

ساخت، استانداردسازی و ارزیابی قرص گیاهی مؤثر در کنترل سوءهاضمه مبتنی بر داروسازی سنتی ایران

اسما آزادنیان^{الف}، محمدمهدی زرشناس^ب، الهه ناز پرهیزکار^{ج*}

^{الف}گروه داروسازی سنتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

^بمرکز تحقیقات فرآوری گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

^جگروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

چکیده

سابقه و هدف: شیوع روزافزون اختلالات گوارشی از عمده‌ترین مشکلات جوامع امروزی محسوب می‌شود. از مهم‌ترین بیماری‌های این دسته سوءهاضمه است که برای درمان آن از روش‌های دارویی و غیردارویی متفاوتی استفاده می‌شود. از جمله روش‌های دارویی می‌توان به درمان‌های طب مکمل اشاره کرد که در این میان، استفاده از گیاهان دارویی، عصاره، اسانس و ترکیبات مستخرج از گیاهان بسیار پرکاربرد است. در میان اشکال دارویی اختصاصی ذکرشده در داروسازی سنتی ایران، یک شکل مهم و پرمصرف، شکل دارویی «علاج فساد هضم» بوده که به‌طور غیرمستقیم به سوءهاضمه اشاره دارد.

مواد و روش‌ها: از جمله داروهای ترکیبی که برای فساد هضم استفاده می‌شود فرمولاسیونی شامل ۴ مفردة فلفل سیاه، بذر شوید، زیره سیاه و گل محمدی است. در این مطالعه به ساخت فرمولاسیون قرص علاج فساد هضم پرداخته شد. به همین منظور گیاهان مذکور خشک، پودر و مخلوط شدند. سپس خرده‌نگاری و تهیه اسانس انجام شد. آنالیزهای دستگاهی نظیر کروماتوگرافی، کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی و استانداردسازی با کمک کروماتوگرافی گازی متصل به آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای و در نهایت تهیه فرمولاسیون قرص از این فرآورده انجام گردید.

یافته‌ها: ترکیبات اصلی مخلوط چهار گیاه تشکیل‌دهنده فرآورده علاج فساد هضم، پس از آنالیزهای ذکرشده، ۶۸/۱۶ درصد دیلاپیول (Dillapiol) و ۵/۶ درصد کاریوفیلین (Caryophyllene) بود. بعد از ساخت قرص که با کمک بهینه‌سازی فرمولاسیون‌های متفاوت تهیه شده بود، تست‌های پایداری مرتبط به قرص انجام شد که نشان‌دهنده فرسایش کمتر از ۱ درصد، میانگین تغییرات وزن کمتر از ۱ درصد، سختی حدود 0.4 ± 0.12 ، میانگین زمان متلاشی‌شدن کمتر از ۲۲ دقیقه و میانگین ضخامت حدود 0.1 ± 0.07 میلی‌متر بود.

نتیجه‌گیری: در نهایت با توجه به بازده اسانس‌گیری مخلوط هر چهار گیاه و تعیین مقدار انجام‌شده به روش کروماتوگرافی گازی متصل به آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای، میزان کاریوفیلین در فرمولاسیون نهایی هر قرص حدود ۱۲۸ میکروگرم اندازه‌گیری شد.

کلیدواژه‌ها: سوءهاضمه، شوید، فلفل سیاه، گل سرخ

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۲

تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۲

مقدمه

تهوع، استفراغ و نفخ نیز در بسیاری از بیماران گزارش می‌شود. بیماران معمولاً یک یا چندین مورد از این علائم را با هم گزارش می‌دهند (۱-۳).

درصد شیوع این بیماری در جمعیت‌های مختلف به دلیل فرهنگ‌ها و عادات غذایی متفاوت به‌طرز قابل‌توجهی متفاوت است. همچنین با توجه به تعریفی که از این بیماری ارائه می‌شود، آمار متفاوتی می‌تواند گزارش شود؛ به‌طور مثال، اگر از «درد در قسمت بالای معده» به‌عنوان مفهوم سوءهاضمه

سوءهاضمه (Dyspepsia) یکی از بیماری‌های شایع در جوامع مختلف و نیز یکی از اصلی‌ترین دلایل مراجعه مردم به پزشک است که اغلب به‌صورت ناراحتی و درد در ناحیه فوقانی شکم بیان می‌شود. از شایع‌ترین علائم این بیماری می‌توان به احساس پربودن بعد از غذا، احساس سیری زودهنگام، رفلاکس اسید، ورم بالای شکم و درد در ناحیه اپی‌گاستریک اشاره کرد. همچنین علائمی مانند آروغ‌زدن،

استفاده شود، شیوع بین ۷ تا ۳۴/۲ درصد و اگر «وجود ناراحتی در دستگاه گوارشی فوقانی» برای گرفتن آمار استفاده شود، شیوع بیماری بین ۲۳ تا ۴۵ درصد متغیر است (۲، ۳).

برای بیان علل سوءهاضمه، چندین مکانیسم پاتوفیزیولوژی پیشنهاد شده است که ازجمله آنها می‌توان به تأخیر در تخلیه معده، اختلال در محل قرارگیری غذا، ازدیاد حساسیت نسبت به ورم معده، عفونت باکتریایی هلیکوباکتر، اختلال در پاسخ به اسید و لیپید در معده، تحرکات غیرعادی دستگاه گوارش و یا اختلال در عملکرد سیستم عصبی مرکزی اشاره کرد (۲، ۴).

برای درمان این بیماری، رویکردهای مختلفی وجود دارد. ازجمله رویکردهای درمانی اولیه، تغییر در شیوه زندگی و رژیم غذایی است. چندین روش دارویی و غیردارویی نیز برای درمان پیشنهاد شده است که اکثر آنها صرفاً جهت بهبود علائم بیماری و نه درمان کامل بیمار هستند. از داروهایی که تا امروز برای سوءهاضمه استفاده می‌شود می‌توان به داروهای کاهنده اسید، داروهای ضدنفخ، داروهای مؤثر بر حرکات دستگاه گوارش، داروهای ضداسهال و داروهای گیاهی اشاره کرد (۵-۷).

مطابق با آنچه در خصوص اثربخشی گیاهان دارویی برای کنترل سوءهاضمه در منابع امروزی و مقالات علمی معتبر و نیز مستندات حاضر در منابع طب و داروسازی سنتی شامل کتاب‌هایی نظیر کتاب قانون در طب، شرح الأسباب و العلامات، تحفه المؤمنین، قراپادین صالحی و مخزن الادویه و ... در حیطه بیماری‌های گوارشی و مشکلات ناشی از سوءهاضمه ذکر شده است، نسخ و دستورالعمل‌های دارویی فراوانی را می‌توان استفاده کرد. در این منابع، ۱۰۵ گیاه دارویی از ۳۷ خانواده برای درمان سوءهاضمه معرفی شده‌اند که از میان آنها هفتادوهشت گیاه به‌صورت بومی در ایران وجود دارند. بعضی از گیاهان نیز مانند چای سبز، به‌صورت بومی در ایران وجود نداشته‌اند، اما در قرن‌های اخیر در ایران کشت می‌شوند. اکثر گیاهان معرفی‌شده از خانواده‌های Apiaceae، Amaryllidaceae، Compositae، Rosaceae، Lamiaceae، Piperaceae و Brassicaceae، Zingiberaceae، Rutaceae، هستند (۴-۲، ۸، ۹).

به‌منظور طراحی مطالعه حاضر و با عنایت به مدارک و

شواهد موجود در دانش و یافته‌های امروزی و نیز یکی از منابع طب و داروسازی سنتی (قانون ابن‌سینا)، از یکی از فرمولاسیون‌های ذکرشده از کتاب قانون استفاده شد که به‌صورت زیر گزارش شده است:

«فلفل سیاه یک مقدار، زیره سیاه یک مقدار، بذر شبت یک مقدار و پرگل سرخ دو مقدار را با هم ساییده، نیم درهم با شراب آمیخته و با آب بخورند. برای علاج هضم تباه خوب است و تجربه شده است» (۱۰، ۱۱).

گل محمدی از اعضای خانواده Rosaceae، زیره سیاه کرمانی و بذر شوید از خانواده چتریان Apiaceae و فلفل سیاه از خانواده Piperaceae هستند (۴).

این مفردات در منابع داروسازی سنتی (مانند جلد چهارم کتاب قانون ابن‌سینا یا کتاب مخزن الادویه)، دارای اثراتی متنوعی هستند که ازجمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- شبت (شوید): در درد معده‌ای که علتش خلط سودایی بادزااست، درد معده در اثر ورم شدید معده، معالجه ورم معده، درمان ورم سرد بلغمی معده و باد شکم در اثر خوراک بادزا کاربرد دارد.

- فلفل: در درمان سوءمزاج سرد و تر معده، علاج سوءمزاج معده که همراه ماده خلط باشد، درمان انسداد واقع در معده و درمان سوءمزاج معده که دارای خلط غلیظ باشد، کاربرد دارد.

- ورد احمر (گل محمدی): در درمان بیماری معده که ماده جمع شده و راه بیرون‌رفتن آن بسته شده باشد، درمان بیماری که دارای سوءمزاج از اشتها خوراک است و در جهت پاک‌سازی معده مؤثر است.

- کمون (زیره سیاه): در درمان بیماری که غذا طولانی‌مدت در معده مانده و خارج نشود، در خارج کردن غذاهای دیرهضم از معده، جهت رفع نفخ دستگاه گوارش، تسکین التهاب و ورم معده مؤثر است (۸، ۱۰، ۱۱).

همچنین خواصی نظیر آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب و ضدباکتری بودن نیز برای این چهار گیاه در منابع جدید گزارش شده است که همگی نشانگر اثربخشی آنها در درمان

سوءهاضمه است (۱۴-۱۲).

مواد و روش‌ها

گیاهان مورد استفاده

گیاهان مورد مطالعه از بازار گیاهان دارویی شیراز تهیه و توسط گیاه‌شناس بخش داروسازی سنتی دانشکده داروسازی شیراز شناسایی و کدگذاری شدند. فهرست این گیاهان در جدول ۱ ذکر شده است.

به منظور طراحی مطالعه حاضر و با توجه به دستور ذکر شده در فرمولاسیون کتاب قانون، شراب فرمولاسیون ذکر شده در منبع حذف و فراورده به صورت جامد و به صورت شکل دارویی قرص امروزی طراحی شد و برخی از آزمایش‌های کنترلی بر روی آن انجام گرفت.

جدول ۱. مشخصات گیاهان به کاررفته در مطالعه

نام فارسی	نام علمی	شماره شناسایی	قسمت مورد استفاده
زیره سیاه	<i>Bunium persicum</i> (Boiss.) B. Fedtsch.	PM 1328	میوه
فلفل سیاه	<i>Piper nigrum</i> L.	PM 1327	میوه
گل محمدی	<i>Rosa × damascena</i> Mill.	PM 1329	گل
شوید	<i>Anethum graveolens</i> L.	PM 1326	بذر

مطالعات خرده‌نگاری

برای انجام این مرحله، ابتدا از هریک از میوه‌های زیره سیاه و فلفل سیاه، بذر شوید و گل محمدی مقداری برداشته و به صورت جداگانه در هاون پودر و از الک با مش ۴۰ عبور داده شد. در ادامه ۵ گرم از هریک از پودرها در لوله آزمایش با ۵ میلی‌لیتر محلول کلرال هیدراته ۶۰ درصد مخلوط شد تا کلرال هیدراته بتواند باعث شفاف شدن نمونه و از بین رفتن نشاسته و روغن موجود در گیاه شود.

در مرحله بعد مقداری از محتویات هر لوله آزمایش، بر روی لام قرار داده و سپس در زیر میکروسکوپ نوری سه‌چشمی، مشاهده شد.

همچنین، هرکدام از پودرها به صورت مستقیم بر روی شیشه ساعت ریخته شد و با چند قطره آب مخلوط گردید و زیر میکروسکوپ مشاهده و عکس‌برداری شد.

تهیه فرمولاسیون قرص

برای این منظور ابتدا هریک از اجزای گیاهی به طور جداگانه در دستگاه آسیاب برقی پودر شدند و سپس پودر حاصله از الک با مش ۶۰ عبور داده شد. به منظور ارزیابی قابلیت پرس‌پذیری هریک از پودرهای حاصل از هر مفرده، هریک از پودرها، به صورت جداگانه در دستگاه قرص‌سازی تک‌سنه‌ای اروکا (ERWEKA) که مجهز به سنه تخت با قطر ۱۳ میلی‌متر بود،

پرس شدند. سپس با درصدهای متفاوت از مواد جانبی نیز مخلوط شدند و در دستگاه، تحت پرس مستقیم قرار گرفتند. با توجه به آنکه موادی نظیر آکاسیا و آویسل و PVP از رایج‌ترین پرکننده‌ها و چسباننده‌ها در ایجاد قرص هستند، در نتیجه از این ترکیبات به عنوان مواد جانبی در این مطالعه استفاده شد (۱۵). همچنین اساس مطالعه بر حداقل درصد قابل استفاده از مواد جانبی در تهیه قرص بود که در نتیجه آن، بتوان درصد بالاتری از مواد مفرده گیاهی را در هر قرص استفاده کرد.

همچنین، به منظور مقایسه و بهبود ویژگی قرص‌های حاصله، به جز روش پرس مستقیم، از روش گرانولاسیون مرطوب نیز در تهیه قرص استفاده شد. برای این منظور و براساس جدول ۲، پس از مخلوط شدن ترکیبات پودر گیاهی، محلول‌هایی از ترکیبات به هم چسباننده (binder) شامل آویسل، آکاسیا و پلی وینیل پیرولیدون (Poly vinyl Pyrrolidone, PVP) به مخلوط گیاهی افزوده و با کمک اسپاتول به هم زده شد به طوری که از یکنواختی پخش محلول در همه جای پودر اطمینان حاصل شود. با این روش، پودرها به هم چسبیدند و پودر به گرانول تبدیل شد. در ادامه گرانول‌های تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند تا خشک شوند. در ادامه نیز از گرانول‌های تهیه شده با کمک دستگاه قرص‌سازی، قرص تهیه شد.

ذکرشده در منابع، در تمامی قرص‌ها به‌طور ثابت و به‌ترتیب ۲: ۱: ۱ برای گل محمدی: زیره سیاه: فلفل سیاه: بذر شوید بود. اما درصد حضور مخلوط گیاهی با توجه به درصد موردنیاز از سایر اکسپاندها در قرص‌های مختلف، متفاوت در نظر گرفته شد (مطابق با جدول ۲).

پس از تهیه قرص‌ها به دو روش پرس مستقیم و گرانولاسیون مرطوب، تمامی قرص‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند و سپس تست‌های کنترلی بر روی آنها انجام شد. باید افزود که نسبت چهار ترکیب گیاهی با توجه به میزان

جدول ۲. فرمولاسیون‌های دارویی مورد ارزیابی با مواد جانبی مختلف (در مقیاس درصد)

شماره فرمولاسیون	گل محمدی	زیره سیاه	فلفل سیاه	بذر شوید	PVP	آکاسیا	آویسل	نوع فرمولاسیون
۱	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	پرس مستقیم
۲	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۰	
۳	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	
۴	۰	۰	۰	۱۰۰	۰	۰	۰	
۵	۲۸	۱۴	۱۴	۱۴	۱۰	۱۰	۱۰	
۶	۲۶	۱۳	۱۳	۱۳	۱۵	۱۰	۱۰	
۷	۲۶	۱۳	۱۳	۱۳	۱۰	۱۰	۱۵	
۸	۲۶	۱۳	۱۳	۱۳	۱۰	۱۵	۱۰	
۹	۳۰	۱۵	۱۵	۱۵	۰	۱۰	۲۰	
۱۰	۳۰	۱۵	۱۵	۱۵	۰	۲۰	۱۰	
۱۱	۳۰	۱۵	۱۵	۱۵	۱۰	۲۰	۰	
۱۲	۳۰	۱۵	۱۵	۱۵	۲۰	۱۰	۰	
۱۳	۳۰	۱۵	۱۵	۱۵	۰	۰	۲۵	
۱۴	۲۸	۱۴	۱۴	۱۴	۰	۰	۳۰	
۱۵	۲۴	۱۲	۱۲	۱۲	۰	۰	۴۰	
۱۶	۲۴	۱۲	۱۲	۱۲	۲۰	۲۰	۰	گرانولاسیون مرطوب
۱۷	۲۴	۱۲	۱۲	۱۲	۰	۳۰	۱۰	
۱۸	۲۴	۱۲	۱۲	۱۲	۳۰	۰	۱۰	
۱۹	۲۴	۱۲	۱۲	۱۲	۱۰	۱۰	۲۰	
۲۰	۲۴	۱۲	۱۲	۱۲	۱۰	۰	۳۰	
۲۱	۲۴	۱۲	۱۲	۱۲	۰	۱۰	۳۰	
۲۲	۲۴	۱۲	۱۲	۱۲	۰	۰	۴۰	
۲۳	۲۸	۱۴	۱۴	۱۴	۰	۰	۳۰	
۲۴	۳۲	۱۶	۱۶	۱۶	۰	۰	۲۰	
۲۵	۳۴	۱۷	۱۷	۱۷	۰	۰	۱۵	

روش فارماکوپه بریتانیا، ابتدا از هریک از فرمولاسیون‌های ۲۵ تا، ۵ قرص تهیه شد و سختی آنها با کمک دستگاه سختی‌سنج اروکا (ERWEKA) اندازه‌گیری گردید. فرمولاسیونی که سختی مناسب و بالاترین درصد از مواد

کنترل‌های ارزیابی قرص در ابتدا، به‌منظور انتخاب فرمولاسیون بهینه از بین ۲۵ فرمولاسیون موردآزمایش، تست سختی به‌عنوان تست تمایزدهنده مورد استفاده قرار گرفت. برای این کار و مطابق با

گیاهی را از بین فرمولاسیون‌های مختلف داشت، به‌عنوان فرمولاسیون بهینه انتخاب شد.

در ادامه، سایر تست‌ها نیز براساس فارماکوپه بریتانیا بر روی فرمولاسیون بهینه انجام شد (۱۶، ۱۷).

برای تعیین انحراف وزن، ۲۰ قرص از فرمولاسیون بهینه به‌صورت تصادفی انتخاب و به‌صورت جداگانه با استفاده از ترازو دیجیتال با حساسیت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شده و میانگین وزن قرص‌ها گزارش شد.

برای تعیین زمان متلاشی‌شدن، ۶ قرص به‌صورت تصادفی انتخاب و در دستگاه ۶ تایی اروکا در محیط بافر فسفات با PH ۶/۸±۰/۱ و دمای ۳۷±۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. دیسک‌های مخصوص دستگاه بر روی آنها قرار داده شد و زمان متلاشی‌شدن قرص‌ها یعنی زمانی که تمام قرص‌ها از الک موجود در کف لوله‌ها عبور کردند، ثبت شد.

اندازه‌گیری ضخامت نیز بر روی ۱۰ قرص توسط دستگاه سختی‌سنج انجام و میانگین داده‌ها گزارش شد. برای انجام تست فرسایش، ۲۰ قرص از فرمولاسیون منتخب نهایی به‌صورت تصادفی انتخاب و وزن کل آنها با ترازویی با حساسیت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شد. سپس به مدت ۴ دقیقه در دستگاه فرسایش‌سنج با سرعت ۲۵ دور در دقیقه قرار گرفتند. پس از این زمان، دستگاه متوقف و وزن قرص‌ها پس از غبارگیری، مجدداً با همان ترازو اندازه‌گیری و گزارش شد.

ارزیابی‌های فارماکوکینوزیک

به‌منظور شناسایی اجزای گیاهان مورد استفاده و همچنین استانداردسازی فرمولاسیون نهایی از روش‌های مختلف استفاده شد.

۱) کروماتوگرافی لایه نازک

در ابتدا اسانس‌گیری از گیاهان و مخلوط گیاهی به روش تقطیر با آب به‌وسیله دستگاه کلونجر انجام شد. مقدار مشخصی از هر پودر گیاه و نیز پودر مخلوط‌شده گیاهان، در بالن ریخته شد و مقدار ۵۰۰ میلی‌لیتر آب نیز به آن اضافه گردید و بالن به مدت ۴ ساعت بر روی شوف بالن مخصوص به خود قرار داده شد. در انتهای فرایند، میزان استحصال اسانس از مقدار مشخص پودر اندازه‌گیری شد و اسانس‌ها تا زمان

انجام آزمایش‌های بعدی در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در ادامه اسانس‌های به‌دست‌آمده، بعد از آگیری با سدیم سولفات و رقیق‌سازی با ان-هگزان، آماده کاشت بر روی پلیت کروماتوگرافی غشای نازک شدند (۲، ۱۸).

برای اجرای کروماتوگرافی غشای نازک (TLC) و به‌منظور تعیین بهترین سیستم حلال برای اسانس‌ها بر روی کاغذ TLC، سیستم حلال ترکیبی تولوئن: اتیل استات با نسبت ۲۰:۸۰ و ۱۰:۹۰ و ان-هگزان: اتیل استات با نسبت‌های ۳۰:۷۰ و ۲۰:۸۰ استفاده شد. پس از آن الگوی کروماتوگرام در زیر نور ماوراءبنفش (۲۵۴ و ۳۶۶ نانومتر) مشاهده گردید. در ادامه کاغذ TLC تحت تماس با معرف انیس آلدید و حرارت قرار داده شد و لکه‌های ظاهرشده حاصل از نمونه‌های مختلف با یکدیگر مقایسه شدند.

۲) کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی (GC/MS)

از این روش، جهت شناسایی ترکیبات موجود در نمونه‌های فرار استفاده می‌شود. دستگاه مورد استفاده در این قسمت، مدل ۷۸۹۰ ساخت شرکت آجیلنت (Agilent technology) آمریکا با آشکارساز از نوع طیف‌سنج جرمی و ستون موئینه HP-5MS (متیل فیل سیلیکون 30 mm 25 mm id) ساخت شرکت آجیلنت آمریکا بود. Injector دستگاه بر روی حالت Split با نسبت ۱/۱۰۰ تنظیم شد. نمونه پس از تزریق در اتاقک تزریق در دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و دمای ستون با افزایش ۵ درجه‌ای در هر دقیقه، از ۶۰ به ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید و سپس ۱۰ دقیقه در همان دما باقی ماند. میزان جریان گاز حامل هلیوم ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. همچنین دمای فضای بین GC و آشکارساز ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. پس از آگیری از اسانس‌ها با استفاده از سدیم سولفات، اسانس‌ها با استفاده از ان-هگزان به نسبت ۱:۵ رقیق و به‌صورت جداگانه به دستگاه تزریق شدند.

دستگاه طیف‌سنج جرمی مدل C۵۹۷۵ ساخت شرکت آجیلنت به‌عنوان شناساگر در حالت EI مورد استفاده قرار گرفت. ولتاژ به‌کاررفته ۷۰ eV و دمای بین سطحی آن، ۲۸۰

درجه سانتی گراد و محدوده جرمی آن m/z ۶۰۰-۳۰ تنظیم شد.

شناسایی نهایی ترکیبات از طریق اندازه گیری طیف جرمی آنها و مقایسه اندیس بازداری و اندیس کواتس آنها با مقالات مرتبط انجام گرفت که در قسمت یافته ها نشان داده شده است. برای محاسبه اندیس کواتس، آلکان نرمال به صورت هیدروکربن های خطی با ۱۰ تا ۱۸ اتم کربن در شرایط معینی به دستگاه GC/MS تزریق و قله حاصل از هر طیف رسم و KI ترکیبات محاسبه شد.

۳) استانداردسازی با کروماتوگرافی گازی متصل به آشکارساز یونیزاسیون شعله ای (GC/FID)

پس از تجزیه و شناسایی دقیق ترکیبات موجود در اسانس محصول توسط دستگاه GC/MS و آنالیز آنها، برای استانداردسازی محصول از دستگاه GC/FID مدل A7890 شرکت آجیلنت آمریکا استفاده شد. گاز نیتروژن با درصد خلوص ۹۹/۹۹۹ (درجه ۵) با جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل انتخاب گردید. در آشکارساز FID، از دو گاز هیدروژن و اکسیژن با نسبت ۱۰:۱ و حالت Split به صورت ۵۰:۱ استفاده شد. مقدار ۱ میکرو لیتر از نمونه از طریق inlet به دستگاه تزریق شد. دمای اتاقک تزریق ۲۷۰ درجه سانتی گراد تنظیم گردید. نوع ستون دستگاه HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۳۲۰ میکرو متر بود. جنس فاز ثابت از متیل فیل سیلیکون با قطر ۲۵ درصد میکرو متر بود. دمای ستون در ۶۰ درجه سانتی گراد تنظیم شده بود و نمونه به مدت ۲ دقیقه در این دما قرار می گرفت، سپس هر یک دقیقه ۶ درجه سانتی گراد دما افزایش یافت تا به ۲۵۰ درجه سانتی گراد رسید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در این دما قرار گرفت. همچنین دمای آشکارساز بر روی ۳۰۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد.

از ترانس-کاریوفیلین با درجه Analytical Standard محصول شرکت سیگما آلد ریچ (Sigma Aldrich) به عنوان استاندارد استفاده شد. غلظت های مختلف از ترانس-کاریوفیلین (۱۷۲۵، ۳۴۵۰، ۶۹۰۰، ۱۳۸۰۰ و ۲۷۶۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر) با استفاده از حل کردن در متانول

به وسیله رقت سازی سریالی تهیه گردید. از هر استاندارد ۳ تزریق انجام گرفت و منحنی استاندارد به وسیله میانگین تزریق ها رسم شد و صحت و دقت و حساسیت منحنی استاندارد نیز محاسبه گردید؛ برای نمونه اسانس محصول نیز، میانگین حداقل سه تزریق به عنوان غلظت نمونه در نظر گرفته شد.

برای تعیین میزان مارکر مورد نظر در نمونه فراورده، اسانس گرفته شده از فراورده (قرص نهایی) نیز به دستگاه تزریق شد و سطح زیر منحنی، تعیین مقدار گردید. جهت به دست آوردن میزان استحصال اسانس حاصل از قرص ها، تعداد ۵۰ قرص به منظور رسیدن به میزان مناسب اسانس انتخاب و وارد فرایند اسانس گیری شد.

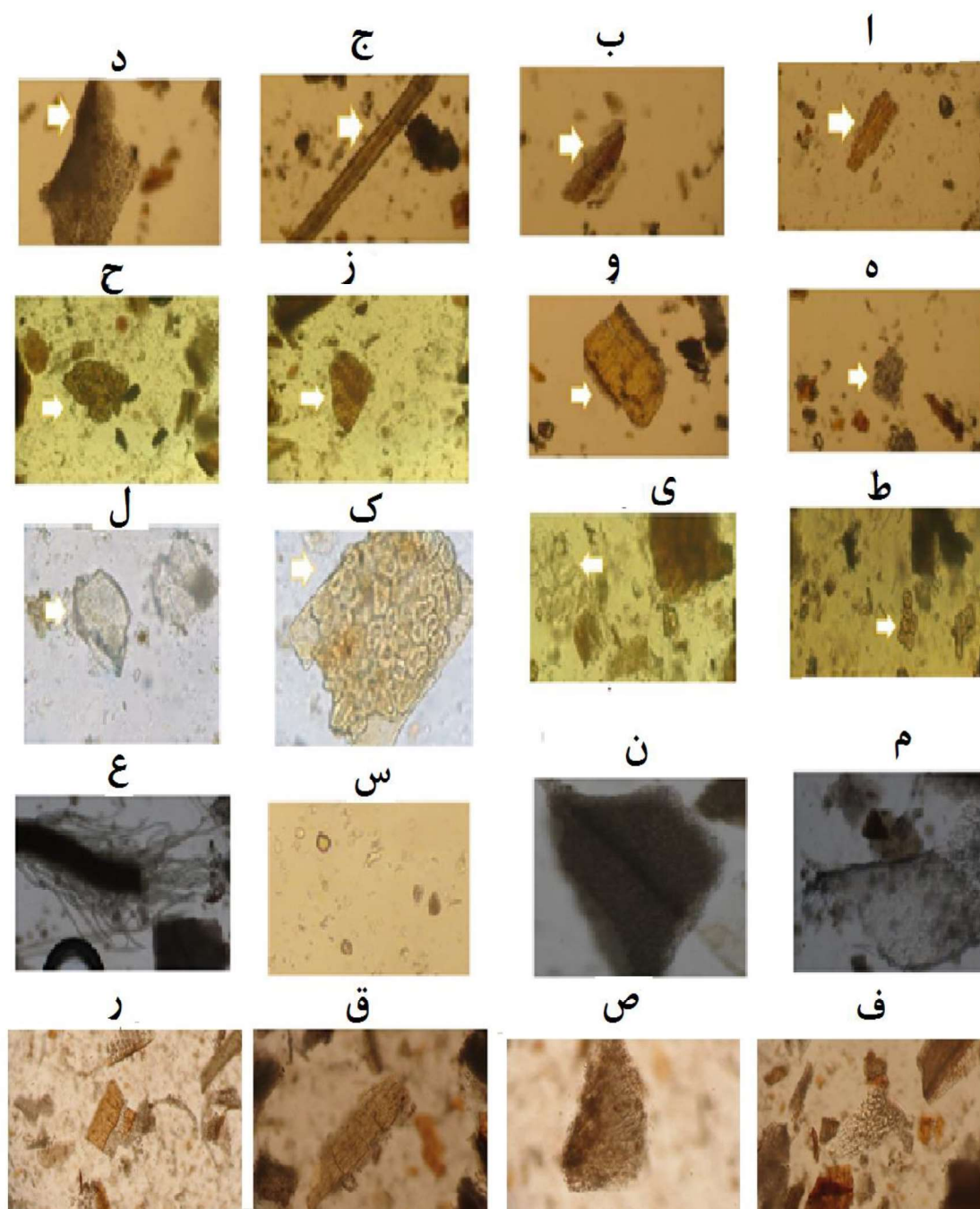
یافته ها

۱) خرده نگاری

نتایج خرده نگاری ترکیبات در شکل ۱ نشان داده شده است.

۲) ارزیابی فرمولاسیون های قرص های تهیه شده

پس از استفاده از اکسپان ها و روش های مختلف برای تهیه قرص از نسخه دارویی سنتی، هریک از ۲۵ فرمولاسیون ساخته شده، ابتدا از نظر سختی ارزیابی شدند تا در صورت مناسب بودن سختی و تشکیل قرصی مناسب، وارد سایر مراحل ارزیابی شوند. همان گونه که از جدول ۳ مشخص است، به طور کلی، میزان سختی قرص های تهیه شده از روش گرانولاسیون مرطوب، بالاتر از قرص های تهیه شده با روش پرس مستقیم بود. به علاوه، حضور آویسل در ایجاد سختی، نتایج بهتری را نسبت به دو پرکننده و چسباننده دیگر ایجاد کرد. میزان نهایی درصد اجزای جانبی در فرمولاسیون های بهینه شده ۴۰ درصد بود که با توجه به جدول ۳، اگر آویسل به عنوان تنها چسباننده در تهیه قرص ها استفاده می شد، میزان سختی مناسب را ایجاد می کرد. در نتیجه فرمولاسیون شماره ۲۲ به عنوان فرمولاسیون بهینه انتخاب شد که حاوی ۱۲ درصد زیره سیاه، ۱۲ درصد فلفل سیاه، ۱۲ درصد بذر شوید، ۲۴ درصد گل محمدی و ۴۰ درصد آویسل بود و به صورت گرانولاسیون مرطوب تهیه شده بود.



شکل ۱. خرده‌نگاری:

زیره سیاه [با استفاده از کلرال هیدراته]: الف) اندوکارپ؛ ب) اپیکارپ؛ ج) اسکلتیوید در مزوکارپ؛ د) سلول‌های داخلی میوه به همراه مجرا.
 زیره سیاه [با استفاده از آب]: ه) سلول‌های داخلی میوه به همراه مجرا؛ و) اندوکارپ.
 فلفل سیاه [با استفاده از کلرال هیدراته]: ز) آگزوکارپ؛ ح) اسکلتیوید اندوکارپ؛ ط) سلول‌های سنگی؛ ی) سلول‌های حفره‌دار مزوکارپ.
 فلفل سیاه [با استفاده از آب]: ک) آگزوکارپ؛ ل) نشاسته.
 گل محمدی [با استفاده از کلرال هیدراته]: م) بافت کاسبرگ؛ ن) بافت گلبرگ؛ س) دانه گرده سه‌وجهی؛ ع) مادگی گیاه.
 بذر شوید [با استفاده از کلرال هیدراته و آب]: ف) بافت اندوکارپ؛ ص) بافت اندوسپرم؛ ق) مزوکارپ؛ ر) آگزوکارپ با سلول‌های پارکت‌مانند.

جدول ۳. سختی فرمولاسیون‌های مختلف برای بهینه‌سازی فرمولاسیون نهایی

شماره فرمولاسیون	میزان سختی	نوع فرمولاسیون
۱	کم	پرس مستقیم
۲	عدم تشکیل قرص	
۳	عدم تشکیل قرص	
۴	عدم تشکیل قرص	
۵	عدم تشکیل قرص	
۶	عدم تشکیل قرص	
۷	کم	
۸	کم	
۹	کم	
۱۰	عدم تشکیل قرص	
۱۱	عدم تشکیل قرص	
۱۲	عدم تشکیل قرص	
۱۳	کم	
۱۴	کم	
۱۵	متوسط	
۱۶	عدم تشکیل قرص	گرانولاسیون مرطوب
۱۷	عدم تشکیل قرص	
۱۸	عدم تشکیل قرص	
۱۹	متوسط	
۲۰	متوسط	
۲۱	متوسط	
۲۲	مطلوب	
۲۳	متوسط	
۲۴	متوسط	
۲۵	کم	

نتایج ارزیابی قرص‌های حاصل از فرمولاسیون نهایی

درصد محاسبه گردید. زمان متلاشی‌شدن قرص‌های فرمولاسیون نهایی کمتر از ۲۲ دقیقه بود. میزان ضخامت اندازه‌گیری‌شده برای ۱۰ قرص برابر با $6/7 \pm 0/1$ میلی‌متر محاسبه شد. میزان فرسایش قرص‌ها نیز کمتر از ۱ درصد بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، فرمولاسیون شماره ۲۲،

میانگین سختی ۱۰ قرص از فرمولاسیون بهینه نهایی (فرمولاسیون شماره ۲۲) $12/5 \pm 0/4$ به‌دست آمد. میانگین وزنی به‌دست‌آمده برای ۲۰ قرص معادل $1166/2 \pm 3/5$ میلی‌گرم تعیین شد. همچنین درصد تغییرات وزنی کمتر از ۱

ویژگی‌های مناسب یک قرص را از نظر فرسایش و تغییرات وزن و زمان ازهم‌متلاشی‌شدن داراست.

۳) نتایج ارزیابی‌های فارماکونوزیک

الف) بازده اسانس‌گیری و کروماتوگرافی لایه نازک

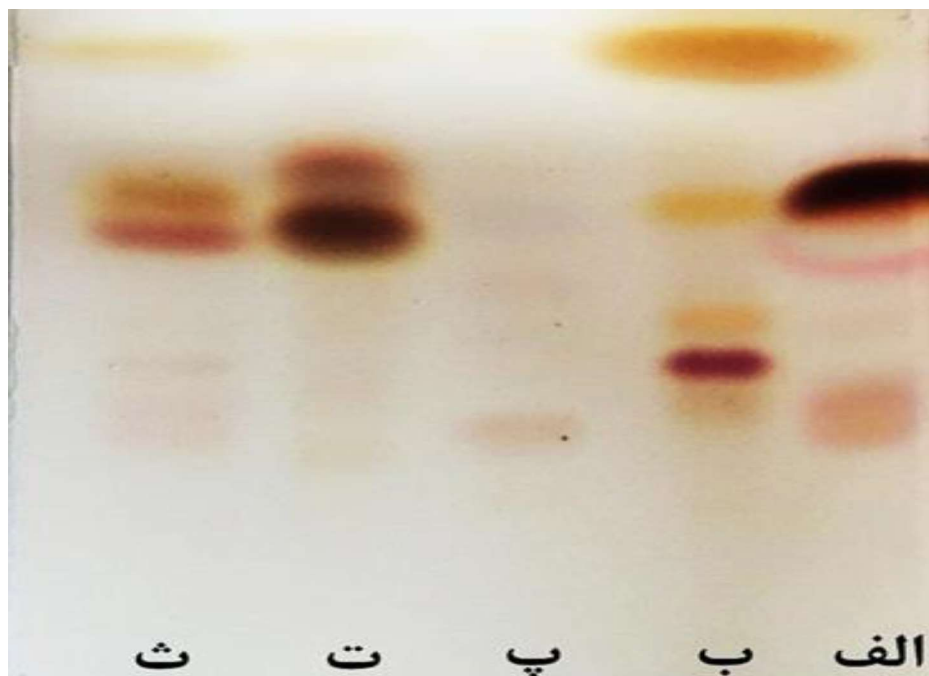
همان‌گونه که در قسمت روش کار ذکر شد، استخراج اسانس با استفاده از روش تقطیر با آب و توسط دستگاه

کلونجر به مدت ۴ ساعت انجام شد و بازده اسانس‌گیری محاسبه گردید که در جدول ۴ نشان داده شده است.

بهترین سیستم حلال برای کروماتوگرافی لایه نازک ان-هگزان: اتیل استات با نسبت ۲۰:۸۰ بود. الگوی کروماتوگرام حاصل از اسانس‌ها مطابق شکل ۲ می‌باشد.

جدول ۴. بازده اسانس‌گیری از نمونه‌های متفاوت

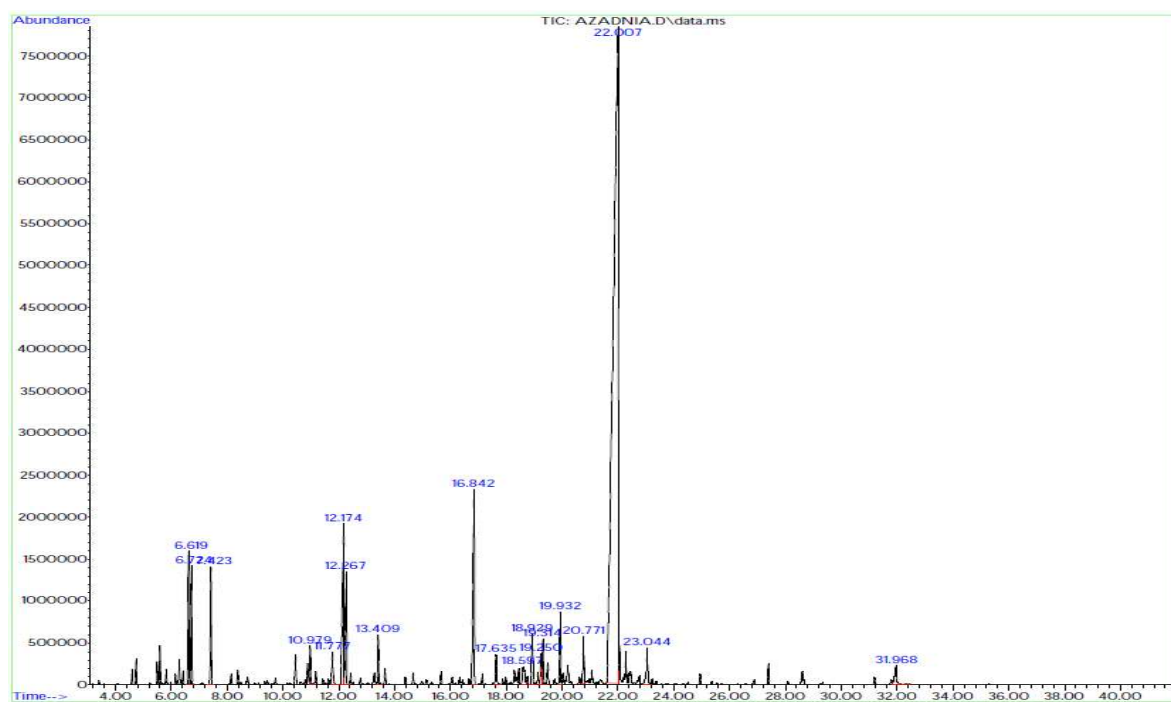
نام نمونه	وزن نمونه (گرم)	میزان استحصال (میلی‌لیتر)	راندمان (درصد)
گل محمدی	۵۰	۰/۱	۰/۲
فلفل سیاه	۵۰	۰/۵	۱
بذر شوید	۵۰	۱/۵	۳
زیره سیاه	۵۰	۱/۵	۳
مخلوط نهایی	۱۰۰	۳	۳



شکل ۲. الگوی کروماتوگرافی لایه نازک مرتبط با اسانس حاصل از محصول نهایی در مقابل اسانس مستخرج از هرکدام از اجزا: الف) بذر شوید؛ ب) فلفل سیاه؛ پ) گل محمدی؛ ت) زیره سیاه؛ ث) محصول نهایی.

ب) آنالیز نمونه‌های اسانس توسط دستگاه GC/MS

پس از تزریق نمونه حاصل از فرمولاسیون نهایی به دستگاه GC/MS، نتایج مطابق با شکل ۳ به دست آمد:



شکل ۳. طیف نمونه اسانس فرمولاسیون نهایی توسط دستگاه GC/MS

شدند (شکل ۴).

منحنی کالیبراسیون حاصل از ماده استاندارد ترانس-کاریوفیلین نیز رسم شد که صحت $96/2 \pm 4/3$ ، دقت بین روز $98/1 \pm 2/7$ ، دقت درون روز $99/3 \pm 1/2$ را نشان داد. همچنین LOD و LOQ نیز به ترتیب برابر با $0/06$ و $0/18$ به دست آمد.

با توجه به داده‌های حاصل از منحنی استاندارد، میزان ترانس-کاریوفیلین در نمونه قرص محاسبه شد. در مجموع به ازای ۵۰ قرص (میزان کلی ۵۸۳۰۰ میلی گرم قرص که حاوی ۳۴۹۸۰ میلی گرم پودر مخلوط گیاهی بوده است) بازده اسانس‌گیری برابر با $1/8$ درصد به دست آمد که می‌توان دریافت در هر قرص که حاوی ۶۰ درصد پودر گیاهی است، درصد اسانس آن برابر با $0/13$ است. در نتیجه، با در دست داشتن این میزان اسانس حاصل از یک قرص، ترانس-کاریوفیلین موجود در هر قرص به مقدار $128/4 \pm 9/34$ میکروگرم محاسبه شد.

پس از بررسی طیف حاصل و مقایسه اندیس بازداری و اندیس کوآتس آنها منابع (که در جدول ۵ ذکر شده‌اند)، در صورتی که اختلاف اندیس کوآتس محاسبه شده برای ترکیب و اندیس کوآتس ذکر شده در منبع، کمتر از ± 5 واحد باشد، در آن صورت شناسایی انجام می‌شود. در جدول ۵ هریک از ترکیبات موجود در نمونه‌های اسانس به همراه اندیس کوآتس، منبع مربوطه و نوع ستون ذکر شده در منبع ذکر شده است.

ج) مقدار ترانس-کاریوفیلین در فرمولاسیون نهایی با

روش GC/FID

با توجه به داده‌های حاصل از GC/MS، یکی از ترکیبات اصلی فرآور موجود در اسانس فرمولاسیون نهایی ترانس-کاریوفیلین بود. پس از تزریق اسانس حاصل از نمونه و استاندارد کاریوفیلین با برنامه دمایی یکسان، از انطباق دو پیک و یکسان بودن محل ظهور آنها در دو طیف (زمان خروج از سیستم) اطمینان حاصل شد و دو طیف با یکدیگر تطابق داده

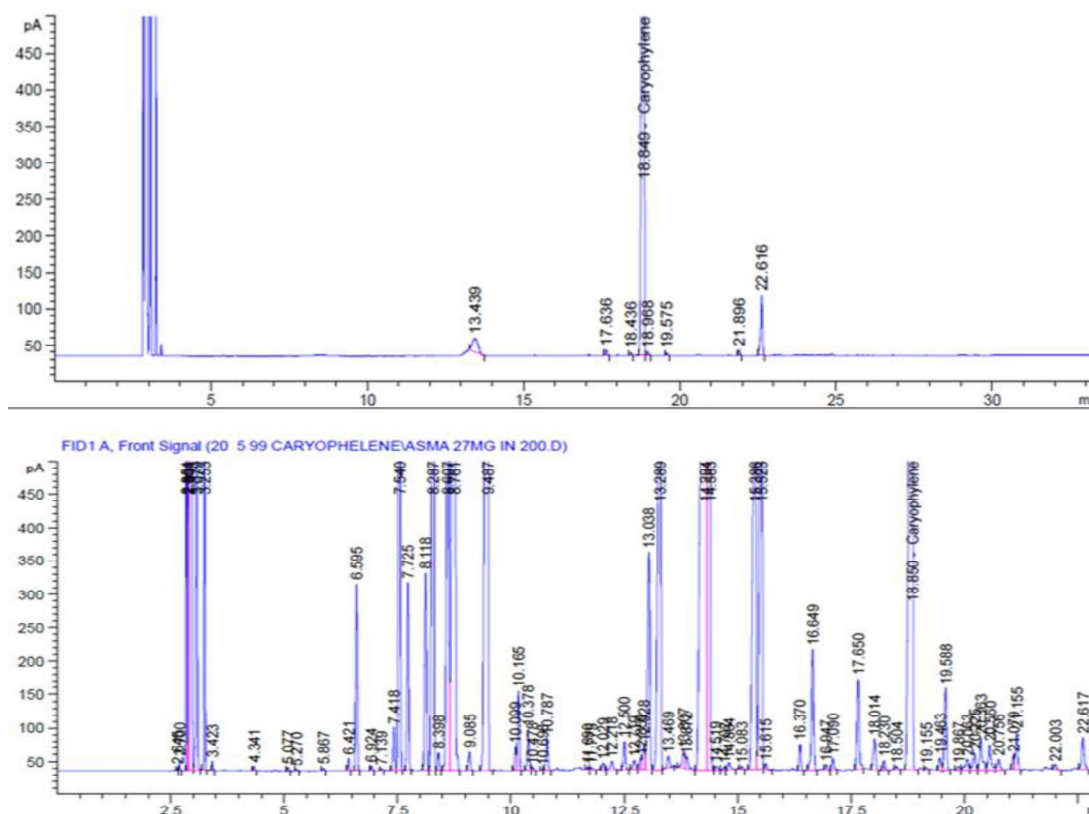
جدول ۵. تجزيه و آناليز تركيبات اسانس حاضر در فراورده قرص خوراكي

N.	Component	Area (%)	Retention Time	KI	KI _{ref}	Reference
1	O-Cymene	2.31	6.619	1025.517	1027	(19)
2	DL-Limonene	2.18	6.724	1029.737	1031	(20)
3	γ -Terpinene	2.04	7.423	1057.826	1056	(21)
4	Dihydrocarvone	0.77	10.979	1200.692	1198	(22)
5	β -Citronellol	0.93	11.777	1231.391	1228	(20)
6	Carvone	2.74	12.267	1250.240	1248	(23)
7	M-Thymol	1.04	13.409	1294.172	1292	(21)
8	Caryophyllene	5.6	16.842	1414.322	1418	(20)
9	Humulene	0.81	17.635	1430.974	1432	(24)
10	l-Zingiberene	0.8	18.597	1502.352	1500	(25)
11	β -Bisabolene	1.15	18.929	1516.296	1509	(26)
12	δ -Cadinene	1.01	19.314	1532.465	1528	(27)
13	Elemol	1.61	19.932	1558.421	1562	(28)
14	Epoxy caryophyll en	1.06	20.771	1593.658	1593	(29)
15	Dillapiole	68.16	22.007	1647.430	1644	(30)
16	α -Bisabolol	1.16	23.04	1694.631	1688	(31)
Arylpropionic		68.16				
Monoterpene		12.01				
Sesquiterpene		13.2				
Identification		93.37				

بحث و نتیجه گیری

سوءهاضمه شامل مجموعه‌ای از علائم در ناحیه اپی‌گاستریک بوده که اغلب به صورت ناراحتی و درد در ناحیه فوقانی شکم ظاهر می‌شود. برای درمان این بیماری چندین روش دارویی و غیردارویی پیشنهاد شده است، اما اکثر آنها نمی‌توانند بیماری را به طور کامل درمان کنند و صرفاً به بهبود علائم بیماری کمک می‌کنند (۵، ۹، ۳۰). از جمله روش‌های دارویی، استفاده از داروهای گیاهی است. فراورده‌های گیاهی دارویی سنتی از گذشته تا به حال با استقبال زیادی روبه‌رو بوده و در سال‌های اخیر نیز تمایل به مصرف داروهای گیاهی سنتی افزایش یافته است. گیاهان دارویی تنوع زیادی داشته که با مطالعات دقیق می‌توان به مواد مؤثره و اثربخش آنها دست

یافت و از این ترکیبات در درمان بسیاری از بیماری‌ها بهره برد. در نتیجه شناسایی صحیح اجزای تشکیل‌دهنده گیاه اهمیت بسیار زیادی خواهد داشت. داروهای گیاهی زیادی در سوءهاضمه کاربرد دارند. اغلب این داروها با مطالعه متون مختلف عملی قدیمی یافت شده و میزان اثرگذاری آنها با انجام آزمایش‌های مختلف مشخص شده است. در این مطالعه، شکل دارویی قرص موردنظر مطابق با آنچه در متون طب سنتی ذکر شده بود، به منظور درمان سوءهاضمه و با نسبت ذکر شده و با اندکی تغییر تهیه شد و سپس از جهات متعددی مورد ارزیابی فیتوشیمیایی قرار گرفت. این شکل دارویی در کتاب قانون ابن‌سینا از متون طب سنتی ایران از ۴ گیاه پایه تشکیل شده است که شامل زیره سیاه، گل محمدی، فلفل سیاه و بذر شوید



شکل ۴. مقایسه زمان ظهور ترانس-کاریوفیلن استاندارد و همان مارکر در اسانس محصول

است که اثر حفاظتی بر مخاط معده و در نتیجه اثر ضد زخم معده دارد (۳۵، ۳۶).

- فلفل سیاه حاوی پپیرین بوده که فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و نقش محافظتی قوی آن در برابر بیماری‌های اکسیداتیو، و اثرات ضدقارچی، ضدویروس، ضدباکتریایی آن، مربوط به مونوترپن‌های غلیظ موجود در آن است و در درمان بیماری‌های روده‌ای باکتریایی مؤثر است. همچنین اثرات بالینی این گیاه در درمان نفخ معده، زخم معده، سوءهاضمه و ... نیز گزارش شده است (۱۳، ۳۷، ۳۸).
- گل محمدی حاوی آنتی‌اکسیدان‌های فنولی بوده که خواص باکتریواستاتیک، درمان‌کننده صفرا، ضداسپاسم، معطر درمانی برای درمان بیماری‌های قلبی و آرامش‌بخش دارد که این موارد شامل مشاهدات امروزی و باور عامه است. همچنین اسانس این گیاه حاوی اوژنول، ژرانیول، بتا سیترونلول و فیل اتیل الکل بوده که اثرات ضداسپاسمی در دردهای گوارشی دارد (۳۹).

است. این مفردات در منابع داروسازی سنتی (مانند جلد چهارم کتاب قانون ابن سینا یا کتاب مخزن الادویه)، دارای اثرات متنوعی هستند که در ابتدای بحث به آنها اشاره شد (۲، ۴، ۸، ۱۱).

همچنین، در طب امروزی نیز خصوصیات فارماکولوژیکی و بالینی مشابهی مورد ارزیابی قرار گرفته و گزارش شده است که در ادامه به برخی از آنها اشاره شده است:

- زیره سیاه حاوی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی طبیعی، ضدالتهاب و ضد میکروب است (۳۲). همچنین اثربخشی این ترکیب در درمان درد اپی‌گاستریک و سایر علائم سوءهاضمه مانند سوزش سر معده، درد معده و ... در مطالعات بالینی نیز گزارش شده است (۱۲، ۳۳، ۳۴).
- بذر شوید شامل دی‌کارون و لیمونین بوده که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد درد، ضدالتهاب، ضد میکروبی، ضدقارچی است و همچنین دارای ترکیبات فلاونوئیدی

در این مطالعه طبق نسخه‌ای که در جلد چهارم کتاب *قانون* ابن‌سینا آمده است، فراورده ذکر شده در مسیر فرمولاسیون جامد قرص خوراکی قرار گرفت. در تهیه فرمولاسیون گیاهی پیش از موارد مربوط به طراحی بخش فرمولاسیون، مسئله مهم، شناسایی دقیق جنس و گونه گیاهی است. برای شناسایی، در مرحله اول باید به این نتیجه رسید که آیا ترکیب یا مفرده‌ای که در متون داروسازی سنتی به ذکر خصوصیات گیاه‌شناسی آن پرداخته شده با آنچه امروزه در عطاری‌ها و مراکز فروش گیاهان دارویی وجود دارد یکسان است یا خیر؟ در مرحله دوم، شناسایی با روش‌های خرده‌نگاری مدنظر قرار گیرد و در مراحل بعد، مطالعات فارماکوکونوزیک و روش‌های پیشرفته دستگاهی به شناسایی و مقایسه اجزا و شرایط فرمولاسیون کمک کند. با استفاده از روش خرده‌نگاری می‌توان احتمال ایجاد تقلب در یک فراورده گیاهی سنتی را از طریق شناسایی اجزای شیمیایی و حضور گیاهان غیرمرتبط تا حد قابل قبولی مشخص کرد.

در این مطالعه، شناسایی اجزای موجود در این داروی مُرکَّب طب سنتی انجام شد. اجزای زیره سیاه، گل محمدی، بذر شوید و فلفل سیاه توسط روش خرده‌نگاری ارزیابی گردید. اسلایدهای تهیه‌شده از اجزای پایه، وجود اگزوکارپ و اندوکارپ، بافت اندوکارپ، بافت اندوسپرم، بافت گلبرگ، دانه گرده سه‌وجهی، مزوکارپ و ... را ثابت کرد. علاوه بر خرده‌نگاری، در این مطالعه از روش‌های دستگاهی شناسایی و یا فینگرپرینت نیز برای شناسایی نمونه‌ها استفاده شد. طیف GC/MS به عنوان یک فینگرپرینت در شناسایی اجزای گیاهی و همچنین اجزای اصلی قرص کمک کرده است. همچنین در این مطالعه از فراورده نهایی، اسانس‌گیری انجام شد و طیف GC/MS تهیه گردید. طیف ترکیبات اسانس فراورده نهایی مورد استفاده، ۶۸/۱۶ درصد دیل‌آپیول و ۵/۶ درصد کاریوفیلین به عنوان ماده اصلی داشتند. در نتیجه، کاریوفیلین موجود در فراورده نهایی با تکنیک کروماتوگرافی گازی تعیین مقدار شد. کروماتوگرافی غشای نازک می‌تواند به عنوان روشی تشخیصی برای ترکیبات عمده موجود در یک عصاره یا اسانس و تعیین طیف ترکیبات مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه حاضر

کروماتوگرام غشای لایه نازک با هدف تهیه یک پروفایل از ترکیبات اصلی فراورده نهایی انجام شد.

در روش‌های دستگاهی متفاوت، استانداردسازی فراورده‌های گیاهی و سنتی فاکتورهای متعددی برای تکرارپذیر شدن آن روش دستگاهی در نظر گرفته می‌شود. در تمام روش‌ها یک ماده شاخص (این ماده یا از نظر فارماکولوژیکی مسئول تأثیرگذاری فراورده است یا به عنوان ترکیب شاخص دیده شده) در روند استانداردسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابراین در ابتدا بعد از تعیین غلظت استوک اولیه، غلظت‌های متعدد از آن محلول تهیه و یک منحنی استاندارد از غلظت‌ها ترسیم می‌شود. در این مطالعه، شاخص‌های مرتبط با معتبرسازی کالبراسیون همگی در محدوده مناسب قرار داشتند.

همچنین، با استفاده از تکنیک GC-FID، که یک روش ساده و سریع است، امکان شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات اصلی حاضر در اسانس فراورده سنتی فراهم شد. روش GC-FID می‌تواند به عنوان یک روش ساده برای تعیین مقدار ترکیب یا ترکیبات اصلی موجود در اسانس یا فراورده طبیعی طب سنتی استفاده شود.

با توجه به داده‌های حاصل از این مطالعه و نیز اهمیت استفاده از فراورده‌های گیاهی در مقیاس صنعتی و با عنایت به استانداردسازی و کنترل فراورده ارائه شده، قرص مذکور در این تحقیق می‌تواند به عنوان گزینه‌ای جهت ارزیابی وارد فازهای بعدی مطالعات شود. اگرچه با توجه به محدودیت‌های موجود در طرح، می‌توان پیشنهادهایی را برای ادامه این مطالعه نیز ارائه داد؛ به طور مثال، می‌توان از مواد شاخص دیگری جهت استانداردسازی ترکیبات مفرده استفاده کرد. همچنین، می‌توان فرمولاسیون قرص را در جهت افزایش درصد جزء گیاهی بهینه‌سازی کرد و یا شکل دارویی دیگر نظیر کپسول که می‌تواند درصد بالاتری از جزء گیاهی را همراه داشته باشد مورد مطالعه قرار داد.

تضاد منافع

در این مقاله تضاد منافی برای گزارش وجود ندارد.

References:

1. Gwee KA, Holtmann G, Tack J, Suzuki H, Liu J, Xiao Y, *et al.* Herbal medicines in functional dyspepsia—Untapped opportunities not without risks. *Neurogastroenterology & Motility*. 2021;33(2):e14044.
2. Azimi M, Zahedi MJ. Persian herbal medicine in functional dyspepsia: A systematic review. *Current Drug Discovery Technologies*. 2021;18(2):272-81.
3. Ho L, Zhong CC, Wong CH, Wu JC, Chan KK, Wu IX, *et al.* Herbal medicine for functional dyspepsia: Network meta-analysis of placebo-controlled randomised trials. *Journal of Ethnopharmacology*. 2022;283:114665.
4. Babaeian M, Naseri M, Kamalinejad M, Ghaffari F, Emadi F, Feizi A, *et al.* Herbal remedies for functional dyspepsia and traditional Iranian medicine perspective. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2015;17(11).
5. Masuy I, Van Oudenhove L, Tack J. Treatment options for functional dyspepsia. *Alimentary Pharmacology Therapeutics*. 2019;49(9):1134-72.
6. Camilleri M, Stanghellini V. Current management strategies and emerging treatments for functional dyspepsia. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2013;10(3):187-94.
7. Tomita T, Oshima T, Miwa H. New approaches to diagnosis and treatment of functional dyspepsia. *Current Gastroenterology Reports*. 2018;20:1-8.
8. Aqili Alavi Shirazi SMH. *Makhzan al-Adwiya*. Tehran: Research Institute for Islamic & Complementary Medicine, Iran University of Medical Sciences; 2011. [In Persian].
9. Pasalar M, Nimrouzi M, Choopani R, Mosaddegh M, Kamalinejad M, Mohagheghzadeh A, *et al.* Functional dyspepsia: A new approach from traditional Persian medicine. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2016;6(2):165.
10. Avicenna. *Al-Qanun fi al-Tibb* (The Canon of Medicine). Beirut: Alaalami Lil-Matboat Institute; 2005. [In Arabic].
11. Avicenna. *Al-Qanun fi al-Tibb* (The Canon of Medicine). Translated by Sharafkandi A. Tehran: Soroush Publications; 2015. [In Persian].
12. Majidi Z, Bina F, Kahkeshani N, Rahimi R. Bunium persicum: A review of ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities. *Traditional and Integrative Medicine*. 2020.
13. Takooree H, Aumeeruddy MZ, Rengasamy KR, Venugopala KN, Jeewon R, Zengin G, *et al.* A systematic review on black pepper (*Piper nigrum* L.): From folk uses to pharmacological applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019;59(sup1):S210-S43.
14. Li YX, Zhang C, Pan S, Chen L, Liu M, Yang K, *et al.* Analysis of chemical components and biological activities of essential oils from black and white pepper (*Piper nigrum* L.) in five provinces of southern China. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie (LWT)*. 2020;117:108644.
15. Rowe RC, Sheskey P, Quinn M. Handbook of pharmaceutical excipients: Libros Digitales-Pharmaceutical Press; 2009.
16. Ahmed S, Islam S, Ullah B, Biswas SK, Azad AS, Hossain S. A review article on pharmaceutical analysis of pharmaceutical industry according to pharmacopoeias. *Oriental Journal of Chemistry*. 2020;36(1):1-10.
17. Pharmacopoeia B. British Pharmacopoeia. London: The Stationery Office; 2009.
18. Karimkhani MM, Nasrollahzadeh M, Maham M, Jamshidi A, Kharazmi MS, Dehnad D, *et al.* Extraction and purification of α -pinene; A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;1-26.
19. Lucero ME, Fredrickson EL, Estell RE, Morrison AA, Richman D. Volatile composition of *Gutierrezia sarothrae* (broom snakeweed) as determined by steam distillation and solid phase microextraction. *Journal of Essential Oil Research*. 2006;18(2):121-5.
20. Adams RP, Elizondo MSG, Elizondo MG, Slinkman E. DNA fingerprinting and terpenoid analysis of *Juniperus blancoi* var. *huehuentensis* (Cupressaceae), A new subalpine variety from Durango, Mexico. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2006;34(3):205-11.
21. Angioni A, Barra A, Coroneo V, Dessi S, Cabras P. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of agricultural food chemistry*. 2006;54(12):4364-70.
22. Zoghbi MdG, Andrade EH, Santos AS, Silva MHL, Maia JGS. Essential oils of *Lippia alba* (Mill.) NE Br growing wild in the Brazilian Amazon. *Flavour and Fragrance Journal*. 1998;13(1):47-8.
23. Merle H, Moron M, Blazquez MA, Boira H. Taxonomical contribution of essential oils in mandarins cultivars.

Biochemical Systematics and Ecology. 2004;32(5):491-7.

24. Marongiu B, Piras A, Pani F, Porcedda S, Ballero M. Extraction, separation and isolation of essential oils from natural matrices by supercritical CO₂. Flavour and Fragrance Journal. 2003;18(6):505-9.

25. Sabulal B, Dan M, Kurup R, Chandrika SP, George V. Phenylbutanoid-rich rhizome oil of *Zingiber neesatum* from Western Ghats, southern India. Flavour and Fragrance Journal. 2007;22(6):521-4.

26. Flamini G, Cioni P, Morelli I. Analysis of the essential oil of the aerial parts of *Viola etrusca* from Monte Labbro (South Tuscany, Italy) and in vivo analysis of flower volatiles using SPME. Flavour and Fragrance Journal. 2002;17(2):147-9.

27. Bortolomeazzi R, Berno P, Pizzale L, Conte L. Sesquiterpene, alkene, and alkane hydrocarbons in virgin olive oils of different varieties and geographical origins. Journal of Agricultural Food Chemistry. 2001;49(7):3278-83.

28. El-Ghorab AH, Fadel HM, El-Massry KF. The Egyptian *Eucalyptus camaldulensis* var. *brevirostris*: chemical compositions of the fruit volatile oil and antioxidant activity. Flavour and Fragrance Journal. 2002;17(4):306-12.

29. Baranauskiene R, Venskutonis PR, Viskelis P, Dambrauskiene E. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003;51(26):7751-8.

30. Darakeh SASS, Weisany W, Tahir NA-R, Schenk PM. Physiological and biochemical responses of black cumin to vermicompost and plant biostimulants: Arbuscular mycorrhizal and plant growth-promoting rhizobacteria. Industrial Crops and Products. 2022;188:115557.

31. Rout P, Rao Y, Sree A, Naik S. Composition of essential oil, concrete, absolute, wax and headspace volatiles of *Murraya paniculata* (Linn.) Jack flowers. Flavour and Fragrance Journal. 2007;22(5):352-7.

32. Sharififar F, Yassa N, Mozaffarian V. Bioactivity of major components from the seeds of *Bunium persicum* (Boiss.) Fedtch. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2010;23(3):300-4.

33. Hassanzad Azar H, Taami B, Aminzare M, Daneshamooz S. *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch: An overview on phytochemistry, therapeutic uses and its application in the food industry. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2018;8(10):150-8.

34. Mehrabadi MM, Zarshenas MM. A Concise Overview of Phytochemistry, Pharmacology and Clinical Aspects of Persian Cumin; *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch. Current Drug Discovery Technologies. 2021;18(4):485-91.

35. Nam H-H, Nan L, Choo B-K. Anti-inflammation and protective effects of *Anethum graveolens* L. (Dill seeds) on esophageal mucosa damages in reflux esophagitis-induced rats. Foods. 2021;10(10):2500.

36. Singletary KW. Dill: Potential Health Benefits. Nutrition Today. 2023;58(3):128-36.

37. Barkat MQ, Mahmood HK. Phytochemical and antioxidant screening of *Zingiber officinale*, *Piper nigrum*, *Rutag raveolans* and *Carum carvi* and their effect on gastrointestinal tract activity. Matrix Science Medica. 2018;2(01):09-13.

38. Ara SA, Akhlaq S, Haque M, Fazil M, Akram U, Ahmad B, et al. Ethnobotany, pharmacological application, phytochemistry and therapeutic potential of black pepper (*Piper nigrum* l.): An updated review. Indian Journal of Unani Medicine. 2023;16(1):35-46.

39. Mehraban MSA, Shirzad M, Ahmadian-Attari MM, Shakeri R, Kashani LMT, Tabarraei M, et al. Effect of rose oil on gastroesophageal reflux disease in comparison with omeprazole: A double-blind controlled trial. Complementary Therapies in Clinical Practice. 2021;43:101361.



Preparation, standardization and evaluation of a herbal tablet effective in dyspepsia based on Traditional Persian Medicine

Asma Azadnia^a, Mohammad Mehdi Zarshenas^{a,b}, Elahehnaz Parhizkar^{c*}

^aDepartment of Traditional Pharmacy, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

^bMedicinal Plants Processing Research Center (MPPRC), Shiraz University of Medical Sciences, Meymand, Iran

^cDepartment of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Abstract

Background and Purpose: The increasing prevalence of digestive disorders is one of the major problems of societies today. One of the most important of these diseases is dyspepsia, which is treated by various medicinal and non-medicinal methods. One of the methods of drug therapy is use of complementary medicine treatments and medicinal plants, extracts, essential oils and compounds extracted from plants. Among the specific medicinal forms mentioned in the traditional pharmaceuticals of Iran, an important compound drug is "maldigestion treatment" which indirectly refers to dyspepsia. This indigestion remedy includes *Piper nigrum* L., *Anethum graveolens* L., *Rosa × damascena* Mill. and *Bunium persicum* B. Fedtsch.

Materials and Methods: In this study, the formulation of tablets for treatment of dyspepsia was evaluated. Accordingly, the mentioned plants were dried, powdered and mixed. After microscopic characterization, essential oil was prepared. Other analyses such as chromatography, gas chromatography connected to a mass spectrometer and standardization with the help of gas chromatography connected to a flame ionization detector was performed.

Results: The main ingredients of four plants were 68.16% Dillapiol and 5.6% Caryophyllene. After preparation of the drug via optimization of different formulations, stability tests were performed. The optimized tablet showed proper characterizations such as acceptable friability (less than 1%), average weight variation (less than 1%), average disintegration time (less than 22 minutes), hardness about 12.5 ± 0.4 , and average thickness about 6.7 ± 0.1 mm.

Conclusion: In conclusion, the amount of Caryophyllene in each tablet formulation was measured to be about 128 micrograms according to the essential oil extraction efficiency of the mixture of all four plants and the amount determined by gas chromatography connected to the flame ionization detector.

Keywords: Dyspepsia, *Anethum graveolens*, *Piper nigrum*, *Rosa*

Corresponding Author: eparhizkar@sums.ac.ir