نشدند.

موش‌های که اسانس را در مقادیر ۸۰، ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به شکل خوراکی و به طور روزانه دریافت کردند؛ تغییر آماری معنی داری در میزان دریافت آب و غذا نشان ندادند و مقایسه وزن این دسته از حیوانات در فواصل روزهای صفر، هفت و چهارده نیز تغییر آماری معنی داری نشان نداد. در ارزیابی ظاهری اندام‌های حیواناتی که در آخر دوره چهارده روزه کالبدگشایی شدند؛ تغییرات پاتولوژیک مشخصی وجود نداشت. در مقایسه وزن نسبی اندام‌های مختلف بدن اعم از کبد، کلیه‌ها، ریه‌ها، قلب و طحال تفاوت آماری معنی داری با گروه کنترل یافت نشد (جدول یک).

با توجه به نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های کبدی و پروتئین تام، تفاوت آماری معنی داری بین حیوانات دریافت کننده اسانس و موش‌های گروه کنترل یافت نشد (جدول یک). ارزیابی ماکروسکوپی و میانگین شاخص زخم و شاخص

بحث

نتایج مربوط به بررسی مسمومیت اسانس زیره سیاه نشان داد که دریافت بیش از حد اسانس بی خطر محسوب شده و تغییری در فعالیت آنزیم‌های کبدی ایجاد نمی‌کند. در پیشگیری از زخم معده ناشی از ایندومتاسین، با دریافت اسانس شاخص زخم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت؛ اما اسانس زیره نتوانست در برابر زخم حاصل از اتانول خیلی موثر باشد.

مطالعات سم‌شناسی بخشی از بررسی‌های فارماکولوژیک به حساب می‌آید که به سنجش اثرات نامطلوب مواد بیواکتیو بر روی ارگان‌های حیاتی می‌پردازد. در راستای تعیین سمیت حاد اسانس زیره سیاه مقدار LD₅₀ به میزان ۳۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن محاسبه گردید. از طرفی نتایج مربوط به یافته‌های بالینی و مرگ و میر در دوزهای بالاتر و سمی اسانس مذکور نشان داد که دریافت بیش از حد اسانس به روش خوراکی نمی‌تواند به‌عنوان یک خطر تهدیدکننده زندگی محسوب گردد. همچنین مقادیر مختلف اسانس زیره سبب تغییر در میزان طبیعی آنزیم‌های کبدی نگردید. آنزیم ALT برای کبد اختصاصی بوده و آسیب غشای سلول‌های کبدی و رتیکولوم اندوپلاسمیک منجر به افزایش حضور این آنزیم می‌شود (۱۶). Spindler و Madsen به‌طور مشابهی نشان دادند که به‌دنبال استفاده متوالی از اسانس دو نوع نعناع (*M. piperita* و *M. arvensis*) به مدت ۲۸ روز تغییرات معنی‌داری در عوامل هماتولوژیکی و بیوشیمیایی خون ایجاد نگردید (۱۷). در حالی که در مطالعه Odeyemi و همکاران بر روی نوع دیگری از گیاه نعناع (*Mentha longifolia*) تفاوت‌های آشکار و معنی‌داری در همین پارامترها گزارش شد (۱۶).

تغییرات در وزن اندام‌ها و یا وزن نسبی آنها در اثر تغییرات معنی‌دار در میزان دریافت آب و غذا توسط حیوانات بوده و یا مربوط به اثرات سمی گزنویوتیک است که در راستای مطالعه اثرات سمی مواد مختلف باید مدنظر قرار گیرد (۱۳ و ۱۸). در مطالعه حاضر نتایج مربوط به اندازه‌گیری وزن حیوانات در طول دوره و نیز با توجه به وزن نسبی اندام‌های مختلف بدن که مورد ارزیابی قرار گرفتند و عدم وجود تغییرات معنی‌داری در آنها می‌تواند دلیل دیگری بر بی‌خطر بودن اسانس زیره سیاه در مقادیر مورد مطالعه باشد. نتایج مطالعه Spindler و Madsen نیز تغییرات فاحش در وزن مطلق و وزن نسبی اندام‌های بدن به‌دنبال مصرف روزانه از اسانس در طی ۲۸ روز را نشان نداد (۱۷). در حالی که همین پارامترها در مطالعه Odeyemi و همکاران بسیار واضح و معنی‌دار بود (۱۶). هرچند اسانس گیاهان دارویی دارای ترکیباتی هستند که می‌تواند خیلی مفید باشد؛ ولی در کنار آن به‌خاطر دارا بودن ترکیبات مضر و آسیب‌رسان می‌تواند خیلی خطرناک باشند و طبیعی بودن مواد

نمی‌تواند دلیلی بر بی‌خطر بودن آنها در حین استفاده تلقی شود (۱۹). بر اساس این فرضیه، اثرات سمی برخی از اسانس‌های گیاهان دارویی (۱۶ و ۲۰) تا به‌حال مورد ارزیابی قرار گرفته است و چون مطالعه مشابهی برای گیاه زیره سیاه موجود نبود؛ به همین دلیل امکان مقایسه یافته‌های این پژوهش با سایر گزارشات وجود ندارد. مکانیسم‌های مهم دخیل در ایجاد زخم معده ناشی از مصرف داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی همچون ایندومتاسین می‌تواند در اثر افزایش ترشح اسید و کاهش ترشح موکوس و بیکربنات، کاهش تولید ترکیبات سولفیدریل غیرپروتئینی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و تولید رادیکال‌های آزاد در مخاط معده باشد (۲۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شاخص زخم در هر سه دوز استفاده شده در مقایسه با گروه دریافت‌کننده ایندومتاسین به تنهایی به‌طور مشخصی کاهش داشت. این اثرات در دوزهای بالا به‌طور معنی‌داری در پیشگیری از زخم معده ناشی از ایندومتاسین نمایان شد. از آنجایی که در مطالعات قبلی اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی برای اسانس و عصاره‌های الکلی زیره سیاه (۲۲) گزارش شده است؛ می‌توان چنین اثبات کرد که اسانس زیره از طریق خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد که یکی از مکانیسم‌های ایجاد زخم توسط ایندومتاسین به‌شمار می‌آید؛ می‌تواند اثرات محافظتی در برابر تولید این نوع از زخم‌ها ایفا نماید.

در مخاط معده ترکیبات آنتی‌هیستامینی باعث مهار ترشح اسیدگاستریک می‌شود که می‌تواند در محافظت معده در برابر ایجاد زخم نقش داشته باشد. برخی از داروهای رایج ضد زخم معده مثل سایمتیدین و رانیتیدین از این دسته داروها محسوب می‌گردند (۲۳). حال چون فعالیت آنتی‌هیستامینی هم برای گیاه زیره توسط بوسکابادی و شیخی گزارش شده است؛ می‌توان یکی از روندهای محافظتی توسط زیره را از همین طریق متصور شد که با عمل بر روی گیرنده‌های هیستامینی مانع از ترشح بیش از حد اسید در دیواره معده می‌گردد (۲۴).

اتانول منجر به تخریب سلول‌ها و ایجاد ضایعه مخاطی می‌شود. در مقابل اثر ضدزخمی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان دارویی از طریق اعمال ضدترشعی و یا عملکرد حفاظتی از سلول‌ها استوار است. در مطالعه حاضر اسانس زیره در بالاترین مقدار استفاده شده (۸۰ mg/kg/bw) در حدود ۲۲ درصد توان پیشگیری از تشکیل زخم معده را بروز داد که در مقایسه با اثر داروی استاندارد امپرازول که تا ۸۰ درصد از تشکیل زخم‌ها جلوگیری نموده؛ بسیار پایین است و در مقایسه با گروه کنترل منفی تاثیر آن معنی‌دار بود. به‌عبارت دیگر اسانس زیره نمی‌تواند در برابر زخمی که توسط اتانول ایجاد می‌شود؛ خیلی موثر باشد. تجزیه و شناسایی اجزاء اسانس زیره نشان داد که از مجموع ۱۸ ترکیب شناسایی شده که ۹۹/۱۴ درصد کل

و از طریق مهار ترشح اسید باعث پیشگیری از بروز زخم توسط مواد ایجاد کننده بشود. با توجه به این که اسانس از طریق خوراکی به حیوان داده می‌شود؛ حضور آن در داخل معده می‌تواند در تغییر pH محیط معده موثر بوده و مانع از تشکیل زخم‌های شدید گردد (۲۷).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف کوتاه مدت اسانس زیره سیاه بی‌خطر بوده و ایجاد مسمومیت نمی‌نماید. همچنین اسانس زیره سیاه از تشکیل زخم‌های معده در مدل‌های تجربی جلوگیری نمود. لذا یافته‌های این مطالعه می‌تواند مؤیدی بر استفاده فراوان از این گیاه در برطرف کردن ناراحتی‌های گوارشی به‌ویژه در درمان زخم‌ها و سوزش‌های معدی در طب سنتی باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت‌های دانشکده دامپزشکی و معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه اجرا شد و به این خاطر کمال تشکر و قدردانی خود را اعلام می‌داریم. از آقای دکتر مسعود مهام و از کارکنان محترم بخش داخلی و حیوانات آزمایشگاهی کلینیک تخصصی به دلیل فراهم نمودن زمینه انجام کار، تشکر می‌نمایم.

References

- Santin JR, Lemos M, Klein-Júnior LC, Machado ID, Costa P, de Oliveira AP, ET AL. Gastroprotective activity of essential oil of the *Syzygium aromaticum* and its major component eugenol in different animal models. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2011 Feb;383(2):149-58.
- Nwido LL, Nwafor PA. Gastroprotective effects of leaf extracts of *Carpolobia lutea* (polygalaceae) G. Don. in rat. *Afric J Biotechnol*. 2009; 8: 012-019.
- Hari Babu T, Manjulatha K, Suresh Kumar G, Hymavathi A, Tiwari AK, Purohit M, et al. Gastroprotective flavonoid constituents from *Oroxylum indicum* Vent. *Bioorg Med Chem Lett*. 2010 Jan;20(1):117-20.
- Parveen, Upadhyay B, Roy S, Kumar A. Traditional uses of medicinal plants among the rural communities of Churu district in the Thar Desert, India. *J Ethnopharmacol*. 2007 Sep; 113(3):387-99.
- Zargari A. [Medicinal plants]. Tehran: Tehran University Publication. 2007; pp: 64-6. [Persian]
- 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.
- 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 Nov;33(11):2123-32.
- 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 Chemistry*. 2010; 120(3): 765-70.
- 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.
- Hajhashemi V, Sajjadi SE, Zomorodkia M. Antinociceptive

and anti-inflammatory activities of *Bunium persicum* essential oil, hydroalcoholic and polyphenolic extracts in animal models. *Pharm Biol*. 2011 Feb;49(2):146-51.

11. Mandegary A, Arab-Nozari M, Ramiar H, Shariffar F. Anticonvulsant activity of the essential oil and methanolic extract of *Bunium persicum* (Boiss). B. Fedtsch. *J Ethnopharmacol*. 2012 Mar;140(2):447-51.

12. Lahlou M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother Res*. 2004 Jun;18(6):435-48.

13. Lorke D. A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch Toxicol*. 1983 Dec;54(4):275-87.

14. Nwafor PA, Okwuasaba FK, Binda LG. Antidiarrhoeal and antiulcerogenic effects of methanolic extract of *Asparagus pubescens* root in rats. *J Ethnopharmacol*. 2000 Oct;72(3):421-7.

15. Morimoto Y, Shimohara K, Oshima S, Sukamoto T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. *Jpn J Pharmacol*. 1991 Dec;57(4):495-505.

16. Odeyemi OO, Yakubu MT, Masika PJ, Afolayan AJ. Toxicological evaluation of the essential oil from *Mentha longifolia* L. subsp. *capensis* leaves in rats. *J Med Food*. 2009 Jun;12(3):669-74.

17. Spindler P, Madsen C. Subchronic toxicity study of peppermint oil in rats. *Toxicol Lett*. 1992 Sep;62(2-3):215-20.

18. Lansdown ABG. *Animal Husbandry*. In: Anderson D, Conning DM. (editor). *Experimental Toxicology*. 2nd. London: Royal Society of Chemistry. 1993; pp:82-106.

19. Dweck AC. Toxicology of essential oils reviewed. *Personal Care*. 2009; 65-77.

20. Budin SB, Siti Nor Ain SM, Omar B, Taib IS, Hidayatulathi O. Acute and subacute oral toxicity of *Litsea elliptica* Blume essential oil in rats. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2012 Oct;13(10):783-

90.

21. Suleyman H, Albayrak A, Bilici M, Cadirci E, Halici Z. Different mechanisms in formation and prevention of indomethacin-induced gastric ulcers. *Inflammation*. 2010 Aug;33(4):224-34.

22. Haghiroalsadat F, Vahidi A, Sabour M, Azimzadeh M, Kalantar M, Sharafadini M. [The indigenous *Cuminum Cyminum* L. of Yazd province: chemical assessment and evaluation of its antioxidant effects]. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci*. 2011;19(4):472-81. [Article in Persian]

23. Brown NJ, Roberts J. Histamine, bradikinin and their antagonist in Goodman- Gillman,s. In: Tenth ED. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 1st. New York: Mc Graw Hill. 2001; pp: 645-68.

24. Boskabady MH, Shaikhi J. Inhibitory effect of *Carum copticum* on histamine (H1) receptors of isolated guinea-pig tracheal chains. *J Ethnopharmacol*. 2000 Mar;69(3):217-27.

25. Hiruma-Lima CA, Gracioso JS, Toma W, Almeida AB, Paula AC, Brasil DS, et al. Gastroprotective effect of aparisthman, a diterpene isolated from *Aparisthium cordatum*, on experimental gastric ulcer models in rats and mice. *Phytomedicine*. 2001 Mar;8(2):94-100.

26. Lewis DA, Shaw GP. A natural flavonoid and synthetic analogues protect the gastric mucosa from aspirin-induced erosions. *J Nutr Biochem*. 2001 Feb;12(2):95-100.

27. La Casa C, Villegas I, Alarcón de la Lastra C, Motilva V, Martín Calero MJ. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol*. 2000 Jul;71(1-2):45-53.

28. Hosseinzadeh H, Karimi G, Fadishei M, Basirat M. [Anticonvulsant effects of *Cuminum cyminum* L. seeds extracts and essential oil in mice]. *J Med Plants*. 2002; 1(2): 9-14. [Article in Persian]

Original Paper

Anti ulcerogenic activity of *Bunium persicum* Boiss. essential oil in induced ulcer models in Wistar rats

Jalilzadeh-Amin G (DVM., DVSc)*¹, Yousefi AR (DVM)², Abdollahi-Pirbazari M (DVM)³

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

²Urmia University, Veterinary Surgery Resident, Urmia, Iran. ³Tehran University, Small Animal Internal Medicine Resident, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: *Bunium persicum* is often used in Iranian traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders particularly gastric ulcer. This study was done to evaluate the antiulcerogenic effect of *Bunium persicum* Boiss. essential oil against indomethacin and ethanol – induced ulcer models in Wistar rats.

Methods: This experimental study was carried out on rats weighing 200-220 g in veterinary college of Urmia University, Iran. LD₅₀ was calculated based on Lorke's method. To evaluate the short term oral toxicity, animals were allocated into four group of six each. In groups 1-3 animals were received orally 250, 125, 80 mg/kg/bw of *Bunium persicum* Boiss. essential oil, respectively. Controls were received Tween 80 (2%) orally for 14 consecutive days and monitored daily. *Bunium persicum* Boiss. essential oil was administered orally at doses of 20, 40 and 80 mg/kg/bw and cimetidin (10 mg/kg/bw) and omopirazol (30 mg/kg/bw) in indomethacin and ethanol-induced ulcer models.

Results: The LD₅₀ was 375 mg/kg/bw. Daily single oral doses of *Bunium persicum* Boiss. essential oil tolerated behaviorally after 14 days without any alterations in body and organs weight, food, water consumption and serum total protein, alanine and aspartate aminotransferase activity. The preventive index in doses of 40 and 80 mg/kg/BW of *Bunium persicum* Boiss. essential oil was 37.98% and 59.21%, respectively in the indomethacin -induced ulcer model (P<0.05). In the model of ethanol -induced ulcer, the preventive index in doses of 40 and 80 mg/kg of *Bunium persicum* Boiss. essential oil was 12.40% and 22.05%, respectively (P<0.05).

Conclusion: The essential oil of *Bunium persicum* Boiss is completely “safe” and at the doses of 40 and 80mg/kg/bw significantly prevent gastric ulcers in animal model.

Keywords: *Bunium persicum* Boiss., Gastric ulcer, Indomethacin, Ethanol

* Corresponding Author: Jalilzadeh-Amin G (DVM., DVSc), E-mail: g.jalilzadeh@urmia.ac.ir

Received 1 May 2013

Revised 20 Aug 2013

Accepted 20 Aug 2013