

بررسی اثرات مهاری دو اسانس مختلف گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) بر روی انقباضات ایلئوم در مقایسه با فراورده دارویی موجود آویشن برای مصارف بالینی

دکتر حسن صدراپی^{*}، دکتر ولی‌اله حاج‌هاشمی^{*}

چکیده:

گیاه آویشن یکی از گیاهان دارویی ایران است که به صورت سنتی برای ناهنجاریهای اسپاسمی دستگاه گوارش استفاده می‌شود ولی اثرات فارماکولوژی آن به صورت مستند علمی تاکنون گزارش نشده است. در این تحقیق اثرات ضد اسپاسمی اسانس آویشن بر روی انقباضات ایلئوم مطالعه گردید. برای این منظور رانهای ویستار با ضربه سر کشته شدند. سپس قسمتی از ایلئوم جدا شد و در محلول تیروید که با اکسیژن‌گاز دهی می‌شد قرار گرفت. انقباضات ایزوتونیک توسط اسپاسموژن (KCl) در بافت ایجاد گردید و بر روی کاغذ فیزیوگراف ثبت گردید. اثرات غلظتهای مختلف اسانس گیاه بر روی انقباضات ناشی از کلرید پتاسیم ۸۰ میلی مولار برای به دست آوردن غلظتهای مؤثر سنجیده شد. اثر هر اسانس با کنترل خودش که معادل حجمی حامل (vehicle) را دریافت کرده بود مقایسه گردید. اسانس برگ آویشن در غلظتهای افزایشی، انقباضات ناشی از کلرید پتاسیم را به صورت وابسته به غلظت مهار کرد ($P=0/4 \pm 0/12$; قدرت دارو). اثر دو اسانس مختلف آویشن بر روی انقباضات ناشی از کلرید پتاسیم در ایلئوم رات بیانگر این است که اثر مهاری اسانس برگ بیشتر از اسانس کل اندام هوایی گیاه آویشن است. قطره میکسچر آویشن که برای درمان سندرم روده تحریک پذیر استفاده می‌شود مخلوطی از آویشن (۴۰٪)، نعناع (۳۰٪)، زیره (۲۰٪) و رازیانه (۱۰٪) است. مقایسه اثرات مهاری قطره میکسچر آویشن موجود برای مصارف بالینی با نسبت مشابهی از مخلوط اسانسهای آنها در غلظتهای معادل اثرات مهاری مشابهی بر روی انقباضات ایلئوم داشتند ولی از نقطه نظر قدرت مهاری (پوتنسی) اثر مهاری آن کمتر از اسانس گیاه آویشن به تنهایی است. این مطالعه نشان می‌دهد که اسانس گیاه آویشن یک مهارکننده انقباضات ایلئوم ایزوله شده است. از آنجا که اساس درمان کرامپهای شکمی و اسهال بر مهار انقباضات روده استوار است، نتایج این تحقیق بیانگر مفید بودن اسانس گیاه آویشن برای درمان اختلالات فوق است.

واژه‌های کلیدی: اسانس آویشن، عضلات صاف ایلئوم، اسپاسم روده، کلرید پتاسیم.

مقدمه:

خواص درمانی احتمالی آن بود. آویشن یکی از گیاهان دارویی سنتی متعددی است که برای درمان ناراحتیهای گوارشی از جمله اسهال، دل پیچه و دل درد بکار می‌رود (۶).

اثرات مفید گیاهان دارویی در درمان ناهنجاریهای

آویشن (تیموس ولگاریس) گیاهی است علفی که به صورت خودرو در کوهستانهای مختلف ایران می‌روید (۴،۱). استفاده دارویی از این گیاه در درمان بیماریها سابقه طولانی دارد. کاربرد دارویی آویشن در گذشته محدود به استفاده جوشانده و دم کرده گیاه به منظور

^{*}استادیار گروه فارماکولوژی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با ضربه سربیهوش و سر آنها قطع گردید. سپس بخشی از ایلئوم به دقت جدا و در محلول تیروید (Thyrod's) (به قسمت محلولها مراجعه شود) اکسیژن داده شده و در دمای اتاق قرار داده شد. بافتهای همبند به دقت از عضله جدا گردید و سپس قسمتی از بافت به طول ۲-۳ سانتیمتر در یک حمام بافت (organ bath) حاوی محلول تیروید در دمای 37°C که با اکسیژن گاز دهی می شد به یک ترانس دیوسر (Harvard isotonic transducer) متصل و آویزان گردید. انقباضات ایزوتونیک ایجاد شده در بافت توسط KCl (تحت ۱g وزن) به دستگاه فیزیوگراف (Harvard Universal Oscillograph, U.K) منتقل و بر روی انقباضات ناشی از KCl به صورت تجمعی (cumulative) بررسی گردید. اثر هر غلظت اسانس بر روی انقباضات پس از ده دقیقه مجاورت با بافت سنجیده شد. آزمایش بر روی هر بافت به موازات یک بافت کنترل از همان حیوان انجام گرفت که به جای اسانس معادل حجمی حامل اسانس (توئین یا الکل) به حمام بافت اضافه گردید (۹).

داروها و محلولها:

محلول تیروید حاوی مواد زیر بر حسب میلی مولار (mM): $\text{NaCl}=139/9$, $\text{KCl}=2/68$, $\text{NaHCO}_3=11/9$, $\text{CaCl}_2=1/8$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4=0/42$ و $\text{MgCl}_2=1/05$ و گلوکز = $5/55$ در آب دو بار تقطیر تهیه گردید و با دی اکسید کربن گاز دهی شد تا pH آن به $7/4$ رسید. سپس مداوم با اکسیژن گاز دهی گردید. اسانسهای مورد استفاده در این مطالعه که به روش British pharmacopoeia تهیه گردیده است (۸) عبارتند از: اسانس خالص برگ آویشن (تیموس ولگاریس)، اسانس کل اندام هوایی گیاه آویشن، اسانس نعناع، اسانس زیره، اسانس رازیانه و قطره میکسچر

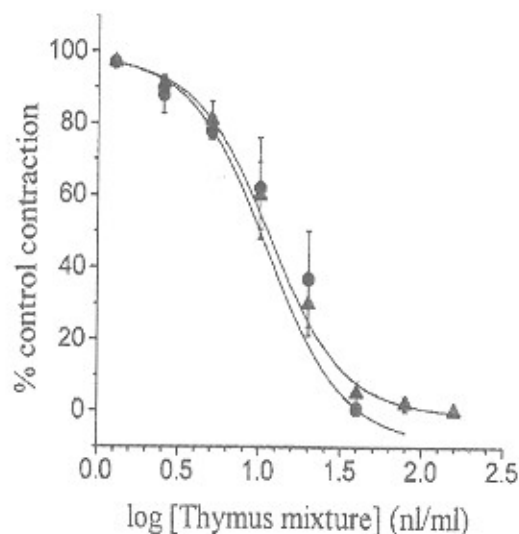
گوارشی به توانایی آنها در مهار انقباضات روده نسبت داده شده است (۱۱،۹،۵). با وجود استفاده گسترده این گیاهان در طب سنتی ایران (۲) مطالعات فارماکولوژی اندکی بر روی بعضی از آنها صورت گرفته است (۵). توسعه مصرف گیاهان دارویی تحقیقات اصولی فارماکولوژیک بر روی گیاهان دارویی و ترکیبات مؤثره آنها را ضروری تر می سازد. بدیهی است اثرات فارماکولوژیک داروهای تهیه شده از این گیاهان در ارتباط با بعضی یا مجموعی از مواد مؤثره موجود در آنها است. این مواد مؤثره ممکن است قسمتی از اسانسهای گیاه باشد (۱۱،۹،۵). امروزه به سادگی می توان اسانس گیاهان دارویی را جدا نمود و مورد مطالعه قرار داد. بنابراین در صورت مشخص شدن فراکسیون مؤثره می توان بهره برداری بهتری از گیاهان دارویی نمود.

عصاره گیاه آویشن (تیموس ولگاریس) دارای اثرات رفع انقباضی بر روی عضلات صاف جدا شده کوچک است و انقباضات ناشی از کلرید باریم، کارباکول، هیستامین و پروستاگلاندین $\text{F}_{2\alpha}$ را مهار می کند (۱۰). تا کنون شواهد علمی استاندارد در مورد اثرات فارماکولوژی آویشن (تیموس ولگاریس) بر روی انقباضات ایلئوم گزارش نشده است در حالی که اسانس این دارو برای استفاده بالینی در بازار گیاهان دارویی ایران موجود است و برای تسکین دردهای مبهم دستگاه گوارش مانند سندرم روده تحریک پذیر توصیه شده است. بنابراین، هدف این تحقیق بررسی اثرات اسانس گیاه آویشن بر روی انقباضات ایلئوم رات و تعیین غلظتی از اسانس که دارای اثرات رفع انقباضی است و ارائه شواهد علمی برای اثرات رفع انقباضی اسانس آویشن برای استفاده آن در ناهنجاریهای اسپاسمی دستگاه گوارش می باشد.

مواد و روشها:

راتهای نر نژاد Wistar (۲۵۰g-۲۰۰) تکثیر شده در

ایلثوم گردید. این انقباضات تونیک در طول آزمایش در بافتهای کنترل بدون کاهش محسوسی کماکان پایدار بود. اسانس برگ آویشن (۱۶-۵/۰ ml/ml) به صورت وابسته به غلظت انقباضات ناشی از ۸۰ mM کلرید پتاسیم را مهار کرد (Potency = ۰/۴ ± ۰/۱۲). عکس غلظتی از دارو که موجب ۵۰٪ حداکثر اثر مهاری می شود. در غلظت ۸ ml/ml اسانس برگ آویشن تقریباً به طور کامل انقباضات تونیک را از بین برد (n=۵، P<۰/۰۰۱، نمودار شماره ۱). این اثرات مهاری آویشن ظرف ۱۰ دقیقه تماس با بافت مشاهده می شد و تا زمانی که اسانس آویشن در محلول بافت حضور داشت ادامه داشت و بعد از ۳۰ تا ۴۰ دقیقه شستشوی بافت با محلول تیروید تازه اثر مهاری آن به تدریج از بین رفت و پاسخ معمولی به KCl مجدداً باز می گشت. آن چنان که در نمودار شماره ۱ مشاهده می شود اسانس کل اندام هوایی گیاه آویشن (۴۰-۵/۰ ml/ml) نیز اثر مهاری خوبی بر روی انقباضات ناشی از KCl دارد و موجب مهار کامل



نمودار شماره ۱: اثرات تجمعی اسانس برگ آویشن (۴۰٪)، نعنای (۳۰٪)، زیره (۲۰٪) و رازیانه (۱۰٪) (مثلت: n=۶) و قطره میکسچر آویشن (دایره؛ n=۶) بر روی انقباضات ناشی از ۸۰ mM کلرید پتاسیم در بافت ایلثوم رات. منحنی سیگموئیدی توسط برنامه گرافیکی Origin بر روی نقاط رسم شده است. محور عمودی میانگین درصد انقباضات را نسبت به کنترل قبل از افزودن دارو در هر بافت را نشان می دهد و محور افقی لگاریتم غلظت هر عصاره است. خطوط عمودی واقع بر روی علائم نشان دهنده S.E.M است.

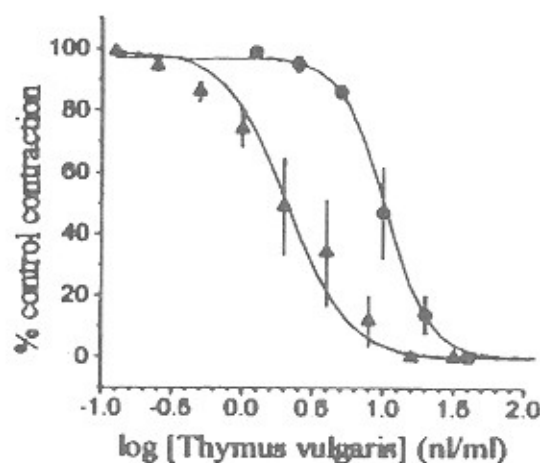
آویشن. اسانسها ابتدا در محلول ۱۰٪ توئین-۲۰ و آب مقطر تهیه گردیدند و سپس با آب مقطر رقیق شدند. مواد شیمیایی از شرکت Merck خریداری گردید.

اندازه گیری انقباضات و آنالیز آماری:

انقباضات ایلثوم براساس سطح زیر منحنی انقباضات در فواصل پنج دقیقه ای اندازه گیری و بر حسب درصد پاسخ قبل از تجویز اسانس گیاه بیان گردید. میانگین و خطای معیار (S.E.M) برای هر گروه از نتایج محاسبه و مقایسه درون گروهی با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام گرفت. اختلافاتی که در آن مقدار P<۰/۰۵ بود معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

ایلثوم ایزوله شده رات در محلول تیروید از خود فعالیتهای انقباضی خود بخودی نشان می دهد. KCl در غلظت ۸۰ mM موجب انقباض ممتد (تونیک) بافت



نمودار شماره ۱: اثرات تجمعی اسانس برگ آویشن (تیموس ولگاریس، مثلت: n=۵) و اسانس کل اندام هوایی گیاه آویشن (دایره؛ n=۶) بر روی انقباضات ناشی از ۸۰ mM کلرید پتاسیم در بافت ایزوله ایلثوم رات. منحنی سیگموئیدی توسط برنامه گرافیکی Origin بر روی نقاط رسم شده است. محور عمودی میانگین درصد انقباضات را نسبت به کنترل قبل از افزودن دارو در هر بافت را نشان می دهد و محور افقی لگاریتم غلظت هر عصاره است. خطوط عمودی واقع بر روی علائم نشان دهنده S.E.M است.

انقباضات می شود ولی قدرت مهارى آن کمتر از اسانس برگ آویشن است ($Potency = 0.093 \pm 0.015$, $n=6$) و در غلظت 40 nl/ml موجب از بین رفتن کامل پاسخ انقباضى KCl گردید ($P < 0.001$). مخلوطی از اسانسهای آویشن (40٪)، نعناع (30٪)، زیره (20٪) و رازیانه (10٪) نیز دارای اثر مهارى بر روی انقباضات روده است ($P < 0.001$ ، نمودار شماره 2) ولی قدرت مهارى آن کمتر از اثر مهارى اسانس آویشن به تنهایی است ($Potency = 0.068 \pm 0.019$, $n=6$). مقایسه اثرات مهارى قطره میکسچر آویشن موجود برای مصارف بالینی با نسبت مشابهی از مخلوط اسانسهای خالص آنها در غلظتهای معادل اثرات مهارى مشابهی بر روی انقباضات ایلئوم نشان می دهد (نمودار شماره 2). معادل حجمی اتانول (حامل قطره میکسچر آویشن) و توئین تأثیر معنی داری از لحاظ آماری بر روی انقباضات ناشی از KCl نداشتند.

بحث:

حرکات دودی دستگاه گوارش عامل اصلی جلو راندن محتویات دستگاه گوارش است که فعالیت آن توسط فعالیت سیستم پاراسمپاتیک (تحریکی) و سمپاتیک (مهارى) کنترل می شود. افزایش انقباضات بیش از حد عضلات صاف دستگاه گوارش موجب کرامپهای شکمى، دل درد و بعضاً اسهال می شود. این حرکات می تواند علل مختلف از قبیل عفونت، توکسین میکروارگانسیمها، اضطراب و مصرف داروها داشته باشد. اسهال حاد یکی از علل مرگ و میر اطفال با سوء تغذیه به ویژه در کشورهای در حال توسعه است. برای درمان اسهال از سرمهای خوراکی (ORS) جهت کنترل تعادل الکترولیت و مایع، آنتی بیوتیکها (در صورت وجود عفونت باکتریایی، پروتوزوئر یا قارچی) و داروهای کاهنده حرکات روده از قبیل اپیوئیدها و آنتاگونیستهای موسکارینی استفاده می شود. اپیوئیدهایی مانند

لوپرامید و دی فنوکسیلات و آنتاگونیستهای موسکارینی مانند دی سیکلومین که برای کاهش اسپاسمهای شکمى و کنترل اسهال بکار می روند عوارض جانبی متعددى را به دنبال دارند. بنابراین نیاز به داروهایی با خواص ضد اسپاسم مشابه با عوارض کمتر و قابل دسترس بودن همیشه مورد نظر مردم بوده است و از این رو گیاهان دارویی یک جایگزین برای این گونه داروها به حساب می آمده است. مرزه، کلپوره و آویشن از جمله این گیاهان دارویی هستند که به صورت سنتی برای درمان ناهنجاریهای اسپاسمی دستگاه گوارش استفاده می شوند (11, 9, 5, 1). بررسی اثرات اسانس مرزه و کلپوره بر روی انقباضات ایلئوم نشان می دهد که ترکیبات این گیاهان انقباضات ایلئوم را به خوبی مهار می کنند (11, 9, 5) و پتانسیل لازم را برای استفاده به عنوان یک داروی ضد اسپاسم به خوبی دی سیکلومین را دارند (9). این گونه مطالعات فارماکولوژیک در مورد اسانس گیاه آویشن قبلاً منتشر نشده است لذا با توجه به مصرف عصاره گیاه آویشن به عنوان یک داروی ضد اسپاسم در این تحقیق اثرات اسانس گیاه آویشن (تیموس ولگاریس) بر روی بافت ایزوله شده ایلئوم برای تعیین دقیق قدرت (پوتنسی) مهارى آن و پتانسیل اثر بخشى آن در درمان ناهنجاریهای اسپاسمی ایلئوم مورد مطالعه قرار گرفت. همانگونه که در نمودار شماره 1 مشاهده می شود اسانس گیاه آویشن در غلظتهای بسیار پایین ($0.5-16$ nl/ml) انقباضات بافت ایلئوم را مهار می کند. کاهش اثر مهارى وقتى که اسانس از کل اندام هوایی گیاه تهیه می شود بیانگر این است که مواد مؤثره ضد اسپاسمی گیاه بیشتر در برگهای گیاه متمرکز است. مقایسه اثر مهارى ترکیب مخلوطی از اسانسهای خالص آویشن (40٪)، نعناع (30٪)، زیره (20٪) و رازیانه (10٪) در حجمهایی معادل با حجم اسانس خالص برگ آویشن حاکی از آن است که برای رسیدن به اثرات مهارى لازم است که غلظت بالاتری از ترکیب مخلوط

کلرید پتاسیم ندارد (۱۱،۵). از طرف دیگر اگر چه دی‌سیکلو مین در مقایسه با آتروپین یک آنتاگونیست ضعیف‌تر رسپتورهای موسکارینی محسوب می‌شود (۹،۵) ولی در غلظت‌های بالاتر از غلظت‌هایی که اثرات استیل کولین را آنتاگونیسم می‌کند مستقیماً موجب رفع انقباض عضلات صاف ایلئوم می‌شود و انقباضات ناشی از ۸۰ mM کلرید پتاسیم را نیز مهار می‌کند (۹،۵). به همین دلیل استفاده دی‌سیکلو مین به عنوان یک داروی ضد اسپاسم روده‌ای به مراتب بیشتر از آتروپین است.

اسانس گیاه آویشن (تیموس ولگاریس) حاوی تیمول، کارواکرول، بورنتول، لینالول استر است که عمده‌ترین ترکیب آن را تیمول تشکیل می‌دهد (۴،۳). گزارشاتی نیز وجود دارد که اثرات ضد اسپاسم برخی گیاهان دارویی را به تیمول و کارواکرول موجود در آنها نسبت داده‌اند (۱۲). تیمول و کارواکرول نیز از ترکیبات موجود در اسانسهای مرزه و کلپوره است. به هر حال مکانیسم عمل رفع انقباضی این مواد هنوز به خوبی روشن نیست، اگر چه احتمال تداخل آنها با کانال‌های یونی از جمله کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ وجود دارد (۷).

از این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اسانس گیاه آویشن یک مهارکننده انقباضات ایلئوم ایزوله شده است. از آنجا که اساس درمان کرامپهای شکمی و اسهال بر مهار انقباضات روده استوار است، این خود نشان دهنده این است که استفاده از عصاره این گیاه در درمان اسپاسمهای شکمی و اسهال می‌تواند مفید باشد، بنابراین با توجه به اینکه اثر بخشی اسانس گیاه آویشن در غلظت بسیار پایین میسر است و تقریباً با اثر مهاری دی‌سیکلو مین برابری می‌کند (۹) مطالعه بیشتر بر روی اسانس این گیاه و تعیین مواد مؤثره آن ضروری است تا احتمال مفیدتر بودن و یا عوارض کمتر داشتن این دارو در مقایسه با داروهای موجود دیگر معلوم گردد.

اسانس بکار برده شود تا اثرات مهاری ظاهر گردد. این بدین معنی است که احتمالاً اثر مهاری ناشی از ترکیب این اسانسها بیشتر در ارتباط با مواد مؤثره موجود در گیاه آویشن است و افزودن اسانس نعناع، زیره و رازیانه اثر مهاری اسانس آویشن را تشدید نکرده است. به عبارت دیگر در این مورد ترکیب مواد مؤثره گیاهان مختلف با هم اثر سینرژیسم آن چنان که بعضی معتقد به آن هستند از خود نشان نمی‌دهد. بنابراین توصیه می‌شود که به جای ترکیب اسانس این گیاهان دارویی برای درمان اسپاسمهای شکمی از اسانس خالص آویشن استفاده شود زیرا در غلظت‌های پایین‌تری اثر مهاری خوبی دارد و احتمالاً عوارض جانبی کمتری به دنبال دارد. مقایسه اثر مهاری اسانس برگ آویشن با اسانس مرزه (۹،۵) و کلپوره (۱۱،۵) نشان می‌دهد که اگر چه اسانس گیاه مرزه و کلپوره دو داروی بسیار خوب ضد اسپاسم هستند (۱۱،۹) ولی از نقطه نظر پوتنسی (قدرت دارو) اثر مهاری اسانس گیاه آویشن در غلظت‌های پایین‌تری حاصل می‌گردد که این خود بیانگر مؤثرتر بودن اسانس برگ گیاه آویشن در مقایسه با مرزه و کلپوره است. از آنجا که اسانس گیاه آویشن به خوبی انقباضات ناشی از دپولاریزاسیون سلولی را مهار می‌کند (۸۰ mM خارج سلولی)، این بیانگر این است که این دارو توانایی مهار اسپاسم‌ها با منشأ مختلف را دارد. اثرات مهاری عصاره آویشن بر روی انقباضات ایجاد شده بر روی تراشه خوکیچه توسط اسپاسموژن‌های مختلف نیز به این فرضیه قوت می‌بخشد (۱۰).

برای مقایسه می‌توان به اثرات آنتاگونیستهای رسپتورهای موسکارینی مثل آتروپین و دی‌سیکلو مین اشاره کرد.

آتروپین انقباضات ناشی از استیل کولین بر روی ایلئوم را به خوبی مهار می‌کند (۱۱،۵) ولی در غلظت‌های بالا هم تأثیری بر روی انقباضات ناشی از ۸۰ mM

تشکر و قدردانی:

این پژوهش با حمایت شرکت باریج اسانس انجام گرفته است، بنا بر این از زحمات آنان تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع:

- ۱- آئینه چی یعقوب، مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران: مرکز نشر دانشگاهی، تهران، ۳-۳۲۲، ۱۳۷۰.
- ۲- زرگری علی، گیاهان دارویی: انتشارات دانشگاه تهران، جلد چهارم، ۱۳۰-۳۵، ۱۳۶۹.
- ۳- صمصام شریعت هادی، تجزیه و شناسایی مواد دارویی به روش میکروسکوپی و کروماتوگرافی: انتشارات مشعل، تهران، ۳-۲۲۱، ۱۳۶۸.
- ۴- صمصام شریعت هادی؛ معطر فریبرز، گیاهان و داروهای طبیعی: انتشارات مشعل، تهران، جلد سوم، ۴۱۰-۳۵۵، ۱۳۷۰.
- ۵- محسنی طاهری ماندانا، بررسی اثر آنتی اسپاسم اسانس مرزه و کلپوره روی انقباضات عضله صاف جدا شده ایلئوم رات، رساله دکتری عمومی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۱۳۷۷.
- ۶- میر حیدری حسین، گنجینه اسرار گیاهان: انتشارات وحید، تهران، ۲۰، ۱۳۶۴.
- 7- Aqel MB.; Ghavaibeh MN. Calcium antagonist effects of the volatile oil of *Teucrium Polium*. Internal J Crude Drug Res, 28: 201-7, 1990.
- 8- British pharmacopoeia. HMSO. London: UK, 2: 137-8, 1988.
- 9- Hajhashemi V.; Sadraei H.; Ghannadi AR.; Mohseni M. Antispasmodic and anti-diarrhoeal effect of *Satureja hortensis* L. essential oil. J Ethnopharmacol, 71(1-2): 187-92, 2000.
- 10- Meister A.; Bernhardt G.; Christofell V.; Buschauer A. Antispasmodic activity of *Thymus vulgaris* extract on the isolated guinea-pig trachea: discrimination between drug and ethanol effects. Planta Med, 65(6): 512-6, 1999.
- 11- Sadraei H.; Hajhashemi V.; Ghannadi AR.; Mohseni M. Antispasmodic effect of *Teucrium Polium* L. essential oil (in press, Med J IRI).
- 12- Van Den Brouke CO.; Lemi JA. Antispasmodic activity of *Origanum compactum*, part 2: Antagonistic effect of thymol and carvacrol. Planta Med, 45: 188-90, 1982.