BRIEF REPORT

A Separate Evaluation of Echium Amoenum L. and Viola Odorata L. Extracts on Solving Gall Stones

Ali Maghsoodi[1]
Mohammad Azadbakht[2,3]
Gholamali Godazandeh[4]
Fatemeh Akbari[5]
Abbas Nodehi[1]
Aghil Mollaei[6]

[1] Medicinal Plant Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Professor, Department of Pharmacognosy, 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, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Assistant Professor, School of Pharmacy, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
[6] MSc in Biostatistics, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received July 27, 2023; Accepted November 6, 2023)

Abstract

Background and purpose: Gallstones are caused by the accumulation and density of fat-soluble substances inside the gallbladder. In traditional medicine *Echium amoenum* increases gallbladder secretions.so the aim of this study was to investigate the effect of *Echium amoenum* extract and *Viola odorata* on gallstone dissolution.

Materials and methods: At first, gallstones were collected and the stone compounds were identified by UV and DSC. Gallstones are divided into equal parts in terms of size and weight (200 mg). Three acidic, alkaline and distilled water media were prepared as a control group along with the experimental groups which contained *Echium amoenum* and *viola odorata* extracts with concentrations of 1 mg/ml, 10 mg/ml, 100 mg/ml and 500 mg/ml, respectively. A gallstone sample was placed in it and sampled after 24 and 48 hours and the dissolution rate of the stone compounds was measured by an auto-analyzer.

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 *Echium* extract with a concentration of 500 mg was able to dissolve 70% of the calcium and the *Viola* extract with a concentration of 500 mg has been able to dissolve 50% of the cholesterol and 80% of the stone's calcium.

Conclusion: *Echium amoenum* and *Viola odorata* have a significant effect on the dissolution of gallstones ($P<0.0001$).

Keywords: Gallstones, *Echium amoenum*, *Viola odorata*, triglycerides, cholesterol

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (Supple 1): 295-301 (Persian).

Corresponding Author: Mohammad Azadbakht0 Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: azadbakhtm@hotmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-19]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره ویژه نامه 1 آبان سال 1402 (301-295)

بررسی جداگانه اثر عصاره‌های گل‌گاوزبان و گل بنفشه بر انحلال سنگ صفراوی

علی مقصودی[1]
محمد آزادبخت[2,3]
غلامعلی گدازنده[4]
فاطمه اکبری[5]
عباس نودهی[1]
عقیل مولایی[6]

چکیده

سابقه و هدف: سنگ کیسه صفرا به علت انباشتگی و تراکم مواد محلول در چربی در داخل کیسه صفرا ایجاد می‌شود. در طب سنتی گل‌گاوزبان صفرا آور است. بنابراین این مطالعه به بررسی اثر عصاره گل‌گاوزبان و گل بنفشه، در سنگ صفرا می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر نخست سنگ صفرا جمع‌آوری گردید و ترکیبات سنگ به‌وسیله دستگاه uv و DSC شناسایی شد. سنگ صفرا به قسمت مساوی (200 mg) تقسیم شد. سه محیط اسیدی، قلیایی و آب مقطر به‌عنوان گروه کنترل در کنار گروه‌های آزمایش که به ترتیب حاوی عصاره گل‌گاوزبان و بنفشه با غلظت 1 mg/ml، 10mg/ml، 100mg/ml و 500 mg/ml بودند تهیه شد. نمونه سنگ صفراوی در آن قرار داده شد و پس از 24 و 48 ساعت نمونه‌گیری شدند. سپس میزان انحلال ترکیبات سنگ توسط دستگاه اتوانالایزر اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: طیف UV حضور بیلی روبین در سنگ صفرا و ترموگرام DSC حضور کلسترول در سنگ صفرا را نشان داد. عصاره گل‌گاوزبان با غلظت 500 mg/ml توانسته است تقریباً 80 درصد کلسیم را در خود حل کند و عصاره گل بنفشه با غلظت 500 mg/ml توانسته است تقریباً 50 درصد کلسترول و 90 درصد کلسیم سنگ را در خود حل کند.

استنتاج: گل‌گاوزبان و بنفشه اثر قابل‌توجهی بر انحلال ترکیبات سنگ صفرا دارند ($P<0/0001$).

واژه های کلیدی: سنگ کیسه صفرا، گل‌گاوزبان، بنفشه، تری گلیسرید، کلسترول

مقدمه

سنگ صفرا یک بیماری رایج است که به دنبال افزایش سن و عوامل وراثتی ایجاد می‌گردد(1). رعایت نکردن رژیم غذایی مناسب، چاقی، بی‌تحرکی، سنگ‌های کیسه صفرا رسوبات جامد کلسترول، تری

مولف مسئول: محمد آزادبخت - ساری: کیلومتر 17 جاده فرح‌آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: azadbakhtm@hotmail.com

1. مرکزتحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. استاد، گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
3. مرکز تحقیقات سلامت فراورده های گیاهی و دامی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
4. استاد، گروه جراحی عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
5. استادیار، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران
6. کارشناس ارشد آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت : 1402/5/5 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1402/5/30 تاریخ تصویب : 1402/8/15

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-19]

گلیسیرید، کلسیم، بیلی روبین و فسفر هستند(1). گل گاوزبان (*Echium amoenum* L.) در طب سنتی ایران صفرا آور است(2). بیش ترین اثر این گیاه به دلیل داشتن رزمارینیک اسید، آنتوسیانین، فلاوونویید، ساپونین ترپنوییدها و اسیدهای غیراشباع و آلکالوئید پیرولیزیدین است که دارای اثرات آنتی اکسیدانتی است(3).

بنفشه، با نام علمی *Viola odorata L*، دارای ترکیباتی مانند استرها، کومارین، فلاوونوئید، ساپونین‌ها، تانن‌ها، موسیلاژ و آنتوسیانین است. باوجود مطرح‌شدن مصرف خوراکی این گیاهان در طب سنتی(4) دانستن نحوه عملکرد و قدرت تأثیر انحصاری عصاره‌ها بر انواع رسوبات سنگ‌های صفراوی مانند رسوبات کلسترولی، تریگلیسریدی بیلی روبینی، امری ضروری است. هم‌چنین با دانستن پروفایل رسوبات می‌توان درمان مؤثرتری ارائه داد(5). این مطالعه به بررسی اثرات گیاهان بنفشه و گل گاوزبان بر انحلال سنگ صفراوی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی حاضر به بررسی اثرات بنفشه و گل گاوزبان به‌صورت مجزا از هم بر انحلال سنگ صفراوی در محیط آزمایشگاهی (in vitro) می‌پردازد.

جمع آوری و عصاره گیری

گل بنفشه و گل گاوزبان از بازار مازندران، خریداری شد. گیاهان، جداگانه خشک و خرد شدند. عصاره‌گیری به روش سوکسله به مدت پنج ساعت با اتانول 80 درصد انجام گردید. عصاره تغلیط و خشک شده، در یخچال نگهداری شد(6).

فنول و فلاونوئید تام

آنالیز فیتوشیمیایی گل گاوزبان و بنفشه با اندازه‌گیری فنول و فلاونویید به ترتیب براساس استاندارد گالیک اسید وکوئرستین با روش اسپکتوفتومتری در طول‌موج 415 انجام شد(7).

جداسازی و آماده‌سازی سنگ صفرا

این مطالعه با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1400.8117 در دانشگاه علوم پزشکی مازندران تصویب شد. با مراجعه به بیمارستان شفای ساری سنگ‌های صفراوی جداشده از بیماران مبتلا، جمع‌آوری گردید و به قسمت‌های مساوی از نظر ابعاد و وزن (200mg) تقسیم شد و به لوله‌های آزمایش شماره‌گذاری شده منتقل شدند تا میزان انحلال آن‌ها درگروه‌های 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 می‌گردد. ترموگرام DSC پیک‌های مختلفی را در دماهای مختلف نشان می‌دهد که هریک بیانگر ترکیبات شیمیایی ویژه‌ای است. در مطالعه حاضر 20 mg از سنگ پودر و به مدت چهار ساعت در دستگاه DSC گذاشته و پس‌ازآن طیف نقطه ذوب به دست آمد(8).

بررسی طیف UV سنگ صفرا

1 mg پودر سنگ صفرا با آب مقطر مخلوط کرده و درون دستگاه اسپکتروفتومتری گذاشته وجهت بررسی ترکیبات آن طیف UV استخراج شد(8).

بررسی ترکیبات سنگ صفرا

15 mg پودر سنگ با میزان مشخص آب مقطر به وسیله سونیکاتور مخلوط گردید و توسط دستگاه اتوانالایزر در آزمایشگاه سرولوژی، ترکیبات سنگ مشخص گردید.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-19]

سنجش اثر عصاره گل گاوزبان و بنفشه بر انحلال سنگ‌های صفراوی

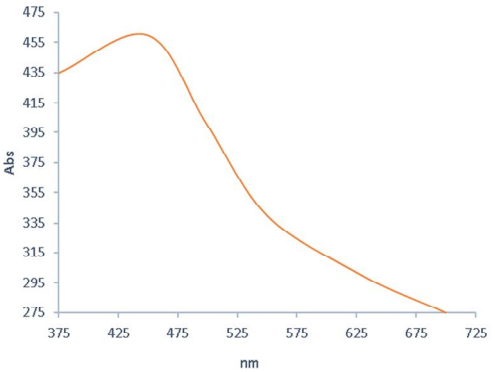
برای این منظور سنگ صفرا در مجاورت گروه‌های درمان، به ترتیب حاوی عصاره گل گاوزبان و بنفشه که هر کدام با غلظت 1 mg/ml، 10mg/ml، 100mg/ml و 500mg/ml بودند، قرار گرفته و میزان انحلال سنگ براساس ترکیبات موجود در سنگ‌ها که شامل کلسترول، تریگلیسرید، بیلی روبین، کلسیم و فسفر بود در زمان 24 ساعت و 48 ساعت توسط دستگاه اتوانالایزر بررسی گردید(8). 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 به‌دست‌آمده به کمک نرم‌افزار پریزم (GraphPad Prism 8) و آنالیز واریانس دوطرفه (2-way ANOVA) و به دنبال آن آزمون t-test انجام شد. به‌عنوان سطح تفاوت معنی‌داری گروه‌ها $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها و بحث

عصاره‌های گل گاوزبان و بنفشه بر سنگ صفرا، انحلال سنگ صفراوی را نشان داد. این گیاهان دارای مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی هستند. میزان فنول گل گاوزبان و بنفشه به ترتیب 31/6 mg/g و 5/3 mg/g و میزان فلاونوئید بنفشه و گل گاوزبان به ترتیب 20/8 mg/g و 8/29mg/g است(9). به علت 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 داده، از تشکیل سنگ‌های صفراوی کلسترولی جلوگیری می‌کنند(10). در این مطالعه 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 ترکیبات است(11). بررسی طیف UV نشان داد بیش‌ترین میزان جذب در nm455 است که این جذب مشخصه بیلی روبین (تصویر شماره 1) است. طیف نقطه ذوب به دست آمده از دستگاه DSC نقطه اوج خود را در دمای 149℃ نشان می‌دهد که بیانگر حضور کلسترول است (تصویر شماره 2).

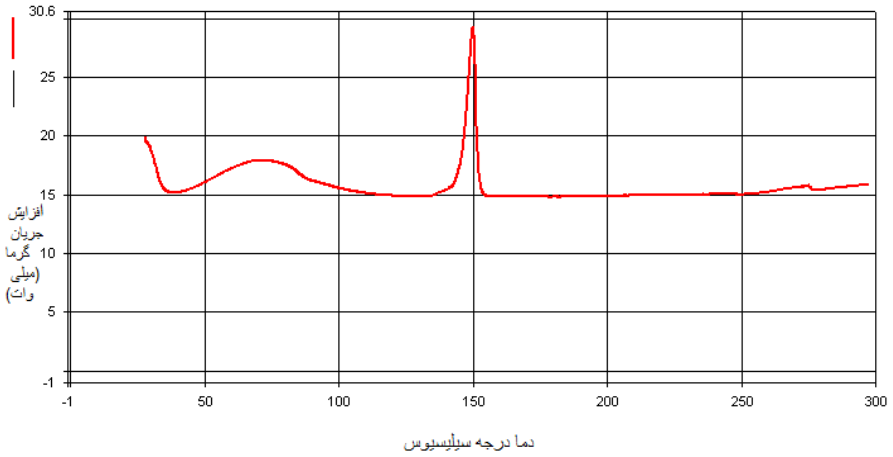


تصویر شماره 1: طیف UV سنگ صفرا جداشده از بیمار. در این شکل نقطه اوج خود جذب UV در پیک 455 نانومتر دیده می‌شود

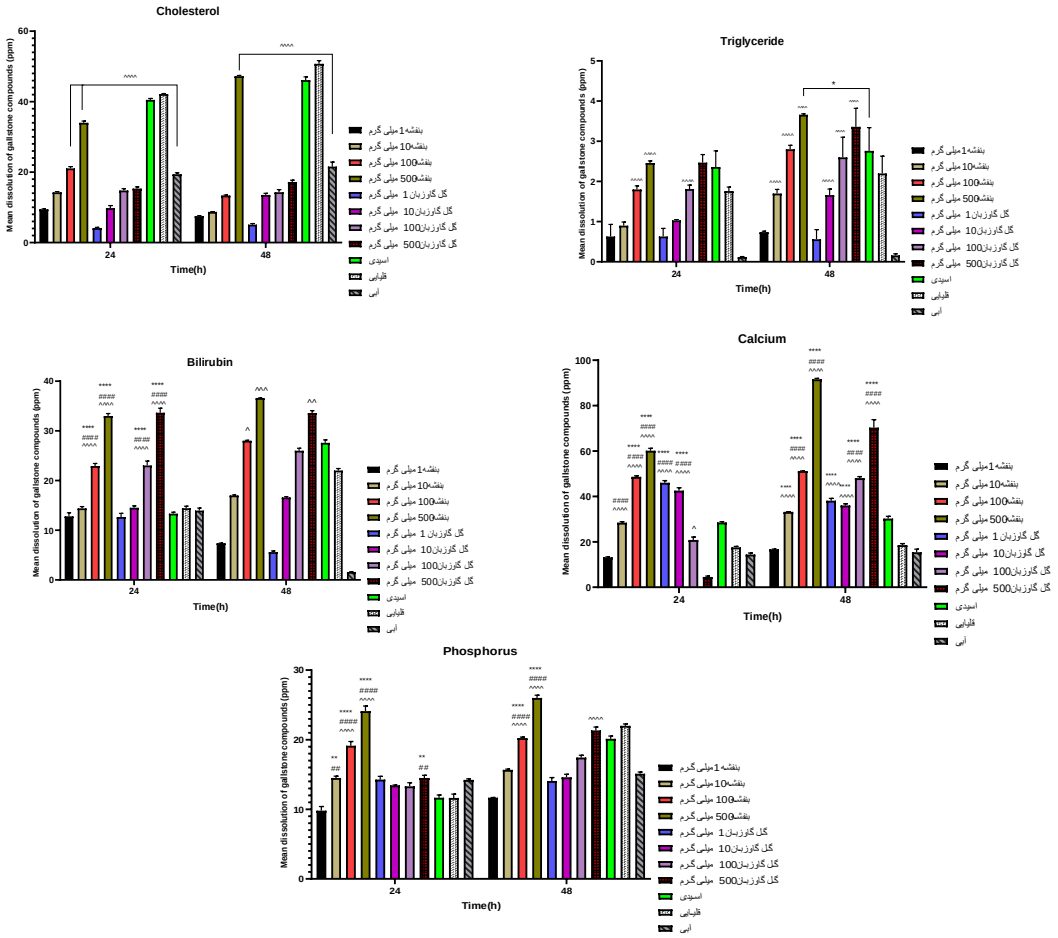
رایج‌ترین بازده زمانی برای بررسی انحلال سنگ‌های 48 ساعت است که مطابق روش کار این مطالعه است. در مطالعات دیگر بررسی‌های کاهش وزن سنگ تا دو هفته ادامه می‌یابد(12). مطالعه حاضر تغییرات را در املاح سنگ گروه‌های درمان بررسی می‌کند (تصویر شماره 3).

عصاره بنفشه و گل گاوزبان با غلظت 500 mg/ml به ترتیب توانسته است حدود90 درصد و 80 درصد از کلسیم اولیه را در خود حل کنند و اختلاف معنی‌داری با گروه‌های کنترل(اسیدی، قلیایی،آبی)($P<0/0001$) دارد. کاهش وزن سنگ با عصاره‌های بنفشه و گل گاوزبان در پایان آزمایش نسبت به وزن ابتدایی سنگ به ترتیب 44 درصد و 37 درصد ($P<0/0001$) بود. گروه بنفشه و گل گاوزبان با غلظت 500 mg/ml باعث کاهش قابل توجهی از سطح تریگلیسرید، بیلی‌روبین سنگ

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-19]



تصویر شماره 2: ترموگرام DSC سنگ صفرا جداشده از بیمار. در این شکل نقطه اوج در دمای℃149 دیده می‌شود.



تصویرشماره 3: تغییرات میزان ترکیبات کلسترول، تری گلیسیرید، بیلی روبین، کلسیم و فسفر در بازه زمانی 24 و 48 ساعت در بین گروه‌های ****P (0/01> P ** ، 0/001> P ***، 0/0001> P در مقایسه با گروه کنترل قلیـایی (0/05> P #، 0/01> P ##، 0/001> P ###، 0/0001> P #### در مقایسه با گروه کنترل اسیدی (^^^^ 0/0001> P ^^^، 0/001> P ^^، 0/01> P; ^ 0/05> P در مقایسه با گروه کنترل آب).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-19]

شد (P>0/05). بین گروه بنفشه و گل گاوزبان با غلظت 500 mg/ml با وجود انحلال بیش‌ترکلسیم و وزن سنگ در گروه بنفشه تفاوت معنی‌دار نبود(P>0/05). در مطالعات از مایع صفرا برای انحلال نمونه گیاهی استفاده شد که در این مطالعه عصاره‌ها در آب حل شده، در دمای اتاق در تماس با سنگ قرار گرفتند. در مطالعه‌ای، آزمایش در شرایط استاندارد بدن (37℃ و PH =6) انجام گردید(8) و ursodiol به‌عنوان داروی استاندارد استفاده شد که در این مطالعه استفاده نشده است(12). با توجه به محدودیت بررسی‌های بیش‌تر فیتوشیمیایی گیاه، هزینه‌بر بودن آن، دشواری تهیه استانداردهای ترکیبات آزمایشگاهی و مواد مورد نیاز پیشنهاد می‌شود در مطالعات تخصصی بعدی نوع ترکیبات و میزان ماده مؤثر گیاه با روش HPLC تعیین شود و مطالعات حیوانی انجام گردد.

بنفشه و گل گاوزبان بیش‌ترین اثر کاهشی را بر کلسیم موجود در سنگ صفرا می‌گذارند و عصاره 500 mg/ml هر دو گیاه در محیط آزمایشگاهی به‌طور مؤثری در انحلال سنگ صفرا مؤثر است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کارکنان آزمایشگاه فارماکوگنوزی تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Portincasa P, Moschetta A, Palasciano G. Cholesterol gallstone disease. The Lancet 2006; 368(9531): 230-9.
2. Azizi H, Ghafari S, Ghods R, Shojaii A, Salmanian M, Ghafarzadeh J. A review study on pharmacological activities, chemical constituents, and traditional uses of Echium amoenum. Pharmacognosy Reviews 2018; 12(24): 208-213.
3. Safaeian L, Javanmard SH, Ghanadian M, Seifabadi S. Cytoprotective and antioxidant effects of Echium amoenum anthocyanin-rich extract in human endothelial cells (HUVECs). Avicenna J Phytomed 2015; 5(2): 157.
4. Jafari H, Mokaberinejad R, Raeis-Abdollahi E. Echium amoenum from viewpoint of Avicenna: a brief review. Journal of Contemporary Medical Sciences. 2018;4(4): 187-190.
5. Feyzabadi Z, Ghorbani F, Vazani Y, Zarshenas MM. A critical review on phytochemistry, pharmacology of Viola odorata L. and related multipotential products in traditional Persian medicine. Phytother Res 2017; 31(11): 1669-75.
6. Chaichi M, Mehrzad J. GC-MS analysis of chemical compounds from acetone extract of Echium amoenum Fisch. Research Journal of Pharmacognosy 2017; 4(Supplement): 9.
7. 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): 541-9.
8. Chekroune M, Benamara S. Gallstones-dissolving capacity of lemon (Citrus limon) juice, Herniaria hirsuta L. extract and lemon juice-based natural vinaigrette in vitro 2017.
9. 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.
10. 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.
11. Arshad R, Tabish TA, Naseem AA, ul Hassan MR, Hussain I, Hussain SS, et al. Development of poly-L-lysine multi-

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-19]

functionalized muco-penetrating self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) for improved solubilization and targeted delivery of ciprofloxacin against intracellular Salmonella typhi. Journal of Molecular Liquids 2021; 333: 115972.

12. Tiwari SW, Sah AN. Effect of Apricot Fruit and Kernel Extracts on in-vitro Dissolution of Cholesterol Gallstones: Implication for Development of Potent Anti-cholilithiaticc agent. Indian J Pharm Educ Res 2020; 54: 755-60.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-19]