Physiology and Pharmacology, 18 (4), 416-428
Winter 2015 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Effects of *Artemisia dracunculus* essential oil on diarrhea and intestinal transit time in rat gastrointestinal tract

Ghader Jalilzadeh-Amin[1*], Behzad Mehrivar qarehdarvishlu[2]

1. Dept. of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
2. School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 15 Mar 2014 **Accepted: 25 Sept 2014**

Abstract

Introduction: *Artemisia dracunculus L.* belongs to *Asteraceae* family, and is a medicinal plant widely used in traditional medicine as a remedy for gastrointestinal disturbances. This study was undertaken to evaluate the effects of essential oil of *A. dracunculus* (EOAD) on the rat alimentary tract.

Methods: The EOAD was extracted by Clevenger apparatus using hydrodistillation. LD_{50} was calculated based on the Lorke's method. The effects of EOAD (50–125 mg/kg) on intestinal transit time and diarrhea were investigated in adult Wistar rats. EOAD was administered *via* oral route. For antidiarrheal effect evaluation, castor oil (2 mL/rat) was administered intragastrically 30 min after EOAD (50-100 mg/kg) treatments and loperamide (3 mg/kg). The rat cages were inspected hourly up to 4 hours for the presence of the characteristic diarrheal droppings, start time of diarrhea, weight of stool, and the number of stool plates.

Results: The LD_{50} was 707.10 mg/kg. EOAD significantly inhibited intestinal motility at 125 mg/kg dose ($P<0.05$). EO inhibitory effect was significantly ($P<0.05$) enhanced with simultaneous atropine. Castor oil caused diarrhea in all animals in the control group in 93.83± 4.81 min. EOAD inhibited the castor oil-induced diarrhea at 75 and 100 mg/kg doses. The EOAD delayed the onset of diarrhea, and produced a significant decrease in the frequency of defecation as well as severity of diarrhea. It also protected the rats against diarrhea. In comparison with loperamid, the reference antidiarrheal agent, the higher dose of EOAD demonstrated the same effective protection as castor oil-induced diarrhoea.

Conclusion: These primary data indicated that the plant contains antidiarrheal constituents, which support the popular therapeutic use of *A. dracunculus* for gastrointestinal disorders in traditional medicine.

Key words: Gastrointestinal disorders, *A. dracunculus*, Motility, Castor oil, Antidiarrheal

[*] Corresponding author e-mail: g.jalilzadeh@urmia.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۸ (٤)، ٤١٦ – ٤٢٨
زمستان ۱۳۹۳

فیزیولوژی و فارماکولوژی

اثر اسانس ترخون *Artemisia dracunculus* بر روی اسهال و زمان عبور روده‌ای مواد در دستگاه گوارش موش صحرایی

قادر جلیل زاده امین[1*]، بهزاد مهریور قره درویشلو[2]
۱. گروه بیماریهای درونی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه
۲. دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه

دریافت: ۲۴ اسفند ۹۲ پذیرش: ۳ مهر ۹۳

چکیده

مقدمه: ترخون از خانواده *Apiaceae* بوده و یک گیاه دارویی است که در طب سنتی برای درمان اختلالات گوارشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مطالعه حاضر تاثیر آن بر روی دستگاه گوارش موش ارزیابی گردیده است.

روش ها: اسانس ترخون توسط دستگاه کلونجر با روش تقطیر با آب استخراج گردید. میزان LD_{50} بر اساس روش لورک تعیین شد. تاثیر اسانس با دوزهای مختلف (۵۰–۱۲۵mg/kg)، بر روی زمان عبور مواد و اسهال ایجاد شده در موش‌های صحرایی ارزیابی گردید. اسانس به شکل خوراکی خورانده شد. در بررسی اسهال سی دقیقه بعد از اعمال درمان‌ها و لوپرامید، روغن کرچک برای القا اسهال خورانده شد. قفس موش‌ها به منظور ثبت زمان شروع اسهال، وزن مدفوع، تعداد پلیت‌های مدفوعی هر یک ساعت یکبار بازرسی گردید.

یافته ها: مقدار LD_{50} برابر با ۷۰۷,۱۰ mg/kg محاسبه گردید. اسانس با دوز ۱۲۵ mg/kg بطور معنی‌داری ($P<0.05$) حرکات روده‌ای را مهار کرد. این اثر مهاری در همراهی با آتروپین بیشتر گردید ($P<0.05$). روغن کرچک در گروه کنترل بعد ۸,۴۶ ± ۱۰۳,۶۶ دقیقه باعث وقوع اسهال شد. دوزهای ۷۵ و۱۰۰ mg/kg اسانس اسهال القا شده را مهار کردند. اسانس ترخون زمان وقوع اسهال را به تأخیر انداخته، و کاهش معنی‌داری در دفعات دفع و شدت اسهال ایجاد نمود. در مقایسه با لوپرامید، اسانس ترخون اثر محافظتی مشابهی در برابر اسهال القایی ایجاد نمود.

نتیجه گیری: یافته‌های اولیه این تحقیق نشان می‌دهد که این گیاه دارای مواد و ترکیبات ضداسهالی بوده که استفاده از این گیاه در طب سنتی برای رفع مشکلات گوارشی را تایید می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: مشکلات گوارشی، ترخون، حرکات، روغن کرچک، ضد اسهال

مقدمه

در طی چندین سال گذشته بهره‌گیری از طب سنتی با محوریت استفاده از گیاهان دارویی دوباره رواج پیدا کرده و به یک نکته قابل توجه در سراسر دنیا تبدیل گشته است [۱] که یکی از مهمترین کاربردهای اکثر گیاهان آروماتیک (معطر) در طب عمومی در بین مردم جوامع، بهره بردن از آنها در بر طرف کردن شکایات مربوط به هضم و دستگاه گوارش می‌باشد. در حال حاضر شیوع اختلالات عملکردی روده‌ها و حرکات دستگاه گوارشی به حدی زیاد است که در جوامع پیشرفته هم مشکل عمده‌ای محسوب می‌گردد. در این بین اسهال که خود به تنهایی بیماری نیست و می‌تواند نشانه بیماری‌های مختلف باشد به عنوان یکی از مهمترین مشکلات

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: g.jalilzadeh@urmia.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

بهداشتی به شمار می‌آید که منجر به شیوع مرض و مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه می‌گردد [۲۳] و مهمتر این که علت اصلی مرگ و عدم رشد در کودکان زیر پنج سال می‌باشد [۵]. بطوریکه برطبق آمار سازمان بهداشت جهانی W.H.O حدود ۷/۱ میلیون مرگ به سبب اسهال در سال ۱۹۹۸ گزارش شده است [۲۷]. درمان‌های دارویی متنوعی برای اسهال استفاده می‌شود که از بین آنها می‌توان به لوپرآمید، ساب سالیسیلات بیسموت و ریسیدوتریل اشاره کرد. به سبب عوارض جانبی داروهای صناعی مانند ناراحتی‌های شکمی، خشکی دهان، تهوع، یبوست و سردرد بسیاری از گیاهان در درمان اسهال که فعالیت ضد اسهالی از طریق کاهش پویایی دستگاه گوارش و ترشح معده از خود نشان داده‌اند، به‌کار برده می‌شوند. لذا امروزه بسیاری از محققان اثرات گیاهان دارویی برای درمان اسهال را مورد مطالعه قرار می‌دهند تا آنها را جایگزین داروهای نامبرده کنند و عوارض جانبی آنها را حذف نمایند [۲۳].

یکی از بزرگترین جنس‌های خانواده آستراسه ا (*Asteraceae*) گیاهان جنس ترخون (*Artemisia*) می‌باشند که بطور وسیعی در نیمکره شمالی کره زمین گسترش پیدا کرده‌اند [۶] که ۳۴ گونه از گیاهان بصورت بومی در ایران شناسایی شده‌اند. گونه گیاهی *Artemisia dracunculus* که در ایران به نام ترخون شناخته شده است [۳۳]. در طب از این گیاه برای کمک به عمل هضم، درمان نفخ و سکسکه، بهبود روماتیس، نقرس، آرتریت، ضد کرم و تسکین دهنده دردهای دندانی استفاده شده است [۶]. از دیگر کاربردهای دارویی این گیاه می‌توان به ضدعفونی کنندگی، ضد تب بودن، خاصیت قاعده آوری، ضد انگل، مدر بودن و آرامبخشی اشاره داشت [۳۲].

روغن فرار این گیاه مانع از رشد تعداد زیادی از باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی می‌گردد [۱۵]. همچنین گزارشاتی وجود دارد که اسانس ترخون در ممانعت از رشد پاتوژن های انسانی، اجرام فاسد کننده مواد غذایی و نیز عوامل پاتوژن حیوانی بسیار فعال و موثر می‌باشد [۲۱]. با مطالعات علمی اثرات ضد قارچی اسانس ترخون تایید گردیده است [۱۲، ۱۵]. بر اساس جستجوی منابع علمی، تاکنون تاثیر اسانس این گیاه بر روی اعمال دستگاه گوارش موش مطالعه نشده است، بنابراین هدف این طرح بررسی اثرات اسانس ترخون برروی دستگاه گوارش موش به‌صورت درون زیستی (In vivo) می‌باشد که در نوع خود اولین گزارش در این زمینه محسوب می‌گردد.

مواد و روش ها

گیاه ترخون *Artemisia dracunculus* از بازار ارومیه تهیه گردید. شناسایی گیاه مورد استفاده در این مطالعه در واحد تاکسونومی بخش بیولوژی گیاهی در دانشکده علوم پایه دانشگاه تربیت مدرس توسط آقای دکتر شاهرخ کاظم پور انجام گرفت. جهت اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب، مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه ترخون تازه را در داخل دستگاه کلونجر به مدت ۳/۵ ساعت قرار داده شد. اسانس گیاه مذکور توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل ۲۰۰۰ شرکت فینیگان که متصل به دستگاه طیف‌سنج جرمی از نوع EI۲۰۰۰ (GC/MS) مورد تجزیه قرار گرفته و طیفهای جرمی و کروماتوگرام های مربوطه اخذ گردید. دستگاه طیف‌سنج جرمی با ماده شیمیایی پرفلوروتری بوتیل آمین کالیبره مورد استفاده قرار گرفت. سرعت طیف نگاری ۱ ثانیه و محدوده جرمی طیف نگاری ۸۰۰-۱۰ واحد جرم اتمی تنظیم گردید.

در راستای محافظت اسانس در برابر نور، روغن تهیه شده در بطری شیشه‌ای سیاه رنگ در داخل یخچال و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. در تمام مراحل اثر سنجی، اسانس گیاه در محلول ۲٪ توین ۸۰ رقیق شد.

موش‌های صحرایی بالغ نژاد ویستار (Wistar) با محدوده وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در کلینیک تخصصی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. حیوانات تحت شرایط محیطی استاندارد و با دسترسی آزاد (ad libitum) به آب و غذا (دان مخصوص تهیه شده از شرکت دان پارس– تهران) و با ۱۲ ساعت چرخه روشنایی و تاریکی نگهداری می‌شدند. حیوانات مورد آزمایش به مدت دو هفته جهت سازش (acclimatization) با محیط کار به محل آزمایشگاه حمل شده و مراحل آزمایش را به شکل نمایشی تجربه کردند. روش کار این تحقیق توسط شورای پژوهشی استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در دانشکده دامپزشکی ارومیه

مورد تایید قرار گرفته است.

بررسی مسمومیت حاد با اسانس ترخون و تعیین مقدار LD_{50} با استفاده از روش لورک ارزیابی گردید [۱۳]. تعیین LD_{50} در این روش در دو مرحله انجام می‌شود. در مرحله اول دوزهای ۱۰۰۰ و۷۵۰ و۵۰۰ و۲۵۰ و ۱۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان تجویز شد. بر اساس روش مذکور سه حیوان برای هر گروه در نظر گرفته شد. در مرحله دوم در هر گروه پنج سر حیوان در نظر گرفته شده و سپس با توجه به تلفات مشاهده شده در این مرحله، میزان LD_{50} محاسبه گردید.

قبل از انجام آزمایشات مربوط به بررسی ترانزیت مواد در دستگاه گوارش، موش‌های صحرایی به مدت ۲۴ ساعت از غذا محروم شده ولی دسترسی نامحدود به آب داشتند [۱۸]. در تمام مراحل آزمایشات حجم تزریق به میزان ۱۰ ml/kg وزن بدن موش‌ها رعایت گردیده است. در بررسی زمان عبور مواد به گروه اول توین، گروه دوم تا پنجم اسانس و گروه ششم آتروپین تجویز گردید. نحوه گروه‌بندی به شرح زیر بود:

- گروه اول: تجویز توین ۲٪ خوراکی (گروه کنترل منفی)
- گروه دوم: تجویز خوراکی اسانس (۵۰mg/kg)
- گروه سوم: تجویز خوراکی اسانس (۷۵mg/kg)
- گروه چهارم: تجویز خوراکی اسانس (۱۰۰mg/kg)
- گروه پنجم: تجویز خوراکی اسانس (۱۲۵mg/kg)
- گروه ششم: تجویز آتروپین (۰٫۱ mg/kg) بطور داخل صفاقی (گروه کنترل مثبت)

در یک گروه جداگانه (گروه هفتم) جهت ارزیابی مکانیسم اثر سیستم کولینرژیک ابتدا آتروپین (۰٫۱mg/kg) بطور داخل صفاقی و بعد از بیست دقیقه، اسانس با دوز (۱۰۰mg/kg) بشکل خوراکی تجویز گردید.

نیم ساعت بعد ۱/۵ میلی لیتر خوراک زغال (سوسپانسیون ۱۰٪ زغال فعال با ۵٪ صمغ عربی) برای موش‌های تمام گروه‌ها خورانده شده [۳۱] و بعد نیم ساعت، حیوانات با روش آسان کشی کشته شدند. سپس سریعاً محوطه شکمی باز گردیده و کل دستگاه گوارشی بیرون آورده شد. تمام طول روده‌ها به دقت معاینه شده و بعد از ثبت اندازه کل روده ها از انتهای پیلور تا ابتدای دریچه ایلئوسکال، مسیر طی شده توسط زغال فعال با استفاده از متر مخصوص اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول زیر بصورت درصدی از کل طول روده‌های کوچک ثبت گردید.

درصد ترانزیت = (A/B) × 100

A= مسیر طی شده توسط ذغال در داخل روده کوچک

B = طول کلی روده کوچک

جهت بررسی تاثیر اسانس بر روی اسهال القاء شده توسط کاستر اویل در رت‌ها، از پنج گروه شش تایی استفاده گردید. موش‌های مورد استفاده در این پروتکل قبلاً به مدت ۲۴ ساعت محروم از غذا بوده ولی دسترسی آزاد به آب داشتند:

- گروه اول: تجویز توین ۲٪ بصورت خوراکی (گروه کنترل)
- گروه دوم: تجویز خوراکی اسانس (۵۰mg/kg)
- گروه سوم: تجویز خوراکی اسانس (۷۵mg/kg)
- گروه چهارم: تجویز خوراکی اسانس (۱۰۰mg/kg)
- گروه پنجم: تجویز لوپرامید (۳٫۰mg/kg) بصورت خوراکی (گروه کنترل مثبت)

یک ساعت بعد از تجویز داروها و دوزهای مختلف اسانس به تمامی حیوانات مورد آزمایش در این پروتکل، کاستر اویل را در حجم ۲ میلی لیتر بصورت خوراکی دریافت کردند. بعد از القاء اسهال، حیوانات به مدت چهار ساعت در داخل قفس‌های با کف توری و دارای کاغذ سفید در زیر آن به صورت انفرادی تحت نظر گرفته می‌شوند. ابتدا زمان شروع اسهال برای هر کدام از موش‌ها ثبت شده و در ادامه معیارهای زیر در دوره چهار ساعته هر ساعت یک بار مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت: نمره اسهال بر اساس قوام مدفوع دفع شده (درجه یک: قوام نرمال، درجه دو: کمی شل‌تر از قوام نرمال (خمیری)، درجه سه: بدون قوام (اسهال شدید)، تعداد فضله (مدفوع موش)، وزن مدفوع دفع شده [۱۷، ۲۸].

در بررسی تاثیر اسانس بر روی تجمع مایعات در اسهال القاء شده توسط کاستر اویل از پنج گروه شش‌تایی موش استفاده شد موش‌های مورد استفاده در این پروتکل قبلاً به مدت ۲۴ ساعت محروم از غذا بوده ولی دسترسی آزاد به آب داشتند و گروه‌بندی به شرح زیر بود:

- گروه اول: تجویز توین ۲٪ بصورت خوراکی (گروه کنترل)
- گروه دوم: تجویز خوراکی اسانس (۵۰mg/kg)

- گروه سوم: تجویز خوراکی اسانس (۷۵mg/kg)
- گروه چهارم: تجویز خوراکی اسانس (۱۰۰mg/kg)
- گروه چهارم: تجویز لوپرآمید (3.0 mg/kg) بصورت خوراکی (گروه کنترل مثبت)

یک ساعت بعد از تجویز داروها و دوزهای مختلف اسانس به تمامی حیوانات مورد آزمایش در این پروتکل، کاستر اویل همراه با زغال فعال ۵٪ را در حجم ۲ میلی لیتر بصورت خوراکی دریافت کردند. بعد از گذشت نیم ساعت از القاء اسهال، حیوانات با روش آسان کشی کشته شدند. سریعاً محوطه شکمی باز گردیده و کل دستگاه گوارشی بیرون آورده شد. طول کل روده کوچک و مسیر طی شده توسط زغال فعال با استفاده از متر مخصوص اندازه گیری گردید. برای ارزیابی حجم مایعات مترشحه در داخل روده‌ها بعد از بیرون آوردن دستگاه گوارش دو لیگاتور یکی در محل اسفنگتر پیلور و دیگری در محل اتصال ایلئوم به سکوم کار گذاشته شده و بعد از جدا نمودن از سایر قسمت‌های لوله گوارشی محتویات روده به درون لوله مدرج سانتریفیوژ خالی شده و حجم آنها اندازه‌گیری شد [۷].

برای داده‌های با توزیع نرمال آزمون آماری آنالیز واریانس (Repeated measure ANOVA) بکار گرفته شد. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار در بین دو زوج مقایسه‌ای، تست دانت (Dunnet's test) برای مقایسه تفاوت بین گروه‌های با غلظت متفاوت اسانس و گروه کنترل (توین ۲٪) بکار گرفته شد. نتایج آزمایشات به صورت (Mean ± SEM) گزارش گردیده است. مقدار $P < 0.05$ بین گروه‌های مورد آزمایش از نظر آماری معنی دار تلقی شده است. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL) statistic ver.17.0 انجام گرفت.

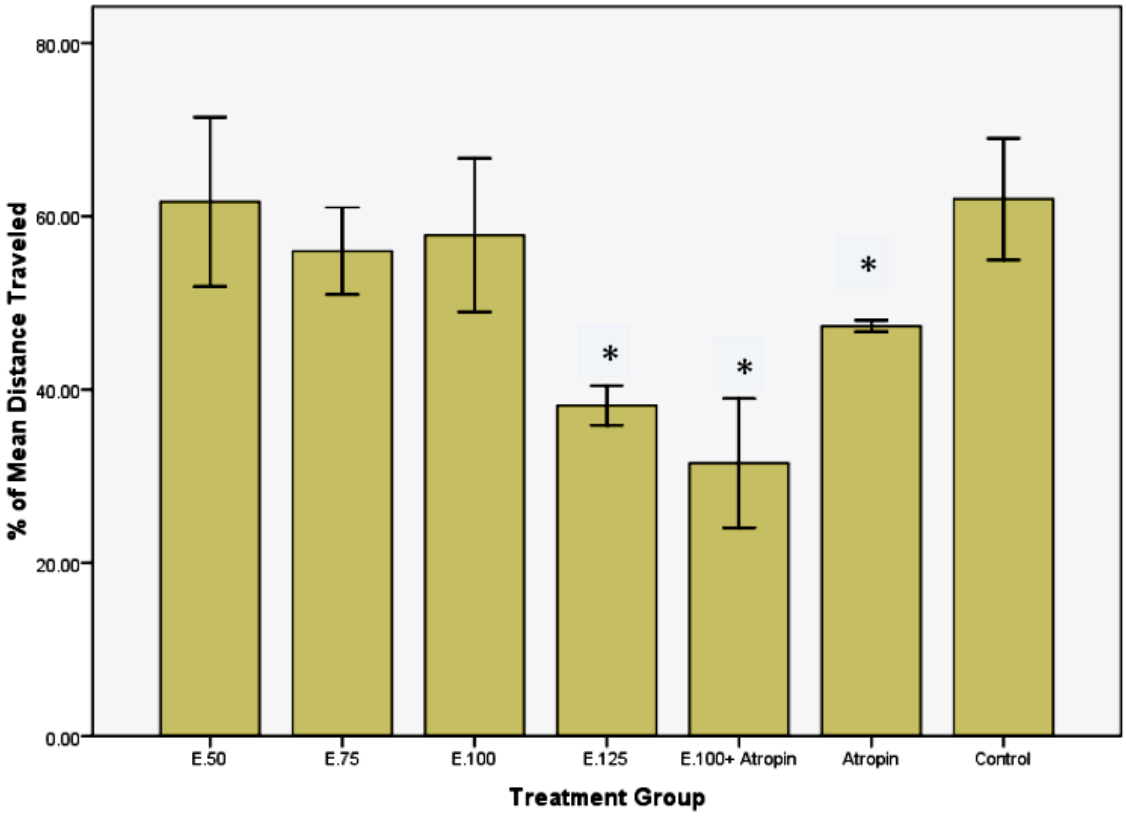
یافته ها

بازده اسانس از گیاه ترخون ۳/۲۰٪ بود. اسانس رنگ زرد روشن و بوی تند اختصاصی گیاه ترخون را داشت. از مجموع شانزده ترکیب عمده شناسایی شده که ۹۴/۰۶ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دادند ترکیبات عمده شامل هینوکیتول (۱۷/۴۷٪)، استراگول (۱۷/۲۸٪)، پولگون (۱۰/۲۳٪)، لیمونن (۷/۵۷٪)، متیل اگونول (۷/۴۶٪)، بورنیل استات (۷/۱۲٪) بودند.

مقدار LD_{50} با استفاده از روش لورک برای اسانس ترخون به میزان ۷۰۷/۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن گزارش می‌گردد. حیوانات در این بررسی به مدت چهارده روز پیاپی تحت مراقبت بودند. نتایج مربوط به بررسی تغییرات رفتاری یا نشانه های بالینی و نیز مرگ و میر در جدول یک آورده شده است (جدول ۱). مشاهدات نشان داد که تزریق محلول ۲٪ توین ۸۰ در مو ش های مورد مطالعه هیچ نوع تغییر رفتاری قابل توجهی را ایجاد نکرد. تمامی موش‌های مسموم شده با دوزهای ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در فاصله زمانی ۲۸-۱۲ ساعت بعد از تزریق اسانس تلف شدند. در گروه مسموم شده با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به جای تنفس سطحی و سریع، تنفس عمیق مشاهده گردید. هیچکدام از حیوانات گروه دریافت کننده ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم اسانس در طی آزمایش تلف نشدند و نشانه های بالینی همچون کاهش فعالیت، تنفس سطحی ۱۵ دقیقه بعد از تزریق اسانس دیده شد که البته این نشانه‌ها در همان چند ساعت اول خودبخود از بین رفتند.

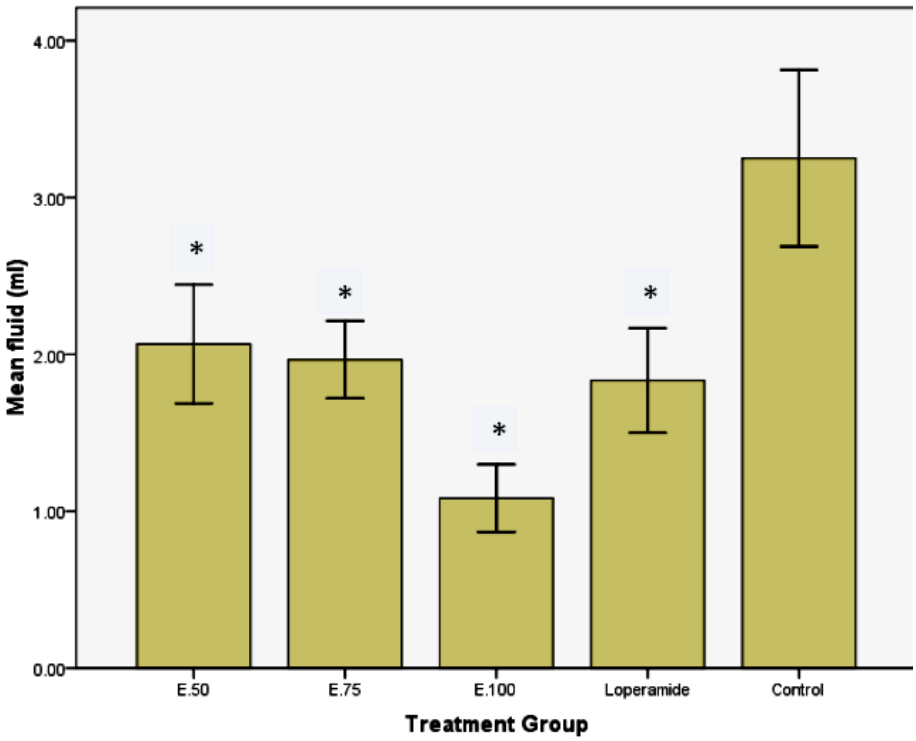
تاثیر اسانس ترخون بر روی حرکات روده‌ای با دوز ۵۰ mg/kg مشابه گروه کنترل بود که در واقع نشان دهنده عدم موثر بودن این دوز از اسانس می‌باشد. اسانس در دوزهای بعدی ۷۵ و ۱۰۰mg/kg به شکل مهاری عمل کرده است ولی این تأثیرات به لحاظ آماری $p < 0.05$ معنی‌دار نمی‌باشند. روند کاهشی یعنی کاهش اثر مهاری با افزایش دوز مورد استفاده تا مرز ۱۲۵mg/kg تقریباً به شکل وابسته به دوز ادامه دارد. دوز ۱۲۵ mg/kg از اسانس ترخون در مقایسه با تاثیر توین و آتروپین باعث مهار بیشتر ترانزیت مواد در دستگاه گوارشی شده است و تاثیر آن به لحاظ آماری $P<0.05$ معنی‌دار بود.

جهت ارزیابی تداخل اثر سیستم کولینرژیک با اسانس ترخون بر روی پیشرفت (عبور) معدی-روده ای خوراک ذغال، ابتدا آتروپین تزریق شده و بعد از بیست دقیقه اسانس خورانده شده است. نتیجه این بررسی نشان می‌دهد که اسانس در همراهی با آتروپین میزان مهار بیشتری در مقایسه با استفاده اسانس و یا آتروپین به تنهایی ایجاد می‌کند (شکل ۱) که از

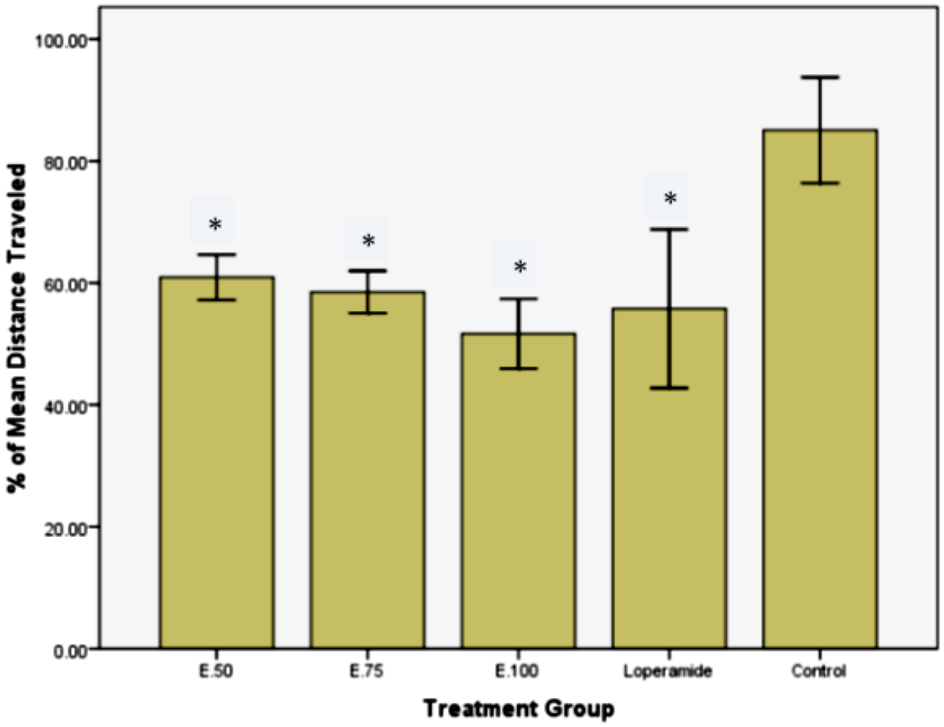


شکل ۱- تاثیر اسانس ترخون (E) بر روی پیشرفت (عبور) معدی-روده ای یک وعده خوراک ذغال در موش صحرایی. نتـایج آزمایشـات بصـورت (Mean ± SEM) گـزارش گردیده است. بدنبال تست آنالیز واریانس از Dunnett test استفاده شده است.

* مقدار $P< 0.05$ بین گروه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه کنترل، از نظر آماری معنی دار تلقی شده است.



شکل ۲- تاثیر اسانس ترخون (E) بر روی مایعات تجمع یافته در روده‌ها دراثر اسهال القا شده با کاسـتر اویـل در مـوش. نتـایج آزمایشـات بصـورت (Mean ± SEM) روی مایعات تجمع یافته در روده‌ها بر حسب میلی‌لیتر گزارش گردیده است. بدنبال تست آنالیز واریانس از Dunnett test و Tukey HSD استفاده شده اسـت. * مقـدار $P < 0.05$ بین گروه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه کنترل، از نظر آماری معنی‌دار تلقی شده است.



شکل ۳- تاثیر اسانس ترخون (E) و لوپرامید بر روی عبور خوراک ذغال دردستگاه معدی- روده‌ای درموش‌های اسهال شده با کاستر اویل. نتایج آزمایشات بصورت (Mean ± SEM) بر حسب درصد گزارش گردیده است. بدنبال تست آنالیز واریانس از Dunnett test و Tukey HSD استفاده شده است.
* مقدار $P < 0.05$ بین گروه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه کنترل، از نظر آماری معنی‌دار تلقی شده است.

جدول ۱- تغییرات رفتاری یا نشانه‌های بالینی و مرگ و میر در مسمومیت حاد با اسانس ترخون (ADEO). اسانس ترخون در توین ۲٪ حل شده و به شکل تک دوز (در دوزهای اشاره شده در جدول بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بصورت داخل صفاقی به گروه موش‌های صحرایی (گروه‌های شش تایی) تزریق گردیده است. موش‌ها مورد بررسی بطور دقیق برای بروز هر گونه نشانه بالینی یا تغییر رفتاری بمدت ۱۴ روز تحت مراقبت بودند.

Treatment (mg/kg)	Sex	D/T	Effects	
			Mortality latency (h)	Symptoms of toxicity
Tween (2%)	Male	0.3	Not dead	None
	Female	0.3		
125 mg/kg	Male	0.3	Not dead	None
	Female	0.3		
250 mg/kg	Male	0.3	Not dead	Ataxia, Hypoactivity, labored respiration, recovery after 15 min.
	Female	0.3		
500 mg/kg	Male	0.3	Not dead	Hypoactivity, Ataxia, labored respiration, head tics, body tremor, recovery after 15 min.
	Female	0.3		
750 mg/kg	Male	1.3	>24, <28	Ataxia, Hypoactivity, labored respiration, head tics, body tremor, convulsion, flaccid paralysis, recumbencey, unresponsive to writhing reflex test.
	Female	1.3	>22, <25	
1000 mg/kg	Male	3.3	>12, <24	Ataxia, Hypoactivity, labored respiration, body and head tremor, convulsion, paddling, flaccid paralysis, recumbencey, unresponsive to writhing reflex test.
	Female	3.3	>23, <26	

جدول ۲- تاثیر اسانس ترخون (ADEO) در جهت محافظت از اسهال القاء شده توسط کاستر اویل درموش صحرایی

Treatment	Dose (mg/kg)	Diarrhea onset (min)	n	Time course (h)							
				1		2		3		4	
				Diarrheic animals	Protection (%)	Diarrheic animals	Protection (%)	Diarrheic animals	Protection (%)	Diarrheic animals	Protection (%)
Control	-	93.83±4.81	6	0	100	5	16.66	6	0	6	0
Loperamide	3	>240 *	6	0	100	0	100 [a]	0	100 [a]	0	100 [a]
ADEO	50	107.16±7.51	6	0	100	5	16.66	6	0	6	0
ADEO	75	117.33±4.82 *	6	0	100	4	33.33 [a]	5	16.66	6	0
ADEO	100	>240 *	6	0	100	0	100 [a]	0	100	6	0

نتایج با استفاده از تست کای اسکور (X2) تجزیه تحلیل شده است. [a] مقدار $P < 0.05$ بین گروه های مورد آزمایش در مقایسه با گروه کنترل، از نظر آماری معنی دار تلقی شده است.

جدول ۳- تاثیر اسانس ترخون (ADEO) بر روی درجه اسهال، تعداد و وزن پلیت های مدفوعی ایجاد شده در اسهال القائی توسط کاستر اویل.

Treatment (mg/kg)	Time course of diarrhea											
	1 h			2 h			3 h			4 h		
	F.NO*	F.W*	D.S*	F.NO	F.W	D.S	F.NO	F.W	D.S	F.NO	F.W	D.S
Vehicle control (Tween 2%)	0.00	0.00	0.00	3.16±0.30	2.40±0.15	7.83±0.79	2.83±0.30	1.26±0.12	6.50±0.76	2.50±0.22	1.23±0.14	3.66±0.61
Loperamide (3)	0.00	0.00	0.00	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]
ADEO (20)	0.00	0.00	0.00	1.16±0.54 [a]	0.52±0.24 [a]	3.33±1.58 [a]	1.83±0.60	0.78±0.28	483±1.60	3.33±0.76	2.03±0.44	9.16±2.05 [a]
ADEO (20)	0.00	0.00	0.00	1.83±0.40	0.82±0.17 [a]	4.66±0.95	1.66±0.80	0.52±0.18	2.5±0.92 [a]	2.33±0.84	0.95±0.37	3.50±1.28
ADEO (80)	0.00	0.00	0.00	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]	0.00 [a]	3.00±0.36 [a]	1.14±0.20	6.66±0.80

نتایج آزمایشات بصورت (Mean ± SEM) درجه اسهال (D.S)، تعداد (F.NO) و وزن (F.W) پلیت‌های مدفوعی گزارش گردیده است.

* مقدار $P < 0.05$ بین گروه های مورد آزمایش در مقایسه با گروه کنترل، از نظر آماری معنی دار تلقی شده است.

لحاظ آماری $P < 0.05$ معنی‌دار بودند.

در مورد زمان وقوع و شروع اسهال نتایج نشان داد که در تمامی تیمارهای مورد بررسی در طی ساعت اول اسهالی مشاهده نگردید. تا ساعت سوم فقط اسانس با دوز ۱۰۰mg/kg توانست محافظت صددرصدی در برابر القا اسهال داشته باشد (جدول ۲). با توجه به اعداد بدست آمده، در تمامی گروه‌های دریافت کننده اسانس، اسهال دیرتر از گروه کنترل (دقیقه ۴٫۸۱ ±۹۳٫۸۳) شروع می‌گردد. آنالیز آماری نشان داد که تأخیر بوجود آمده در وقوع اسهال در دوزهای بالاتر اسانس ۷۵ mg/kg و۱۰۰ معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). اسانس استفاده شده در دوز بالا یعنی ۱۰۰mg/kg تقریباً همچون داروی استاندار مورد مطالعه (لوپرآمید) در دوره سه ساعته نشانه اسهال را در موش‌ها ایجاد نکرد ولی در ساعت آخر بررسی‌ها تمام موش‌های این گروه نیز دچار اسهال خفیف شدند.

در ساعت دوم بررسی شدت اسهال در گروه دریافت کننده اسانس به میزان ۵۰ mg/kg کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشته است. در ساعت سوم ارزیابی‌ها اسانس به مقدار ۷۵ mg/kg شدت اسهال را در حد قابل توجهی کاهش داده است. در ساعت چهارم در تمام گروه‌ها اسهال با شدت مشابه با گروه کنترل و یا حتی شدیدتر از آن مشاهده گردید (جدول ۳). در ساعت دوم ارزیابی، تغییرات وزن مدفوع اسهالی، اختلاف معنی داری را بین گروه کنترل و تمامی گروه‌های دریافت کننده اسانس نشان می‌دهد (جدول ۳) در صورتی که در ساعت سوم و چهارم وزن مدفوع دفع شده در گروه تیمار شده با اسانس به میزان ۵۰mg/kg تفاوت قابل توجهی با گروه کنترل ندارد. در ساعت سوم تاثیر دوزهای بالای اسانس در مقایسه با گروه کنترل همچنان بطور معنی داری بیشتر می‌باشد ($P < 0.05$). ولی در آخرین ساعت بررسی فقط در گروه درمان شده با لوپرامید هیچ مدفوعی دفع نگردید.

همچون سایر پارامترهای مربوط به اسهال چون در ساعت اول بررسی هیچکدام از موش‌ها اسهال نشده بودند بنابراین تعداد پلیت‌های مدفوعی در همه گروه‌ها به میزان صفر گزارش گردیده است و تفاوت معنی داری را نمی‌توان بین آنها متصور گردید. خوراندن اسانس به میزان ۱۰۰ mg/kg مانع از دفع مدفوع تا ساعت سوم بررسی‌ها می‌گردد ولی بعد از گذشت این مدت اثر مهاری اسانس تا حدی نیست که این ممانعت را همچنان داشته باشد. شمارش تعداد فضله های دفع شده در طی چهار ساعت بررسی تغییر معنی‌داری را در بین گروه کنترل و گروه دریافت کننده اسانس به میزان ۷۵mg/kg نشان نداد (جدول ۳). با توجه به اثر قوی داروی استاندارد ضد اسهال، فقط در گروه درمان شده با لوپرامید هیچ مدفوعی دفع نگردید.

سنجش میزان مایعات تجمع یافته در روده‌ها در اثر اسهال القا شده با کاستر اویل تغییر محسوسی را در تیمارهای مورد بررسی نشان می‌دهد بطوریکه در تمامی گروه‌ها مقدار ترشح و تجمع مایع در داخل روده بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش پیدا کرده است (شکل ۲). در بررسی مقایسه اثر اسانس با لوپرامید می‌توان گفت که اسانس فقط در دوز ۱۰۰ mg/kg در مقایسه با داروی استاندارد تاثیر معنی‌دار داشته است و ممانعت بیشتری را بروز می‌دهد.

اندازه گیری فاصله طی شده توسط ذغال در داخل روده‌ها در بعد از اسهال القا شده با کاستر اویل نشان داد که اسانس در تمامی دوزهای مطالعه شده، می‌تواند مسیر طی شده توسط خوراک ذغال را کاهش دهد. و در تمام گروه ها مقدار مهار مشاهده شده به لحاظ آماری معنی دار ($P < 0.05$) می‌باشد (شکل ۳). در مقابل استفاده از اسانس با دوز بالاتر ۱۰۰mg/kg در حد معنی‌داری حرکات روده‌ای القا شده با کاستر اویل را مهار می‌سازد بطوریکه این اثر مهاری بیشتر از تاثیر داروی استاندارد یعنی لوپرآمید می‌باشد هرچند از لحاظ بررسی‌های آماری تفاوت مشاهده شده معنی‌دار نمی‌باشد ($P < 0.05$).

بحث

در این مطالعه فعالیت فارماکولوژیکی اسانس ترخون بر روی دستگاه گوارش موش صحرایی به عنوان مدلی رایج در اکثر مطالعات اتنوفارماکولوژیکی بصورت درون زیستی بررسی گردیده است. از آنجایی که قبلاً تاثیر همین اسانس به شکل برون زیستی مطالعه شده و نشان داده‌اند که اسانس گیاه دارویی مذکور می‌تواند حرکات روده موش را بطور معنی داری

متأثر سازد [۱۰]. بررسی حاضر مدارکی را بدست می‌دهد که اسانس مذکور بر روی حیوان زنده هم اثرات مشابهی را ایجاد می‌کند.

در راستای تعیین سمیت اسانس مذکور، مقدار LD_{50} به میزان ۷۰۷/۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن محاسبه گردید. از طرفی نتایج مربوط به بررسی یافته های بالینی و مرگ و میر در دوزهای بالاتر و سمی اسانس مذکور، نشان داد که دریافت بیش از حد اسانس می‌تواند به عنوان یک خطر تهدید کننده زندگی محسوب گردد. در نتیجه همانطور که قبلاً اشاره شده، اسانس گیاهان دارویی هر چند دارای ترکیباتی هستند که می‌تواند خیلی مفید باشد ولی در کنار آن به خاطر دارا بودن ترکیبات مضر و آسیب رسان می‌توانند خیلی خطرناک باشند و صرف طبیعی بودن مواد نمی‌تواند دلیلی بر بی خطر بودن آنها در حین استفاده تلقی شود [۲]. البته در مورد این اسانس مقدار LD_{50} تقریباً بیشتر بوده و ظاهراً در دوز های پایین در کوتاه مدت اثر نامطلوبی بر روی موجود زنده ایجاد نمی‌کند.

بر اساس نتایج بدست آمده، اسانس در دوزهای پایین‌تر باعث مهار ترانزیت مواد در دستگاه گوارشی می‌گردد که مقدار این مهار بسیار ناچیز است در مقابل تاثیر اسانس در بالاترین دوز (۱۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) استفاده شده حتی بیشتر از اثر مهاری آتروپین بوده است. یافته حاضر بر روی حرکات دستگاه گوارش موید وجود اثرات اسپاسمولیتیک مربوط به اسانس ترخون می‌باشد و موافق با مشاهدات محققینی است که قبلاً تاثیر این اسانس بر روی روده موش را بصورت برون زیستی ارزیابی کرده و اسپاسمولیتیک بودن آن را گزارش کرده‌اند [۱۰]. و از طرفی تایید کننده مطالبی است که در منابع طب سنتی در مورد اثربخش بودن این گیاه در مرتفع کردن آلام گوارشی ذکر گردیده است [۳۳].

از آنجایی که نقش سیستم اعصاب پاراسمپاتیک در فیزیولوژی حرکات دستگاه گوارش و در پاتوفیزیولوژی اختلالات حرکتی در گونه‌های مختلف جانداران به اثبات رسیده است. بنابراین هر گونه تغییر در الگوهای حرکتی با متأثر کردن این سیستم‌ها و گیرنده‌های آنها ایجاد می‌شود. در این بررسی مشخص گردید که اسانس در همراهی با آتروپین میزان مهار بیشتری در مقایسه با استفاده آتروپین و یا اسانس به تنهایی ایجاد می‌کند. که به نظر می‌رسد حضور ترکیبات مختلف اسانس دخیل باشد. بطوریکه این مواد از عملکرد آتروپین ممانعت نمی‌کنند و یا باعث بروز اثرات مشابهی از طریق دیگر مکانیسم‌های اسپاسمولیتیک در کنار تاثیر مهاری آتروپین می‌شوند. مکانیسم‌های گوناگونی در ایجاد حالت شلی در عضلات صاف و کاهش حرکات نقش دارند که شامل دخالت مواد ممانعت کننده از واسطه های تحریکی (آنتی کولینرژیک) [۲۹]، مواد با فعالیت آنتی هیستامینی [۲۶] یا از طریق فعال کردن واسطه های مهاری مثل مواد آدرنرژیک، پورینرژیک [۳۰] و گابائرژیک [۳۴] و یا از طریق دنبال کردن اثرات مشابه اثر نیتریک اکسید [۱۱] می‌باشند. بنابراین بطور حتم یکی و یا ترکیبی از مکانیسم‌های اشاره شده در بروز اثرات اسانس دخیل بوده است.

در مطالعه جلیل زاده امین و همکاران (۲۰۱۱) اسانس ترخون با عمل و اثر استیل کولین تداخل پیدا کرده و مانع بروز اثرات تحریکی ناشی از افزودن استیل کولین گردید که اثر مهاری ظاهر شده می‌تواند به علت مهار گیرنده‌های کولینرژیک و یا در اثر فعال سازی و ترشح مواد بتا-آدرنرژیک باشد [۱۰].

تمامی اثرات مشاهده شده مربوط به حضور ترکیبات موجود در اسانس بوده و مطالعات صورت گرفته بر روی مواد خالص اسانس‌ها موید این موضوع می‌باشند. بطوریکه ترکیبات پینینی (Pinene) دارای اثرات شل‌کنندگی اثبات شده‌ای می‌باشند [۲۲، ۲۵]. اثرات آنتی اسپاسمودیک استراگول بر روی ایلئوم خوکچه هندی ثابت گردیده است همینطور گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد متیل اگونول بطور قابل برگشت باعث مهار تحریکات القاء شده توسط استیل کولین شده و با تأثیر مستقیم بر روی عضلات صاف منجر به شل شدن ایلئوم موش می‌گردد [۱۴]. در مورد پولگون که یک ترکیب مونوترپنی طبیعی بشمار می‌آید بروز اثر آنتی هیستامینیکی در روده موش گزارش گردیده است [۲۰]. همچنین محققین نشان داده‌اند که آلفا-پینن از تحریکات ایجاد شده توسط استیل کولین در بافت‌ها ممانعت می‌نماید [۲۵]. با توجه به تجزیه ترکیبات اسانس ترخون مقادیر مختلفی از مواد اشاره شده همچون آلفا-پینن (۳/۷۳٪)، بتا-ترپینن (۱/۹۲٪)، استراگول (۱۹/۱۶٪)، متیل اگونول (۷/۸۴٪)

و پولگون (۱۱/۷۵٪) از این ماده در اسانس بکار گرفته شده در این پژوهش شناسایی شده که شاید در بروز نتایج دخیل باشد [۱۰]. با این حال حضور سایر مواد اسپاسمولیتیک را نمی‌توان منکر شد.

روغن کرچک از طریق تشکیل اسید ریسینولئیک سبب بروز اسهال می‌گردد. در اثر جذب مختصر این اسید نفوذپذیری مخاط، انتقال الکترولیت و حرکات دودی روده تغییر یافته و نوعی واکنش پر ترشحی و اسهال واقع می‌شود [۴] اسید ریسینوکلئیک اثر ضد جذبی بر روی مخاط داشته و فعالیت پمپ سدیم- پتاسیم ATPase را مهار می‌سازد. این اسید نفوذ پذیری بافت پوششی روده را افزایش می‌دهد و با تخریش موضعی و ایجاد التهاب روده، با فعال کردن آدنیل سیکلاز در سلول‌های مخاطی، پروستاگلاندین‌ها را رها می‌سازد [۱۶] در نتیجه موجب افزایش ترشح آب و الکترولیت‌های روده کوچک می‌شود [۲۴]. بطوریکه نظر بر این است که، تاثیر برخی از گیاهان به عنوان درمان ضد اسهال، از طریق مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها اعمال می‌گردد [۱۹].

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 فقط داروی ضد اسهال یعنی لوپرامید توانست محافظت صد در صدی در برابر القا اسهال داشته باشد. هر چند اسانس با دوز ۱۰۰mg/kg تا ساعت سوم بطور معنی داری مانع از دفع مدفوع اسهالی می‌گردد. بررسی درجه یا نمره اسهال ایجاد شده در موش‌ها تفاوت معنی داری را در بین گروه کنترل و گروه دریافت کننده اسانس در ساعات مختلف نشان می‌دهد. با توجه به نتایج می‌توان گفت که تاثیر اسانس بعد از گذشت زمان کاهش پیدا می‌کند که می‌توان به متابولیسم آن در بدن موجود زنده مربوط دانست که در مورد سایر داروهای نیز چنین اتفاقی رخ می‌دهد.

لوپرامید برای درمان علامتی اسهال حاد به ویژه در بیماریهای التهابی روده و سندرم روده تحریک‌پذیر بکار می‌رود. در واقع این دارو نوعی آگونیست گیرنده‌های μ مخدر است که با تاثیر بر شبکه عصبی میانتریک روده بزرگ تون عضلات صاف طولی روده را کاهش می‌دهد در نتیجه فعالیت حرکتی روده را کند کرده و میزان دفع آب و نمک‌های بدن را کاهش می‌دهد. همانطور که از نتایج این بررسی بر می‌آید لوپرآمید باعث کاهش ترشح و تجمع مایعات در داخل روده‌های حیوانات مورد مطالعه گردیده است. در این مطالعه تاثیر مقابله کنندگی دوز بالای اسانس ترخون در برابر اسهال، به شکل قابل توجهی شبیه به تاثیر مهار کنندگی لوپرآمید می‌باشد. غیر نرمالی در انتقال روده ای الکترولیت‌ها و آب نقش مهمی را در ایجاد و برقراری اسهال بازی می‌کند، اگرچه غیرنرمالی و اختلال در حرکات روده‌ها نیز به عنوان بخشی از پاتوفیزیولوژی پایه‌ای اسهال مطرح است [۸]. در این بررسی مشخص گردید که اسانس ترخون میزان مایعات تجمع یافته در روده‌ها در اثر اسهال القا شده با کاستر اویل را کاهش داده است و این اثر قابل مقایسه با داروی استاندارد یعنی لوپرامید می‌باشد. نتیجه مشابه در مطالعه اوکوکون و همکاران (۲۰۱۱) مربوط به کاهش سرعت عبور مواد گوارشی و افزایش ظرفیت روده‌ها در برگشت مایعات از داخل روده‌ها ارتباط داده شده است [۱۹]. اندازه گیری فاصله طی شده توسط ذغال در داخل روده‌ها در بعد از اسهال القا شده با کاستر اویل نشان داد که اسانس در دوزهای مختلف می‌تواند مسیر طی شده توسط خوراک ذغال را کاهش دهد، البته همین کاهش در میزان پیشرفت ذغال در داخل روده‌ها، نشان دهنده غلبه اسانس بر روی اثرات آشفته کننده کاستر اویل بر روی مخاط روده و حرکات این ارگان می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده چنین به نظر می‌آید که اسانس از طریق عملکرد ضد ترشحی و مهار حرکات روده‌ای باعث محافظت در برابر اسهال گردیده است. البته خواص ضد اسهالی و ضد دیسانتری گیاهان دارویی را مربوط به حضور تانین‌ها، آلکالوئیدها، ساپونین، فلاونوئیدها، استروئیدها و یا ترپنوئیدها می‌دانند [۹] که با توجه به تجزیه اسانس مشخص می‌شود که ترکیباتی از این دسته شامل ترپنوئیدها در اسانس ترخون وجود داشته بنابراین این مواد ممکن است مسئول فعالیت ضد اسهالی اسانس مورد مطالعه باشند.

از نظر سازمان بهداشت جهانی هر عصاره گیاهی که دارای بخشی از اثرات زیر باشد می‌تواند به عنوان یک داروی ضد اسهال مطرح شود ۱) مهار تولید مدفوع مرطوب ۲) مهار سازی تشکیل مدفوع آبکی و یا تجمع مایعات در داخل روده‌ها ۳) مهار حرکات رو به جلو معدی-روده ای (۳) بنابراین می‌توان

اسانس ترخون را بعنوان یک داروی طبیعی و مفید در درمان اسهال ذکر کرد که البته مشخص نمودن مکانیسم کلی و نحوه اثر این اسانس و اجزای اصلی آن نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

از آنجایی که در بیماریهای التهابی و عفونی موضعی در دستگاه گوارش مثل بیشتر موارد عفونی اسهال، حرکات روده‌ها افزایش پیدا کرده و توسط واسطه‌های التهابی مختل می‌گردد و اسپاسم شدید عضلات صاف و افزایش حرکات منجر به درد شکمی شدیدی می‌شود بنابراین می‌توان از اسانس ترخون در درمان موارد اسهال استفاده برد. عملکرد بسیار قوی اسانس ترخون در مهار حرکات روده موش هم بصورت برون زیستی و هم درون زیستی حاکی از این مطلب است که اسانس حاوی ترکیبات فعال آنتی اسپاسمودیک می‌باشد که می‌تواند کاربرد سنتی این گیاه و عرق آن برای رفع مشکلات گوارشی را تایید نماید.

سپاسگزاری

تمامی حمایتهای مالی که منجر به تهیه و انتشار این تحقیق شده است، توسط دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تأمین گردیده است.

References

[1] Aburjai T, Mohammad H, Rabab T, Mohammed Y, Maher Q, Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Jordan, the Ajloun Heights region. ***J Ethnopharmacol*** 110 (2007) 294-304.

[2] Anthony CD, Toxicology of essential oils reviewed. ***Personal Care*** 4 (2009) 65-67.

[3] Atta AH, Mouneir SM, Evaluation of some medicinal plant extracts for antidiarrheal activity. ***Phytotherapy Res*** 19 (2005) 481-485.

[4] Bimelsh K, Kalyani D, Prashant T, Manoj S, Diwakar G, Evaluation of anti-diarrheal effect aqueous and ethanolic extracts of fruit pulp of Terminalia belerica in rats. ***Int J Drug Dev Res*** 2 (2010) 769-779.

[5] Dalal K, Singhroha S, Ahlawat S, Patra A, Anti-diarrhoeal activity of roots of *Cicer arietinum* Linn. ***Int J Res Pharm Bio Sci*** 2 (2011) 268-270.

[6] Deans SG, Simpson EJM, ***Artemisia dracunculus industrial profiles.*** Med Arom Pl Taylor & Francis, London, 2002, p: 91- 97.

[7] Dicarlo GD Mascolo N, Izzo AA, Capasso F, Autore G, Effects of Quercetin on gastrointestinal tract in rats and mice. ***Phytotherapy Res*** 8 (1994) 42-45.

[8] 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*** 276(1999) 58-63.

[9] Havagiray R, Ramesh C and Sadhna K, Study of antidiarrhoeal activity of *Calotropis gigantea* r.b.r. in experimental animals. ***J Pharmacol Pharm Sci*** 7 (2004) 70-75.

[10] Jalilzadeh-Amin G, Maham M, Dalir-Naghadeh B, Kheiri F, In vitro effects of *Artemisia dracunculus* essential oil on ruminal and abomasal smooth muscle in sheep. ***Comp Clini Pathol*** 21(2011) 673-680.

[11] Kito Y, Suzuki H, Effects of Dai-kenchu-to on spontaneous activity in the mouse small intestine. ***J Smooth Muscle Res*** 42(2006) 189-201.

[12] Kordali S, Kotan R, Mavi A, Cakir A, Ala A, Yildirim A, Determination of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil of Artemisia dracunculus and of the Antifungal and Antibacterial Activities of Turkish Artemisia absinthium, A. dracunculus, Artemisia santonicum, and Artemisia spicigera Essential Oils. ***J Agric Food Chem*** 53 (2005) 9452-9458.

[13] Lorke D, A new approach to practical acute toxicity testing. ***Arch Toxicol*** 54 (1983) 275-287.

[14] Magalhaes PJC, Criddle DN, Tavares RA, Melo EM, Mota TL, Leal-Cardoso JH, Intestinal myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Croton nefetaefulius* and its constituents cineole, methyl-eugenol and terpineol. ***Phytotherapy Res*** 12 (1998) 172-177.

[15] Mehrotra S, Rawat AKS, Shome U, Antimicrobial activity of the essential oils of some Indian *Artemisia* species. ***Fitoterapia*** 64 (1993) 65-68.

[16] Munson PL, Muller RA, Breese GR, ***Principles of***

Pharmacology: Basic Concept and Clinical Applications. Chapman and Hall, an International Thomson Publishing Company, New York, 1995.

[17] Nwafor PA, Jacks TW, Ekanem AU, Ching FP, Antiulcerogenic and antidiarrheal potentials of Pausinystaiamacroceras stem-bark in rats. ***Nigerian J Nat Prod Med*** 9 (2005) 66-70.

[18] Nwafor PA, Ukwuasaba FK, Effect of methabolic extract of *Cassia nigricans* leaves on gastrointestinal tract. ***Phytotherapiy*** 72 (2001) 206-214.

[19] Okokon JE, Akpan HD, Umoh EE, Ekaidem IS, Antidiarrhoeal and antiulcer activities of Hippocratea africana root extract. ***Pak J Pharm Sci*** 24(2011) 201-205.

[20] Ortiz AV, Martin ML, Montero MJ, Carron R, Sevilla MA, San Roman L, Antihistaminic activity of pulegone on the guinea-pig ileum. ***J Pharm Pharmacol*** 42 (1990) 295-296.

[21] Piccaglia R, Marotti M, Giovanelli E, Deans SG, Eaglesham, E, Antibacterial and antioxidant properties of Mediterranean aromatic plants. ***Ind Crop Prod*** 2 (1993) 47-50.

[22] Prakash O, Kasana VK, Pant AK, Zafar A, Hore SK, Mathela CS, Phytochemical composition of essential oil from seeds of Zingiberroseum Rosc and its antispasmodic activity in rat duodenum. ***J Ethnopharmacol*** 106 (2006) 344-347.

[23] Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK, ***Pharmacology*** (5^{th}edn) Elsevier Science Ltd. New Delhi, India, 2003.

[24] Rao NV, Prakash KC, Kumar SMS, Pharmacological investigation of Cardiospermum halicacabum (Linn) in different animal models of diarrhea. ***Ind J Pharmacol*** 38 (2006) 346-349.

[25] 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*** 8(2001) 370-376.

[26] Sa-Nunes A, Corrado AP, Baruffi MD, Faccioli LH, Disodium cromoglycate prevents ileum hyperreactivity to histamine in Toxocara canis-infected guinea pigs. ***Pharmacol Res*** 48(2003) 451-455.

[27] Saralaya MG, Patel P, Patel M, Roy SP, Patel AN, Antidiarrheal activity of methanolic extract of Moringa oleifera Lam roots in experimental animal models. ***Int J Pharm Res*** 2 (2010) 35-39.

[28] Sunil B, Bedi K, Singla A, Johri R, Antidiarrhoeal activity of piperine in mice. ***Planta Medica*** 67 (2001) 284-287.

[29] Unno T, Matsuyama H, Izumi Y, Yamada M, Wess J, Komori S, Roles of M_2 and M_3 muscarinic receptors in cholinergic nerve-induced contractions in mouse ileum studied with receptor knockout mice. ***Br J Pharmacol*** 149 (2006) 1022-1030.

[30] Van CK, Van NL, Timmermans JP, Lefebvre RA, Inhibitory purinergic P2 receptor characterisation in rat distal colon. ***Neuropharmacology*** 53(2007) 257-271.

[31] Wang X, Zhang F, Liu Z, Feng H, Yu ZB, Lu Y, Effects of essential oil from Croton tiglium L. on intestinal transit in mice. ***J Ethnopharmacol*** 117(2008) 102-107.

[32] Zani F, Massimo S, Bianchi A, Albasini A, Melegari M, Vampa G, Studies on the genotoxic properties of essential oils with Bacillus subtilis rec-assay and Salmonella/microsome reversion assay. ***Planta Medica*** 57 (1991) 237-241.

[33] Zargari A, ***Medicinal Plants***. Tehran, Iran: Tehran University Publication; 1997. p. 102. [In Persian].

[34] 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*** 52 (2007) 1685-1690.