

Effect of *Cichorium intybus* Root and *Artemisia absinthium* Aerial Part Extracts on Solubility of Gallstones

Abbas Nodehi¹,
 Mohammad Azadbakht^{2,3},
 Gholamali Godazandeh⁴,
 Fatemeh Akbari⁵,
 Ali Maghsoodi¹,
 Hossein Ebrahimi¹

¹ Pharmacy Student, Medicinal Plant Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Professor, Department of Pharmacognosy and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ The Health of Plant and Livestock Products Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran,

⁴ Professor, Department of General Surgery, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Assistant Professor, School of Pharmacy Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received February 9, 2023 ; Accepted July 1, 2023)

Abstract

Background and purpose: Gallstones are caused by the accumulation and high density of fat-soluble substances inside the gallbladder. *Cichorium intybus* and *Artemisia absinthium* have phenol and flavonoid compounds and are believed to have a potential effect on solubility of gallstones. Therefore, the present study was conducted to investigate the effect of the extracts of *Cichorium intybus* root and *Artemisia absinthium* aerial part in solubility of gallstones.

Materials and methods: In this experimental study, gallstones were collected from Sari Shafa Hospital and the stone compounds were identified by UV and DSC. The gallstones were then cut into equal size and weight (200 mg). Acidic, alkaline, and distilled water media were prepared as control groups along with the experimental groups which contained *Cichorium* and *Artemisia* extracts at 1 mg/ml, 10 mg/ml, and 100 mg/ml, 500 mg/ml, respectively. A gallstone sample was placed in each media and the dissolution rate of the stone compounds was measured by an auto-analyzer after 24 and 48 hours.

Results: The UV spectrum showed the presence of bilirubin in the gallstones and the DSC thermogram showed the presence of cholesterol in the stones. Examination of isolated gallstone compounds showed that *Cichorium* extract at 500 mg could dissolve 75% of triglycerides ($P<0.001$) and the *Artemisia* extract at 500 mg could dissolve 63% of cholesterol which were significantly different compared to control groups ($P<0.01$).

Conclusion: According to current study, *Cichorium* and *Artemisia* have a significant effect on the dissolution of gallstones.

Keywords: Gallstones, *Cichorium intybus*, *Artemisia absinthium*, triglycerides, cholesterol

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (223): 132-138 (Persian).

Corresponding Author: Mohammad Azadbakht - Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: adbakhtm@hotmail.com)

اثر عصاره ریشه گیاه کاسنی و اندام هوایی افسنتین بر انحلال سنگ صفراوی

عباس نودهی¹
محمد آزادبخت^{2,3}
غلامعلی گدازنده⁴
فاطمه اکبری⁵
علی مقصودی¹
حسین ابراهیمی¹

چکیده

سابقه و هدف: سنگ کیسه صفرا به علت انباشتگی و تراکم مواد محلول در چربی در داخل کیسه صفرا ایجاد می‌شود. با توجه به وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در گیاه کاسنی و افسنتین، انتظار می‌رود که این گیاهان پتانسیل انحلال سنگ صفراوی را داشته باشند. لذا مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر عصاره ریشه گیاه کاسنی و اندام هوایی افسنتین، در انحلال سنگ صفراوی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر ابتدا با مراجعه به بیمارستان شقای ساری، سنگ‌های صفراوی جدا شده از بیماران مبتلا، جمع‌آوری شد و ترکیبات سنگ به وسیله دستگاه UV و DSC شناسایی و به قسمت‌های مساوی از نظر ابعاد و وزن (200mg) تقسیم شدند. سه محیط اسیدی، قلیایی و آب مقطر به عنوان گروه کنترل در کنار گروه‌های آزمایش که به ترتیب حاوی عصاره کاسنی و افسنتین با غلظت 1، 10، 100 و 500 mg/ml بودند، تهیه شد. سپس نمونه سنگ صفراوی در آن قرار داده شد و بعد از 24 و 48 ساعت نمونه‌گیری انجام گرفت و میزان انحلال ترکیبات سنگ توسط دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: طیف UV، حضور بیلی روبین در سنگ صفرا و ترموگرام DSC، حضور کلسترول در سنگ را نشان داد. در این مطالعه، ریشه گیاه کاسنی با غلظت 500mg/ml توانست تقریباً 75 درصد از تری گلیسیرید را در خود حل کند و اختلاف معنی‌داری با گروه‌های کنترل (اسیدی، قلیایی، آبی) داشت ($P<0/001$) و عصاره افسنتین با غلظت 500mg/ml توانست تقریباً 63 درصد از کلسترول را در خود حل کند و اختلاف معنی‌داری با گروه‌های کنترل داشت ($P<0/01$).

استنتاج: براساس یافته‌های مطالعه حاضر گیاه کاسنی و افسنتین اثر قابل توجهی بر انحلال ترکیبات سنگ صفرا در شرایط برون‌تنی دارد.

واژه‌های کلیدی: سنگ کیسه صفرا، کاسنی، افسنتین، تری گلیسیرید، کلسترول

مقدمه

تغییرات سبک زندگی منجر به بروز اختلالات متعددی در جوامع شده است. سنگ صفرا یکی از بیماری‌های رایج عصر جدید است که به دنبال عدم رعایت رژیم غذایی مناسب، چاقی، بی‌تحرکی، افزایش سن و عوامل وراثتی ایجاد می‌گردد. روش درمانی این بیماری در شرایط بروز علائم شامل جراحی و خارج کردن

E-mail:adbakht@hotmai.com

مؤلف مسئول: محمد آزادبخت - ساری: کیلومتر 17 جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

1. دانشجوی دکتری داروسازی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. استاد، گروه فارماکوکینزی و بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. مرکز تحقیقات سلامت فرآورده های گیاهی و دامی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

4. استاد، گروه گروه جراحی عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

5. استادیار، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

تاریخ دریافت: 1401/11/20 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1402/2/10 تاریخ تصویب: 1402/4/10

خرد شدند. عصاره گیری به روش سوکسله به مدت 5 ساعت با اتانول 80 درصد انجام شد. عصاره تغلیط و خشک شد و در یخچال نگهداری شد (8,7).

فنول و فلاونوئید تام

آنالیز فیتوشیمیایی عصاره کاسنی و افسنتین اندازه گیری فنول و فلاونوئید به ترتیب براساس استاندارد گالیک اسید و کوئرستین با روش اسپکتوفوتومتری در طول موج 415 انجام شد (10,9).

جداسازی و آماده سازی سنگ صفرا

این مطالعه در دانشگاه علوم پزشکی مازندران با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1400.8117 تصویب شد. با مراجعه به بیمارستان شفا ساری سنگ های صفراوی جدا شده از بیماران مبتلا، تهیه شد. اطلاعاتی از سن و جنسیت بیماران در دسترس نبود. تعدادی سنگ صفرا تا رسیدن به جرم ایده آل جهت انجام آزمایش جمع آوری شد و به قسمت های مساوی از نظر ابعاد و وزن (200mg) تقسیم شد و به لوله های آزمایش شماره گذاری شده، منتقل شدند تا میزان انحلال آن ها در گروه های کنترل و آزمایش بررسی شود.

بررسی طیف سنگ صفرا توسط دستگاه DSC (Differential scanning calorimetry)

برای بررسی طیف نقطه ذوب سنگ صفراوی از دستگاه DSC استفاده می گردد. ترموگرام DSC پیک های مختلفی را در دماهای مختلف نشان می دهد که هر یک بیانگر ترکیبات شیمیایی به خصوص است. در مطالعه حاضر، 20mg از سنگ را گرفته و به صورت پودر در آورده و به مدت 4 ساعت در دستگاه DSC گذاشته شد و بعد از آن طیف نقطه ذوب به دست آمد (12,11).

بررسی طیف UV سنگ صفرا

1mg سنگ صفرا را پودر کرده و با نسبت یک به سه با آب مقطر مخلوط کرده و درون دستگاه اسپکتروفتومتری

کیسه صفرا است (1). سنگ های کیسه صفرا رسوبات جامد کلسترول، تری گلیسیرید، کلسیم، بیلی روبین و فسفر هستند (2,1). گیاه کاسنی با نام علمی *Cichorium intybus L.* از خانواده گیاهی آستراسه می باشد، گیاه کاسنی دارای ریشه نسبتاً ضخیم و عمود است، ساقه حامل تعداد زیادی گل های آبی رنگ است، برگ های پایینی ساقه، بریده بریده و برگ های بالایی آن به صورت ساده و از نوع متناوب هستند و ارتفاع آن به طور متوسط به یک متر می رسد. این گیاه اغلب دارای ترکیبات اینولین، لاکتون های سز کوئی ترین، فنول ها، فلاونوئیدها، چربی ها، پروتئین ها، هیدروکسی کومارین، استروئید و ترپنوئید می باشد (4,3). گیاه افسنتین با نام علمی *Artemisia absinthium L.* از خانواده گیاهی آستراسه می باشد، گیاه افسنتین یک متر طول دارد و ساقه های خاکستری با برگ های کوچک ابریشمی دارد. این گیاه اغلب دارای ترکیباتی مانند ترپنوئیدها، رزین ها، تانن ها، فنول ها، فلاونوئیدها و همین طور حاوی گلیکوزیدهای ایزوفلاون است. براساس طب سنتی، گیاه افسنتین برای یرقان مفید و مسهل صفرا است. به گفته مسیح، افسنتین اخلاط صفراوی را از راه شکم روش بیرون می راند و برای مبتلایان به یرقان و بیماری طحال سودمند است (6,5).

با توجه به حضور ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در این گیاهان انتظار می رود که این گیاهان پتانسیل انحلال سنگ صفراوی را داشته باشد، لذا این مطالعه به منظور بررسی اثر عصاره ریشه گیاه کاسنی و اندام هوایی افسنتین، در انحلال سنگ صفراوی انجام شد.

مواد و روش ها

مطالعه تجربی حاضر به بررسی اثرات گیاه کاسنی و افسنتین به صورت مجزا از هم بر انحلال سنگ صفراوی در محیط آزمایشگاهی (in vitro) پرداخته است.

جمع آوری و عصاره گیری

ریشه گیاه کاسنی و اندام هوایی افسنتین از بازار بزرگ تهران خریداری شد. گیاهان، جداگانه خشک و

گذاشته و طیف آن بدست آمد. طیف UV پیک‌های مختلفی را نشان می‌دهد که هر کدام بیانگر یک ترکیب از ترکیبات سنگ صفرا می‌باشد (11، 12).

بررسی ترکیبات سنگ صفرا

15mg سنگ را پودر کرده و با یک سی‌سی آب مقطر به‌وسیله سونیکاتور مخلوط شد و توسط دستگاه اتوآنالایزر در آزمایشگاه سرولولوژی، ترکیبات سنگ مشخص گردید.

سنجش اثر عصاره کاسنی و افسنتین به‌صورت جداگانه بر انحلال سنگ‌های صفراوی

برای این منظور سنگ صفرا در مجاورت گروه‌های درمان به‌صورت جداگانه، به‌ترتیب حاوی عصاره کاسنی و افسنتین که هر کدام با غلظت 1، 10، 100 و 500mg/ml بودند، قرار گرفته شد. این غلظت‌ها براساس متن مقالات و رنج غلظت موثر این گیاهان انتخاب شد (13-15) و میزان انحلال سنگ براساس ترکیبات موجود در سنگ‌ها که شامل کلسترول، تری‌گلیسرید، بیلی روبین، کلسیم و فسفر است در زمان 24 ساعت و 48 ساعت توسط دستگاه اتوآنالایزر بررسی گردید (11). هم‌چنین محیط‌های اسیدی (استیک اسید با pH=4/5)، قلیایی (سدیم بیکربنات با pH=9/5) و آب مقطر دیونیزه به‌عنوان گروه کنترل تهیه شد.

آنالیز آماری

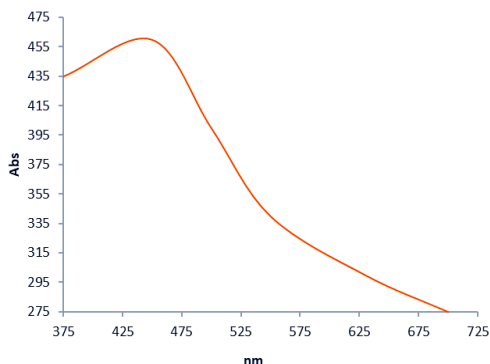
تمامی اطلاعات به دست آمده به کمک نرم افزار پریم و آنالیز واریانس دو طرفه (2-way ANOVA) و به دنبال آن آزمون t-test انجام شد و $P < 0/05$ به‌عنوان سطح تفاوت معنی داری گروه‌ها در مقایسه با گروه‌های کنترل در نظر گرفته شد.

یافته‌ها و بحث

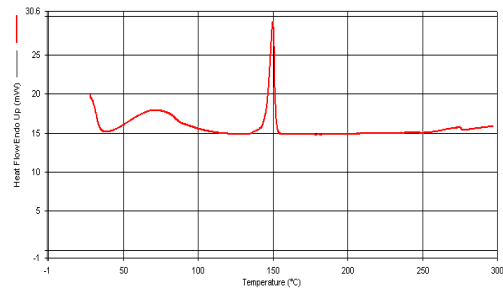
بررسی عصاره‌های کاسنی و افسنتین به‌صورت مجزا انحلال سنگ را در محیط برون‌تنی نشان داد. در

مطالعه حاضر در این گیاهان مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نشان داده شد. میزان فنول کاسنی و افسنتین به‌ترتیب 3/75 و 6/59 mg/g و هم‌چنین میزان فلاونوئید کاسنی و افسنتین به‌ترتیب میزان 2/270 و 26/41mg/g است (5، 16) و به‌علت حضور این ترکیبات دارای خواص به دام اندازی رادیکال‌های آزاد و بهبود فاز التهابی دارند و از طریق تنظیم التهاب، حساسیت به تشکیل سنگ کیسه صفرا را کاهش و از تشکیل سنگ‌های صفراوی کلسترولی جلوگیری می‌کنند (17، 18). در مطالعه حاضر با افزایش غلظت عصاره گیاهان و هم‌چنین افزایش زمان آزمایش، میزان انحلال ترکیبات سنگ صفراوی در عصاره بیش‌تر شد. سنجش ترکیبات سنگ صفرا با روش وزن سنجی حرارتی (DSC) و جذب UV روش رایج شناسایی جنس ترکیبات است. که در بسیاری از مطالعات استفاده شده است (19، 20). بررسی طیف UV نشان داد بیش‌ترین میزان جذب در 455nm است که این جذب مشخصه بیلی‌روبین است (نمودار شماره 1). طیف نقطه ذوب به‌دست آمده از دستگاه DSC نقطه اوج خود را در دمای 149°C نشان داد که بیانگر حضور کلسترول در نمونه سنگ است (نمودار شماره 2).

برای بررسی انحلال سنگ‌های صفراوی بازه‌های زمانی متعددی در نظر گرفته می‌شود، رایج‌ترین آن دوره‌های 48 ساعت می‌باشد که مطابق روش کار این مطالعه است و در مطالعات دیگر بررسی‌های کاهش وزن



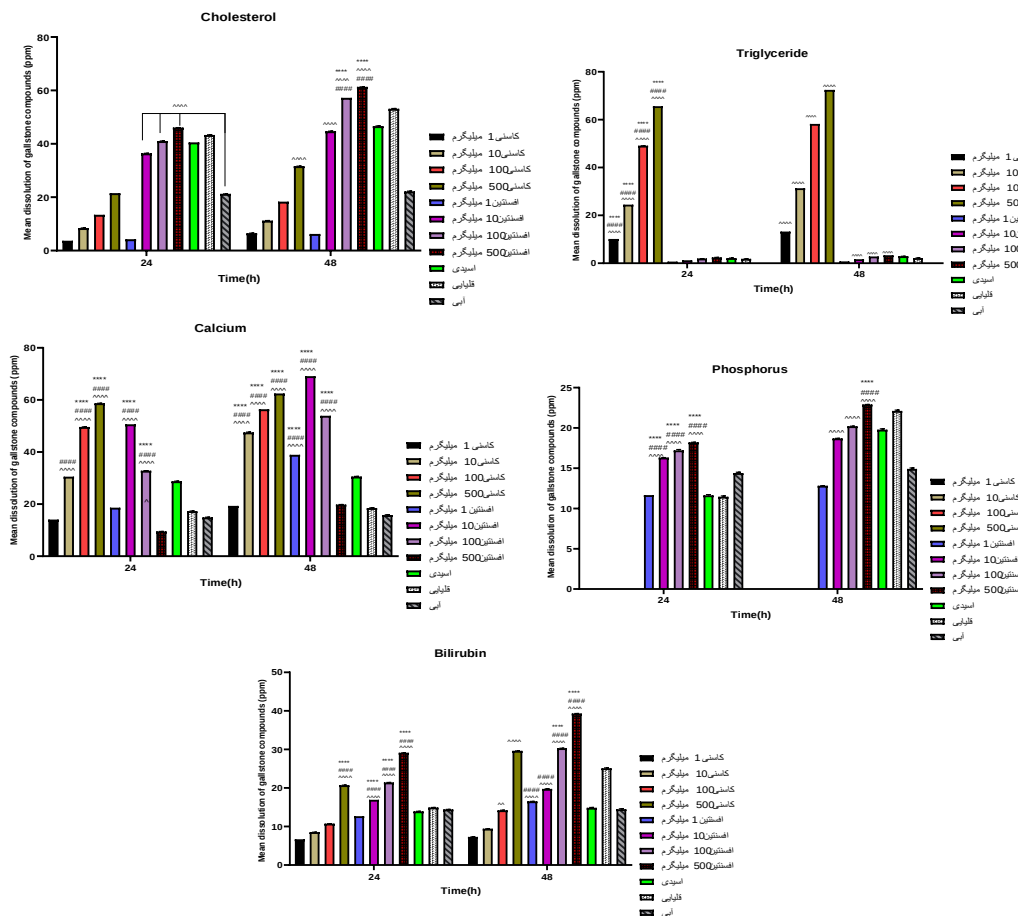
تصویر شماره 1: طیف UV نقطه اوج خود را در پیک 445 نانومتر نشان می‌دهد که مشخصه بیلی روبین است.



تصویر شماره 2: ترموگرام DSC نقطه اوج خود را در دمای 149 درجه نشان می دهد که مشخصه کلسترول است.

سنگ تا 2 هفته ادامه می یابد (21). مطالعه حاضر تغییرات در املاح سنگ در گروه های درمان بررسی می کند (تصویر شماره 3). کاسنی با غلظت 500 میلی گرم توانسته است به

ترتیب حدود 70 و 75 درصد از تری گلیسیرید اولیه را در طی 24 و 48 ساعت در خود حل کند و اختلاف معنی داری با گروه های کنترل (اسیدی، قلیایی، آبی) با $P < 0/001$ دارد. همین طور نسبت اختلاف وزن اولیه و ثانویه سنگ 43 درصد شد. افسنتین با غلظت 500 میلی گرم توانسته است به ترتیب حدود 45 و 63 درصد از کلسترول اولیه را در طی 24 و 48 ساعت در خود حل کند و اختلاف معنی داری با گروه های کنترل (اسیدی، قلیایی، آبی) با $P < 0/01$ دارد. همین طور اختلاف نسبت وزن اولیه و ثانویه سنگ 39 درصد بود. با این وجود اثر افسنتین بر کلسیم و کاسنی بر فسفر معنی دار نبود. هم چنین هر دو گیاه اثر قابل قبولی در انحلال رسوبات بیلی روبینی نشان دادند.



تصویر شماره 3: تغییرات میزان ترکیبات کلسترول، تری گلیسیرید، بیلی روبین، کلسیم و فسفر در بازه زمانی 24 و 48 ساعت در بین گروه های در مقایسه با گروه کنترل قلیایی، (##### $P < 0/0001$ ، #### $P < 0/001$ ، ### $P < 0/01$ ، ## $P < 0/05$ در مقایسه با گروه کنترل اسیدی) و (##### $P < 0/0001$ ، #### $P < 0/001$ ، ### $P < 0/01$ ، ## $P < 0/05$ در مقایسه با گروه کنترل آب).

ماده موثره گیاه با روش HPLC تعیین شود و مطالعات حیوانی انجام گیرد.

گیاه کاسنی بیشترین اثر را بر تری گلیسرید و گیاه افسنتین بیشترین اثر را بر کلسترل موجود در سنگ صفرا می‌گذارد و عصاره 500mg/ml هر دو گیاه در محیط آزمایشگاهی به‌طور چشمگیری در انحلال درمان سنگ صفرا موثرند.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه دکترای عمومی دکتر عباس نودهی می‌باشد، بدینوسیله از زحمات پرسنل آزمایشگاه فارماکوتکونزی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Portincasa P, Moschetta A, Palasciano G. Cholesterol gallstone disease. *Lancet* 2006; 368(9531): 230-239.
- Abou-Saif A, Al-Kawas FH. Complications of gallstone disease: Mirizzi syndrome, cholecystocholedochal fistula, and gallstone ileus. *Am J Gastroenterol* 2002; 97(2): 249-254.
- Taghavi M, Gohari Fakhrabad M. The issue of similarity or difference between Al-Hāwī Fi al-Tibb and AlJāmi' Al-Kabir of Muhammad ibn Zakariya Al-Razi: An Evidence based study. *Biannual Journal of Historical Perspective & Historiography Alzahra University* 2017; 27(19): 55-70 (Persian).
- Janda K, Gutowska I, Geszke-Moritz M, Jakubczyk K. The common cichory (*Cichorium intybus* L.) as a source of extracts with health-promoting properties—a review. *Molecules* 2021; 26(6): 1814.
- Madineh SMA. Avicenna's canon of medicine and modern urology part I: bladder and its diseases. *Ural J* 2008; 5(4): 284-293.
- Benkhalel A, Boudjelal A, Napoli E, Baali F, Ruberto G. Phytochemical profile, antioxidant activity and wound healing properties of *Artemisia absinthium* essential oil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2020; 10(11): 496-504.
- Erdogrul ÖT. Antibacterial activities of some plant extracts used in folk medicine. *Pharmaceutical Biology* 2002; 40(4): 269-273.
- Chaichi M, Mehrzad J, Sedaghat R. GC-MS analysis of chemical compounds from acetone extract of *Echium amoenum* Fisch. *Research Journal of Pharmacognosy* 2017; 4(Supplement): 9-9 (Persian).
- Sikander T, Bhatti AA, Mushtaq Z, Shahid M, Nighat F, Anwar S. Evaluation of the bioactive role of indigenous *Viola odorata* leaf extracts. *Pak J Bot* 2021; 53(2): 541-549.
- Katoch M, Singh A, Singh G, Wazir P, Kumar R. Phylogeny, antimicrobial, antioxidant and enzyme-producing potential of fungal endophytes found in *Viola odorata*. *Annals of*

- Microbiology 2017; 67(8): 529-540.
11. Chekroune M, Benamara S. Gallstones-dissolving capacity of lemon (*Citrus limon*) juice, *Herniaria hirsuta* L. extract and lemon juice-based natural vinaigrette in vitro. *Indian Journal of Traditional Knowledge* 2017; 16(2): 197-202.
 12. Das I, Singh Y, Ansari SA, Agrawal NR. In vitro dissolution of gallbladder stone by edible leaves, fruits and homoeopathic medicines. *Journal of Crystal Growth* 2005; 283(3-4): 508-513.
 13. Ali SI, Gopalakrishnan B, Venkatesalu V. Chicory (*Cichorium intybus*) and wormwood (*Artemisia absinthium*) extracts exhibit strong larvicidal activity against mosquito vectors of malaria, dengue fever, and filariasis. *Parasitol Int* 2018; 67(6): 781-786.
 14. Arthan O. *Cichorium intybus* L. Novel Drug Targets With Traditional Herbal Medicines: Scientific and Clinical Evidence: Springer; 2022. P. 131-139.
 15. Ahmed S, Zaheer M, Mallick IA, Hassan MM. Choleric and cholagogic effects of anti-cholelithiatic plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2021; 10(2): 01-07.
 16. Aslam MS, Ahmad MS, Riaz H, Raza SA, Hussain S, Qureshi OS, et al. Role of flavonoids as wound healing agent. *Phytochemicals-source of antioxidants and role in disease prevention*. 2018; 95: 102.
 17. Van Dooren I, Foubert K, Bijttebier S, Theunis M, Velichkova S, Claeys M, et al. Saponins and flavonoids from an infusion of *Herniaria hirsuta*. *Planta Med* 2016; 82(18): 1576-1583.
 18. Van Dooren I, Faouzi MEA, Foubert K, Theunis M, Pieters L, Cherrah Y, et al. Cholesterol lowering effect in the gall bladder of dogs by a standardized infusion of *Herniaria hirsuta* L. *J Ethnopharmacol* 2015; 169: 69-75.
 19. Arshad R, Tabish TA, Naseem AA, ul Hassan MR, Hussain I, Hussain SS, et al. Development of poly-L-lysine multi-functionalized muco-penetrating self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) for improved solubilization and targeted delivery of ciprofloxacin against intracellular *Salmonella typhi*. *J Mol Liq* 2021; 333: 115972.
 20. Al-Akayleh F, Al-Naji I, Adwan S, Al-Remawi M, Shubair M. Enhancement of curcumin solubility using a novel solubilizing polymer Soluplus®. *Journal of Pharmaceutical Innovation* 2020; 17: 142-154.
 21. Tiwari SW, Sah AN. Effect of Apricot Fruit and Kernel Extracts on in-vitro Dissolution of Cholesterol Gallstones: Implication for Development of Potent Anti-cholelithiatic agent. *Indian J Pharm Educ Res* 2020; 54(3): 755-760.
 22. Sulaiman AFBH. The Effect of Barley (*Hordeum Vulgare* L.) Water Extract as A Chemolytic Agents in Cholelithiasis (Gallbladder Stone)-An In-vitro Study: UNIVERSITI SAINS MALAYSIA; 2017.