

بررسی اثرات ضد باروری دانه گیاه چشم خروس بر روی موش

حسین حسین زاده^۱، حسن وکیلی ارکی^۲، بی بی مرجان رضوی^۳
تلفن: ۰۵۱۱-۸۸۲۳۲۵۵ پست الکترونیک: Hosseinzadehh@mums.ac.ir

خلاصه

مقدمه: در مطالعاتی که بر روی گیاه چشم خروس *Abrus precatorius* صورت گرفته است، اثر ضدباروری دانه این گیاه نشان داده شده است ولی تا کنون هیچ مطالعه ای در ارتباط با طول مدت اثر ضدباروری و وابستگی آن به روز تجویز نشده است.

روش کار: پس از تهیه عصاره اتری دانه گیاه، دوز قابل تحمل عصاره دانه، تعیین شد و سپس به میزان ۱۰ میلی گرم بر موش، در روزهای ۵-۱ پس از جفت گیری، به صورت داخل صفاقی تجویز و از روغن بادام شیرین به عنوان کنترل استفاده شد که در روزهای ۱ و ۲ پس از جفت گیری به موشها تجویز گردید. برای پی بردن به طول اثر ضد باروری، برای ۴ دوره تولید مثلی، اثر ضد باروری پیگیری شد.

نتایج: بر اساس مطالعه، میزان LD50 عصاره اتری دانه چشم خروس در موش، ۲۰/۴۴ mg و حداکثر دوز قابل تحمل ۱۰ mg گزارش شد. عصاره اتری دانه، با دوز ۱۰ mg بر موش، در روزهای ۱، ۲، ۴ و ۵ پس از جفت گیری تا یک دوره تولیدمثلی و در روز ۲ پس از جفت گیری تا دو دوره تولید مثلی نسبت به گروه کنترل اثر ضد باروری قابل توجه نشان داد.

بحث و نتیجه گیری: عصاره اتری دانه گیاه چشم خروس در موش، بسته به روز تجویز، دارای اثر ضد باروری تقریباً طولانی مدت می باشد. به طوری که نتایج نشان داد، تجویز عصاره اتری دانه به موش در روز ۲ پس از جفت گیری، اثر ضد باروری طولانی تری (تا دو دوره تولیدمثلی) داشت.

کلمات کلیدی: گیاه چشم خروس، ضد باروری، ضدلانه گزینی

۱. استاد گروه فارماکودینامی و سم شناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد،

۲. داروساز

۳. دستیار تخصصی سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

مقدمه :

با افزایش روز افزون جمعیت جهان، بیم آن می رود که در آینده ای نزدیک، بحران جمعیت در جهان به وقوع پیوسته و خصوصاً در کشورهای جهان سوم و درحال توسعه مشکلاتی چون کمبود منابع طبیعی و فقر غذایی، کمبود مسکن، مشکلات فرهنگی و مالی را به همراه داشته باشد. استفاده از داروهای جلوگیری کننده از بارداری سنتزی مدتی است که مورد توجه واقع شده ولی به دلیل عوارض نامطلوبی که دارند سعی بر این است که با تحقیق بر روی گیاهان مختلف بتوان از آنها به عنوان جانشینی مناسب استفاده کرد.

گیاه چشم خروس یا شیرین بیان هندی با نام علمی *Abrus percoloratus* از خانواده نخودیان Fabaceae می باشد. این گیاه بومی اندونزی بوده و در مناطق گرمسیر رشد می کند. برای قسمتهای مختلف این گیاه، اعم از ریشه، ساقه، برگ و دانه کاربردهای متعددی ذکر شده است، به طوری که ساقه و برگ گیاه دارای اثرات مسهلی، استفرغ آوری و مقوی نیروی جنسی می باشد (۱). عصاره دانه گیاه دارای اثر حفاظتی در برابر آسیب کلیوی ناش از الکل می باشد، به طوری که سبب مهار لیپیدپراکسیداسیون ایجاد شده توسط الکل در بافت کلیه می گردد (۲). عصاره آبی دانه گیاه دارای خواص پایین آورندگی قند و چربی خون در رتهای دیابتی (القائه شده با استرپتوزوسین) به صورت وابسته به دوز می باشد (۳). از نظر ترکیب شیمیایی، این گیاه دارای گلیکوزید آبرین (Abrin)، آلکالوئید آبرینه (Abrine) و گلوکوزید آبرالین می باشد. دانه این گیاه سمی است و جزء عمده آن آبرین می باشد که یک توکسالومین شبه ریسین است (۴). مشخص شده است که آبرین جدا شده از دانه های گیاه، دارای خواص ضدتوموری به دلیل القای آپوپتوز می باشد (۵). دانه این گیاه علاوه بر خواص دیگر، دارای اثر ضدباروری می باشد، به طوری که در هند از پودر دانه آن به صورت خوراکی به عنوان جلوگیری کننده از باروری استفاده می شود (۶)، اثرسقط زایی واکسی توسیک هم با این ماده گزارش شده است (۶). همچنین، مطالعات مشخص کرده اند که عصاره متانولی دانه سبب بی حرکتی اسپرم می شود (۷). بر اساس گزارشات، اثر ضدباروری دانه چشم خروس به استرول ۲۵ کربنه آن به نام آبریدین مربوط می باشد که در بخش روغنی عصاره دانه موجود می باشد (۷).

تا کنون هیچ مطالعه ای در ارتباط با طول مدت اثر ضدباروری این گیاه و نیز وابستگی طول اثر به روز تجویز نشده است، به همین منظور در این تحقیق با استفاده از عصاره اتری دانه گیاه، اثر ضدباروری و طول مدت اثر ضدباروری آن بر روی موش بررسی گردید.

روش کار**(۱) حیوانات**

در این مطالعه از موش سوری نژاد BALB-c با وزن متوسط ۳۰ گرم و سن تقریبی ۳ ماه که در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای تقریبی ۲۴-۲۰ درجه سانتیگراد در اتاق حیوانات دانشکده داروسازی مشهد نگهداری می شد، استفاده گردید.

(۲) گیاه

دانه گیاه چشم خروس از یکی از مراکز گیاهان دارویی مشهد تهیه و توسط متخصصین هرباریوم دانشگاه فردوسی مشهد مورد شناسایی و تأیید قرار گرفت.

(۳) عصاره گیری

با استفاده از دستگاه سوکسله و با کمک حلال اتر دو پترول عصاره گیری انجام شد. پس از تهیه عصاره خالص روغنی دانه گیاه، با استفاده از روغن بادام شیرین غلظتهای ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم در میلی لیتر ساخته شد.

(۴) تعیین دوز قابل تحمل

برای این منظور از تعداد ۲۰ موش سوری استفاده گردید و پس از تزریق داخل صفاقی غلظت های مختلف عصاره و روغن بادام شیرین به عنوان گروه کنترل به گروه های مختلف موشها، میزان مرگ و میر در گروه ها و تغییرات وزن موشهای زنده باقی مانده به مدت ۲ هفته پیگیری شد.

(۵) مطالعات ضد باروری (۸)

برای انجام مطالعه از ۶۰ سر موش ماده با سن حدود ۳ ماه استفاده شد. با به کار بردن یک موش نر برای چند ماده، روزانه تمام موشها از نظر پلاک واژینال بررسی شده و پس از تأیید وجود پلاک واژینال، دوز قابل تحمل از عصاره به میزان ۱۰ میلی گرم بر موش، در روزهای ۵-۱ پس از جفت گیری به موشها به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. به موشهای گروه کنترل روغن بادام شیرین در روزهای ۱ و ۲ پس از جفت گیری داده شد. به منظور بررسی طول اثر ضدبارداری عصاره، پس از تشکیل پلاک واژینال و تزریق عصاره در روزهای مشخص،

دوز قابل تحمل عصاره اتری دانه چشم خروس
با استفاده از برنامه کامپیوتری، میزان LD50 عصاره اتری دانه گیاه چشم خروس در موش سوری ۲۰/۴۴ mg/Mice محاسبه شد و دوز قابل تحمل ۱۰ میلی گرم به ازای هر موش در نظر گرفته شد.

اثرات ضد باروری عصاره اتری دانه چشم خروس
درصد اثرات ضدباروری عصاره اتری دانه چشم خروس در گروه های دریافت کننده عصاره و کنترل در موش در جدول ۱ و ۲ آورده شده است.

موشها مجدداً با موش نر مجاور گردیده و وضع آبستنی موشهای ماده و تاریخ زایمان آنها ثبت شد و وضعیت باروری برای ۴ دوره تولیدمثلی (۲۰ روزه) پیگیری شد.

۶) آنالیز آماری

جهت مقایسه میزان عدم باروری در گروه های دریافت کننده عصاره و کنترل در دوره های مختلف باروری و روزهای مختلف پس از جفت گیری از آزمون Chi-square در برنامه کامپیوتری Instat استفاده گردید.

نتایج

جدول ۱: درصد اثرات ضدباروری عصاره اتری دانه گیاه چشم خروس به میزان ۱۰ میلی گرم به ازای هر موش از راه تزریق داخل صفاقی در موش

روز تزریق (پس از جفت گیری)	درصد اثرات ضدباروری			
	دوره اول	دوره دوم	دوره سوم	دوره چهارم
اول	۱۰۰٪***	۴۰٪	۲۰٪	۲۰٪
دوم	۸۰٪***	۸۰٪***	۴۰٪	۲۰٪
سوم	۲۰٪	۰٪	۰٪	۰٪
چهارم	۸۰٪***	۴۰٪	۰٪	۰٪
پنجم	۸۰٪***	۴۰٪	۲۰٪	۰٪

هر دوره تولیدمثلی ۲۰ روز، گروه های ۵ تایی از موش، مقایسه بین گروه نمونه و کنترل با استفاده از آزمون Chi-square ($P < 0.001$) (***)

جدول ۲: درصد عدم باروری روغن بادام شیرین (کنترل) در موش از راه تزریق داخل صفاقی

روز تزریق (پس از جفت گیری)	درصد عدم باروری			
	دوره اول	دوره دوم	دوره سوم	دوره چهارم
اول	۴۰٪	۴۰٪	-	-
دوم	۴۰٪	۴۰٪	-	-

هر دوره تولیدمثلی ۲۰ روز، گروه های ۵ تایی از موش، مقایسه بین گروه نمونه

و کنترل با استفاده از آزمون Chi-square

بحث

نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که عصاره اتری دانه چشم خروس در روزهای ۱، ۲، ۴ و ۵ پس از جفت گیری تا یک دوره تولیدمثلی و در روز دوم پس از جفت گیری تا دو دوره تولیدمثلی نسبت به گروه کنترل، اثر ضدباروری قابل توجه در موش ایجاد نمود. مشخص شده است که ماده آبریدین، استرول ۲۵ کربنه موجود در بخش روغنی عصاره دانه گیاه چشم خروس، مسوول بیشترین اثرات ضدباروری این ماده می باشد (۷) و از آنجا که تجویز استروژن در برخی از گونه ها در مراحل اول بارداری قادر است سبب عبور سریع تخمک از مجرای اویدوکت و خروج آن از رحم گردد (۶)، لذا تجویز عصاره در روزهای ۱ و ۲ پس از جفت گیری منجر به تسریع عبور تخمک از مجرای اویدوکت می شود.

با توجه به این که در روزهای ۴ و ۵ بارداری در موش سوری عمل جایگزینی جنین در دیواره رحم انجام می شود، به دلیل وجود ماده استروژنی آبریدین در عصاره اتری دانه، می توان نتیجه گیری نمود که تجویز عصاره اتری در روزهای ۴ و ۵ پس از جفت گیری، سبب شاخی شدن دیواره رحم شده و جایگزینی جنین انجام نمی شود (۶،۷).

با توجه به این که یکی دیگر از مکانیسمهایی که برای اثر ضدباروری دانه چشم خروس عنوان شده است اثر اکسی توسیک عصاره دانه و مشابهت آن با $PGF2\alpha$ می باشد (۹،۸)، بنابراین تجویز عصاره اتری در روزهای ۴ و ۵ پس از جفت گیری سبب می شود که سلول تخم تشکیل شده به خارج از رحم دفع گردد. همچنین نتایج نشان داد در صورتی که عصاره اتری دانه گیاه چشم خروس در روز ۲ پس از جفت گیری تجویز شود طول اثر ضد باروری بیشتری خواهد داشت.

عنوان شده است که در آفریقای مرکزی حدود ۲۰۰ میلی گرم از دانه پودر شده این گیاه، قادر است حتی با یک بار مصرف در انسان تا ۱۳ دوره قاعدگی اثر ضدباروری اعمال نماید (۱۰)، ولی همان طور که نتایج این مطالعه نشان داد، در موش اثر ضد باروری طولانی مدت قابل ملاحظه نبود که شاید این امر به دلیل اختلاف فیزیولوژیک بین انسان و موش و نیز اختلاف بین ترکیبات مختلف موجود در دانه و عصاره دانه باشد.

مطالعات زیادی بر روی اثرات عصاره دانه گیاه چشم خروس بر اسپرماتوژنز در جنس نر صورت گرفته است و مشخص شده است که تجویز این عصاره سبب بروز کاهش تحرک اسپرم در انسان و رت شده است، به طوری که در انسان، تجویز عصاره متانولی دانه چشم خروس سبب کاهش حرکت اسپرم می گردد، این اثر وابسته به دوز بوده و در غلظت های بالا سریع و قابل ملاحظه است (۷).

همچنین در مطالعه دیگری مشخص شد که مصرف خوراکی عصاره ۵۰ درصد اتانولی دانه چشم خروس به میزان 250 mg/Kg به مدت ۶۰-۳۰ روز به رت، با تاثیر بر روی حرکت اسپرم توان باروری را به طور کامل از بین می برد (۱۱). نیز عنوان شده است که مصرف روزانه 100 mg/Kg عصاره الکلی دانه گیاه چشم خروس از راه خوراکی و به مدت ۶۰ روز، منجر به افت قدرت باروری به دلیل کاهش تحرک اسپرم و تاثیر بر روی شکل ظاهری اسپرم در لوله های اپیدیدیم می گردد (۱۲)، مشخص شده است که عصاره آبی این گیاه نیز سبب کاهش تعداد سلولهای اسپرم و اختلال در عملکرد بیضه ها می شود (۱۳). بر اساس این مطالعات، دانه گیاه چشم خروس با تاثیر بر روی فرایند اسپرماتوژنز می تواند به عنوان یک عامل ضد باروری موثر در جنس نر هم مطرح باشد.

نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج حاصله، عصاره اتری دانه چشم خروس، بسته به روز تجویز دارای اثر ضدباروری تقریباً طولانی مدت می باشد. به طوری که تجویز آن در روز ۲ نسبت به روزهای ۱، ۴ و ۵ پس از جفت گیری، اثر ضد باروری طولانی تر داشته و قادر است تا دو دوره تولید مثلی در موش اثر ضد باروری داشته باشد. از مکانیسمهای احتمالی اثر ضد باروری آن، می توان به جلوگیری از جایگزینی جنین در دیواره رحم (تجویز در روز ۴ و ۵ پس از جفت گیری)، تسریع حرکت تخمک از مجرای اویدوکت و خروج آن از رحم (تجویز در روز ۱ و ۲ پس از جفت گیری) و نیز ایجاد اثر اکسی توسیک بر روی عضله رحم و دفع تخم لقاح یافته (تجویز در روز ۴ و ۵ پس از جفت گیری)، اشاره نمود.

References:

- 1) Parekh J, Chanda SV. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Turk J Biol.* 2007;31(1):53-8.
- 2) Ae L, Bnrl J, Nf N. Protective effect of abrus precatorius seed extract following alcohol induced renal damage. *Eur J Sci Res.* 2009;25(3):428-36.
- 3) Nwanjo HU. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of aqueous extracts of abrus precatorius linn seeds in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *J Herbs Spices Med Plants.* 2008;14(1-2):68-76.
- 4) Bradberry S. Ricin and abrin. *Med.* 2007;35(10):576-7.
- 5) Bhutia SK, Mallick SK, Maiti S, Maiti TK. Inhibitory effect of Abrus abrin-derived peptide fraction against Dalton's lymphoma ascites model. *Phytomed.* 2009;16(4):377-85.
- 6) Farnsworth NR, Bingel AS, Cordell GA. Potential value of plants as sources of new antifertility agents I. *J Pharm Sci.* 1975;64(4):535-98.
- 7) Ratnasooriya WD, Amarasekera AS, Perera NSD, Premakumara GAS. Sperm antimotility properties of a seed extract of Abrus precatorius. *J Ethnopharmacol.* 1991;33(1-2):85-90.
- 8) Farnsworth NR, Bingel AS, Cordell GA. Potential value of plants as sources of new antifertility agents II. *J Pharm Sci.* 1975;64(5):717-54.
- 9) Pei-Gen X, Nai-Gong W. Can ethnopharmacology contribute to the development of anti-fertility drugs? *J Ethnopharmacol.* 1991;32(1-3):167-77.
- 10) Duke JA. *Hand Book of Medicinal Herbs.* 8th ed. Florida: CRC Press;1991:3-4.
- 11) Sinha R. Post-testicular antifertility effects of Abrus precatorius seed extract in albino rats. *J Ethnopharmacol.* 1990;28(2):173-81.
- 12) Rao MV. Antifertility effects of alcoholic seed extract of Abrus precatorius Linn. in male albino rats. *Acta Eur Fertil.* 1987;18(3):217-20.
- 13) Adedapo AA, Omoloye OA, Ohore OG. Studies on the toxicity of an aqueous extract of the leaves of Abrus precatorius in rats. *Onderstepoort J Vet Res.* 2007;74(1):31-6.