تأثير مستخلصات ريزومات نبات السعد ***Cyperus rotundus*** واوراق نبات الحلبة ***Trigonella foenum*** في حيوية الرؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية ***Echinococcus granulosus*** خارج الجسم الحي

نهى جبار عبد الركابي

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ،جامعة ذي قار

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة التي اجريت في شهر نيسان لعام 2012 في مختبرات كلية العلوم في الناصرية لمعرفة تأثير المستخلص المائي البارد لدرنات نبات السعد *Cyperus rotundus* وأوراق نبات الحلبة *Trigonella foenum* في حيوية الرويسات الأولية لطفيلي المشوكة الحبيبية *Echinococcus granulosus* في الزجاج *in vitro* اذ استخدم المستخلص المائي لكلا النباتين وبالتراكيز 30,20,10 ملغم / مليلتر . وأتضح من خلال الدراسة ان المستخلص المائي لدرنات نبات السعد *Cyperus rotundus* وأوراق نبات الحلبة *Trigonella foenum* . اثبتا قدرتهما في تقليل نسبة الحيوية وعند المقارنة بين التراكيز أتضح ان هناك فروق معنوية بين التراكيز الثلاثة المستخدمة وان التركيز العالي من المستخلص و لكلا النباتين كان أكثر قدرة في تقليل نسبة الحيوية حيث بلغت نسبة الحيوية عند الزمن 120 دقيقة 5.3% و2.1 % لكل من نبات اوراق الحلبة ودرنات نبات السعد على التوالي .

Effect of *Cyperus rotundus tuber* and *Trigonella foenum* leaves plant extracts on viability of Protoscolices of *Echinococcus granulosus In Vitro*

Nuha Jabbar Abed Al-Rikaby

Department of Biology ,College of Science , University of Thi-Qar,Iraq.

A**bstract**

The objective of the present study was to find out the effectiveness of the cold aqueous extracts to ***Cyperus rotundus*** and ***Trigonella foenum*** in the vitality of protoscolices of ***Echinococcus granulosus*** in vitro . The aqueous extract has been used for both plants with gradual concentrations (10, 20 and 30 mg/ml.).

It has been shown from the study that the aqueous extracts of ***Cyperus rotundus*** and ***Trigonella foenum*** had proved their ability to reduce proportion of the vitality, and when we compared between the concentrations became clear that there are significant differences between the three concentrations were used in this study and that the high concentration of the extract and for both two plants were having the best ability to reduce percentage of the vitality.

The percentage of the vitality has reached 5.3% and 2.1 % at 120 minutes for both ***Trigonella foenum*** and ***Cyperus rotundus*** respectively

المقدمة

داء الأكياس المائية Hydatid cyst هو أحد الإمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان ، (Torgerson and Budke,2003). وان مرض الأكياس العذرية معروف في الأقطار العربية بأسماء متعددة فهو داء الاكياس المائية Hydatid cyst disease ومرض الاكياس المائية أحادية الفجوة Unilocular hydatid cyst ومرض المشوكات الكيسي Cystic echinococcosis (Marvin *et al.* , 1997) .

ينتشر مرض الاكياس المائية بصورة خاصة في المناطق الريفية التي تكثر فيها المواشي وخاصة الاغنام والكلاب والاخير يساعد على اكتمال دورة حياة هذا الطفيلي الذي يحتاج فيها الى مضيف وسطي Intermediate host(الأغنام ،الماعز ،الجمال،الأبقار ، الخنازير،الخيل ،وحيوانات أخرى) ومضيف نهائي Final host (الكلاب، والذئاب ،والثعالب،وغيرها من حيوانات الفصيلة الكلبية)، (Jong,1999) .

يمكن أن تتواجد الأكياس العذرية في جسم الانسان لفترة طويلة دون ظهور أعراض مرضية تدل على الإصابة وذلك بسبب النمو البطيء للكيس وفي حالة تزايد أعداد الأكياس العذرية او كبر حجمها يؤدي ذلك إلى ظهور الإعراض منها ضيق في التنفس والآم بطنيه واضطرابات في الهضم وتشنجات عصبية (Cobb *et al.*2003).

يعد التداخل الجراحي من أفضل الطرائق العلاجية بالرغم من صعوبة إجرائه في بعض الحالات (Mentes *et al.*,2000) وبهذا اتجه الباحثين لدراسة النباتات واستخدامها في علاج الكثير من الأمراض الطفيلية لاحتوائها على مواد فعالة كثيرة دون أن يكون لها تأثيرات جانبية كبيرة (Al-Saddi *et al.*,1996).

تستخدم النباتات الطبية بصورة علمية لاعتبارها مصدرا آمنا لإنتاج العلاجات والعقاقير حيث بالإمكان استخدام النبات ككل أو أجزاءه مباشرة أو بعد استخلاص مادته الفعالة كالاستخلاص بالغلي Decoction او النقع بالماء البارد Infusion أو استخلاص العصارة Extraction of juice او الاستخلاص البارد Maceration وغيرها كالاستخلاص بالمذيبات (cheij,1984) .

ان النباتات الطبية تعد مصدرا مهما للعديد من المركبات الفعالة active compounds والتي هي الزيوت الطيارة volatile oils والكليكوسيدات glycosides والصابونينات saponin s و التينينات tannins والقلويدات alkaloids والراتنجات resins والستيرويدات sterols وتعزى الصفة الطبية لهذه النباتات لفعالية هذه المركبات (الكاتب ، 1988 ;Herwing and wolfgon,2001).

وتم في هذه الدراسة استخدام نبات السعد حيث إن لزيت نبات السعد *Cyperus rotundus* فعالية طاردة للديدان وخصوصا الديدان الشريطية كما يستعمل في حالات الإسهال و الزحار كما ان درناته وجذوره تعمل كمسكن analgesic ومضاد للبكتريا(Girgune *et al.*,1979 antibacterial) ومضاد للتشنج antispasmodic ومهدئ sedative وطارد للديدان vermifuge (Brown,1995) . ويستخدم لمعالجة الحمى fever وإمراض الجلد وفعال كمضاد للطفيليات (Uddin,2006).

إما بالنسبة لنبات الحلبة *Trigonella foenum* فقد استخدم سابقا كصبغه صفراء وان أوراقه تجفف وتستخدم كطارد للحشرات http://www.foodreference.com .

كما استخدم مستخلص الحلبة *Trigonella foenum* كمضاد لداء السكر ومرض السرطان ومضاد للجراثيم والطفيليات (Al-Habori and Raman, 2002) ومسكن ومثير للشهوة الجنسية ومطهر ومضاد للديدان وفي معالجه الجروح (Toppo *et al.*, 2009)

المواد وطرائق العمل

1-محلول الفوسفات الملحي Phosphate Buffer Saline (PBS)

حضر المحلول حسب طريقة (Collee *et al.*,1996)

2- محلـول كـرب رنجـر Krep's Ringer Solution حضـر حسـب طريقـة (Rotanno *et al*.,1974)

3- صبغة الايوسين المائيـة حضرت بإذابـة 0.1غم من الصبغة في 100 مليليتر من الماء المقطر ورج المحلول جيدا (Smyth and Barrett,1980) .

4- مصدر المادة النباتية واستخلاصها :

تم الحصـول علـى درنـات نبـات السعد *Cyperus rotundu s* وأوراق نبـات الحلبـة *Trigonella foenum* من الأسواق المحلية لمدينة الناصرية وحضر المستخلص المائي البارد لكلا النباتين باعتماد طريقة (Harbone, 1984) حيث أخذت 50 غم من مسحوق النباتين كلا على حدا ووضعت في دورق سعته 1000مل وأضيف لها 500مل ماء مقطر ثم تم خلط المحتويات بواسطة الرجاج المغناطيسي magnetic stirrer لمدة ربع ساعة بعدها ترك يمتزج لمدة 24 ساعة ثم رشح بوساطة طبقتين من قماش التول حيث اخذ الراشح وأهمل الراسب ووضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000دورة في الدقيقة لمدة 15دقيقة للحصول على محلول رائق ثم ترك المحلول على منضدة في المختبر ليتبخر ماؤه والحصول على المادة الجافة ثم حضرت التراكيز التالية من كلا النباتين 30,20,10 ملغم / مليليتر وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال (الربيعي ، 1999).

5- مصدر الأكياس العذرية وطريقة عزلها

استخدمت في الدراسة الحالية أكياس مائية من أكباد أغنام مخمجة بصورة طبيعية تم الحصول عليها من احد القصابين في الإدارة المحلية في مدينه الناصرية ووضع الكبد الحاوي على الأكياس المائية في أطباق بلاستيكية معقمه وغسلت عدة مرات باستخدام محلول (PBS) phosphate buffer solution وعقم السطح الخارجي للكبد باستخدام قطعه مبللة بمحلول الكحول الاثيلي 70% ثم سحب سائل الكيس الحاوي على الرويسات الأولية باستخدام محقنه جمع السائل في دورق معقم لاستخدامه في تحضير الوسط الحافظ المكون من السائل الكيسي +محلول كرب رنجر بنسبة 4:1 وبعدها فتح الكيس بالمقص وأخذت الطبقة المولدة الحاوية على عدد اكبر من الرؤيسات الأولية وقطعت إلى قطع صغيرة وغسلت بمحلول كرب –رنجر الناتج من الغسل في مصفاة معقمة تسمح بمرور الرؤيسات الاولية وترك الراشح لعدة دقائق لحين ترسب الرؤيسات وأزيل الراشح ونقل الراسب الحاوي على الرؤيسات الأولية الى الوسط الحافظ .(Smyth,1985)

6- عملية التهيئة وعد الرؤيسات الأولية

تمت عملية التهيئة بأخذ الرؤيسات الأولية الموجودة في الوسط الحافظ بعد وضعها في أنابيب اختبار مدرجة وترسيبها بجهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة وبسرعة 3000 دورة/ دقيقة تم التخلص من الراشح وأعيدت عملية غسل الرؤيسات بمحلول PBSورجت الأنابيب جيدا ووضعت مرة أخرى في جهاز الطرد المركزي بالمدة والسرعة نفسيهما والتخلص من الراشح وأعيدت عملية الغسل مرتين بالطريقة نفسها .

وحسبت حيوية الرؤيسات وذلك بسحب 10 مايكروليتر بواسطة الماصة الدقيقة Micropipetteمن المحلول بعد رجه جيدا ووضعت على شريحة زجاجية وأضيف إليها المقدار نفسه من صبغة الايوسين المائية بتركيز 0.1% لغرض معرفة حيوية الرؤيسات الأولية الحية بعد تلونها باللون الأخضر البراق وباللون الأحمر في حالة هلاكها نتيجة لنفاذ صبغة الايوسين عبر جدار الرؤيس (Landa-Laracia *et al.*,1984) وحسبت النسبة المئوية لحيوية الرؤيسات الأولية بقسمة عدد الرؤيسات الحية على عدد الرؤيسات الكلية *100 . استخدمت في هذه الدراسة رؤيسات أولية ذات حيوية 96% تقريبا . استعملت ثلاث تراكيز من كلا النباتين 30,20,10 ملغم /مليلتر وقيست حيوية الرؤيسات الأولية في الأوقات التالية 120,90,60,30 دقيقة بالإضافة الى معاملة السيطرة Control واستخدم القانون التالي لحساب نسبة حيوية الرؤيسات الاولية :

نسبة الحيوية = عدد الرؤيسات الحية / عدد الرؤيسات الكلية * 100.

التصميم والتحليل الإحصائي

تم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام SPSS وفق تصميم التجارب العملية تام التعشية complete randomized factorial design وقورنت المتوسطات حسب اقل فرق معنوي معدل (L.S.D **)** least significant difference وعند مستوى معنوي P <0.05 (الراوي وخلف،1980).

النتائج

تبين من الجدول (1) ان الزيادة في التركيز المستخلص تؤدي الى زيادة انخفاض حيوية الرؤيسات الأولية حيث بلغت نسبة هلاك الرؤيسات 5.3% بتركيز 30ملغم /مل بعد 120 دقيقة مقارنة بالسيطرة التي بلغت 0.4% في حين لم يكن هناك فرق معنوي بين نسبة هلاك الرويسات عند تركيز 20ملغم / مل وعينات السيطرة عند الزمن 120دقيقة وكذلك الحال عند تركيز 10ملغم / مل في الوقت ذاته كما ظهرت اعلى نسبة لهلاك الرؤيسات 10.1 % عند التركيز 10 ملغم /مليليتر في الزمن 120 دقيقة .

جدول (1) النسبة المئوية لهلاك الرويسات الأولية / المدة الزمنية بعد المعاملة بالمستخلص المائي البارد لنبات الحلبة (دقيقة)

الزمن (دقيقة) / تركيز المستخلص ملغم /مليلتر	النسبة المئوية للهلاك ±الانحراف المعياري				L.S.D
	30دقيقة	60دقيقة	90دقيقة	120دقيقة	
10	2±1 a	5±2.6a	12±2a	19±10.1a	14.6
20	5±1 b	15±1.7b	18±6.9a	21±5.1a	12.2
30	10±1c	16.3±2.3 b	±6.4a 22.7	30±5.3a	11.7
سيطرة	0d	0.8±0.1c	0.9±0.4b	1.6±0.4b	o.9
اقل فرق معنوي عند مستوي معنوي 0.05	2.4	5.4	13.2	17.2	

الأرقام المختلفة تعني وجود فروقات معنوية ضمن العمود الواحد عند مستوى احتمالية P<0.05 مقارنه مع معاملة السيطرة .

*** تعني الانحراف المعياري**

كما اظهر الجدول (2) ان هناك فرق معنوي عند التركيز 10,20,30ملغم / مل عند الزمن 60,90,120 دقيقة بقارنه مع النسبة المئوية لهلاك الرؤيسات في عينات السيطرة التي بلغت 1% عند الزمن 120و 0.2 % عند الزمن (60,90) دقيقة . كما ظهرت اعلى نسبة لهلاك الرؤيسات 7.1% عند التركيز 30 ملغم /مليليتر في الزمن 90 دقيقة .

جدول (2) النسبة المئوية لهلاك الرويسات الأولية / المدة الزمنية بعد المعاملة بالمستخلص المائي البارد لنبات السعد (دقيقة)

الزمن (دقيقة) / تركيز المستخلص ملغم /مليلتر	النسبة المئوية للهلاك ±الانحراف المعياري				L.S.D
	30دقيقة	60دقيقة	90دقيقة	120دقيقة	
10	4±1a	12±2a	14±1a	25±2.7a	4.9
20	12±1.6b	11±1b	25±1b	29 ±1.7b	3.4
30	12±1.6b	19±2c	29.7±7.1c	36.7±2.1c	11.3
سيطرة	0c	0.2d 0.5±	0.7±0.2b	1.3±1d	0.5
اقل فرق معنوي عند مستوي معنوي 0.05	4.7	4.1	9.9	5.2	

الأرقام المختلفة تعني وجود فروقات معنوية ضمن العمود الواحد عند مستوى احتمالية P<0.05مقارنه مع معاملة السيطرة

*** تعني الانحراف المعياري**

المناقشة

اظهرت نتائج الدراسة ان لنباتي السعد والحلبة فعالية تثبيطية ضد الرؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية *E.granulosus* ويمكن ارجاع هذه الفعالية لاحتواء المستخلصات على مركبات صابونية saponins و الكلايكوسيدات glycosides و الفلافونويدات flavonoids وزيوت طيارة volatile oils والتانينات tannins . (Priboc and Ardelean,2008) .

أكد (2002) محمود ان القلويدات المفصولة من المستخلصات المائية والكحولية لنبات الحرمل *Peganum harmala* ونبات السعد *Cyperus rotundus* ونبات الزعتر *Thymus vulgaris* لها تأثير تثبيطي في حيوية الرؤيسات الأولية للمشوكة الحبيبية *E. granulosus* من اصل إنسان وأغنام خارج الجسم الحي ونموها داخله ,وقد تقاربت النتائج مع ما توصلت إليه أغوان (1999) حيث أثبتت أن المستخلص المائي الخام لنبات السعد *Cyperus rotundus* يعمل على خفض عدد الأكياس المائية الثانوية في مجاميع الفئران مقارنة بمجموعة السيطرة ولاحظت زيادة معنوية في الاستجابة المناعية الخلوية

والخلطية المتمثلة بارتفاع معدل سمك راحة القدم المحسس بالمستضد وعياريه الأجسام المضادة في الفئران المعاملة وكذلك زيادة في معاملة البلعمة عند مقارنتها مع مجموعات السيطرة وتوصل Al-Saimary and Zaki (1999) ان مستخلصات نباتات اليوكالبتوس *Eucalyptus sp.* والياس *Myrtus communis* والكرفس *Apium graveolens* والحلبة *Trigonella foenum* لها القدرة في القضاء على الطور اليرقي لطفيلي الاكياس المائية في الزجاج invitroعند 1000مايكروغرام / مليلتر وكانت نتائجها حسب الافضلية مستخلص اليوكالبتوس .sp *Eucalyptus* والياس *Myrtus* و الكرفس *Apium graveolens* والحلبة *Trigonella foenum* لها القدرة في القضاء على الطور اليرقي لطفيلي الأكياس المائية في الزجاج invitroعند استخدام 1000مايكروغرام /مليلتر وكانت نتائجها حسب الافضلية مستخلص اليوكالبتوس ثم مستخلص الكرفس يليها مستخلص الحلبة وذلك بمرور 6,5,4,3 أيام على التوالي من المعاملة.

كما اتفقت الدراسة الحالية مع الدراسة التي قامت بها محمود (2002) بدراسة تأثير مستخلصات كحولية ومائية لكل من نبات الحرمل *Peganum harmalia* ودرنات نبات السعد *Cyperus rotundus* ونبات الزعتر *Thymus vulgaris* في تضعيف حيوية الرؤيسات خارج الجسم الحي وداخله في الفئران البيض حيث اثرت على نمو الاكياس العذرية المعاملة داخل الفئران . يعود التأثير التثبيطي لهذه المستخلصات الى احتوائها على مركبات فعالة تؤثر على نمو الطفيليات خارج الجسم الحي حيث ان الراتنجات resinsمركبات مؤكسدة سامة للاحياء المجهرية بجدار الخلية مؤديا اعاقة عمل الجدار وبالتالي تثبيط نشاطها ومن ثم موتها (cowan,1999) .

وتفسر الية تثبيط التانينات Tannin للطفيلي على أساس قدرته على ترسيب البروتينات الموجودة في جدار الخلية محدثا بذلك تغيير في الصفات الكيمياوية للجدار الخلوي وشكل الخلية وأخيرا موتها (Guseva,1953) ، أما مادة الصابونين saponin تعمل على خفض السكر داخل الرؤيسات الاولية وبالتالي خفض الفعاليات الايضية وهذا يؤدي إلى موت الطفيلي (Hussan *et al.*,2000) اما الكلايكوسيدات glycosides تمتاز بتأثيرها التثبيطي في الإحياء المجهرية (Adekunle,2000).

المصادر العربية

أغوان ،سرى سالم (1999). تأثير المستخلص المائي الخام لنبات السعد *Cyperus rotundus* على الخمج التجريبي بالأكياس العذرية في الفئران ،رسالة،كلية الطب البيطري ،جامعة بغداد .

الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله (1980) .تصميم وتحليل التجارب الزراعية،دار الكتب للطباعة والنشر / جامعة الموصل .

الربيعي ، سلوى صبر محسن (1999) . تأثير بعض المستخلصات النباتية في تضعيف رؤيسات الأكياس العذرية الأولية خارج الجسم وداخلة في الفأر الأبيض .رسالة ماجستير ،كلية العلوم.جامعة بغداد .

الكاتب ، يوسف منصور (1988). تصنيف النباتات البذرية .مطبعة جامعة بغداد،بغداد ،العراق .

المصادر الأجنبية

Adekunle,A.A.(2000).Antifungal property of crude extracts of *Bruchystegia euryocoma* and *Richardia brasiliensis* .AJOAL:Nigerian J. Nature. Prod. Med.,4:1-9.

Al-Habori ,M. and raman, A. (2002).Pharmacological properties in fenugreek.The genus *Trigonella* (1st edition) by G.A.petropoulos (ed.) ,Taylor and Francis,London and New York ,10:163-182.

Al-Saddi,A.A.;Yones,F.N.and Al-Hadethi, A.W.(1996).Primitive study on the efficiency of *Allium sativum* extract in experimental infection mice with *Hymenolepis nana.* Technica l,Research.Techn.,31:58-63.

Al-Saimary,I.E.and Zeki,A.(1999).Invitro chemotherapeutic effects of antibiotics and plants extract on protoscolices

Viability of human hydatid cysts.J.Basrah.Res,20: 79-98.

Brown,D.(1995): Encyclopedia of herbs and their uses .Dorling Kindersely, DK publishers,London,New York.

Cheij,R.(1984).McDonald encyclopedia of medicinal plants. Macdonald and co. Ltd.London; 206-208.

Cobb,P.J.;Schmeig,R.;Hunt,T.K. and Mundy,L.M.(2003).

Inflammation,infection and antibiotics.In: Way,L.W

.Doherty,G.M.eds.:cuuent surgical diagnosis and treatment 11th edition ,McGraw-Hill.co.129.

Collee ,J.G. Miles ,R.S .and Watt,A.(1996). Tests for the identification of bacteria. In Mackie and MaCartney practical medical microbiology Cruckshank : collee. J. G. Fraser ,A.G.,Marmian, B.P .and Simmory, A.14th ed.Churchill livingstone. New York . 1:131-150.

Cowan,M.M.(1999).Plant products as antimicrobial agents clin.Microbiol.Rev.12(4);564-582.

Food Refrence(2004).Food history .herbs:Feungreek food reference website ,www.foodreference.com

Girgune,j. B.;Jain,N.K.and Grag,B.D.(1979).Antimicrobial and

Anthelimintic activity of essential oil from *Gardenia lucioa* .

Roxlo.Indian perfumer 4(3-4),213-215.

Guseva,A.(1953).Determintion of aucubin in *Eucommia* chemical Abstract ,47: 1243.

Harborne,J.B.(1984). Guide to modern techniques of plants analysis 2nd ed.chapman and Hall.London.New York.Pp288.

Herwing,W.and Wolfgang,k.(2001). Antiprotozoal activity

Of Guatemalan medical plant. University Wien,Fakulta fuer

Natarwissen schoften and mathematic,institutefuer

Pharmakognosie .

Hussan,I.A.;Abdel-Barry,J.A.and Mahemmeda, S.T.(2000).The Hypoglycemie and antihypergly caemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit agueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits.J.Ethanopharmacol.,71(2):325-330.

Landa-Laracia,J.I.;Alonso,E.;Gonzalez-Uriarte,J.and Rodriguez-Romano,D.(1997).Evaluation of scolicidal

Agents in experimental hydatid disease model .Eur.Sur.Res.,24:202-208

Marvin C.M.Wilford,O.and Gerald ,D.S.(1997) Essentials of parasitology .4th edition.Ram ,India,Delhi ; 287pp

Mentes,A.,Yalaz,S.;Killi,R.and Altitas (2000).Radical treatment for hepatic echinoccosis .HPB.,2(1):49-54.

Pribac,c. and Ardelean,(2008).Invitro culture of *Trigonella foenum -graecum* plantules and their anatomic characterization proceedings of the EMG 14th European Microscopy congress,sept.1-5,springer,Berlin,hedelberg,pp181-182.

Rotanno,c.A.;Kammerer ,W.S.Perez-Esandi,M.V.and Cereijido,M(1974).Studies on the permeability to water , sodium and chloride of hydatid cyst of Echinococcus granulosus Parasitol.,60(4): 613-620

Smyth,J.D.(1985). Invitro culture of *Echinococcus* spp. Proc.13th Int.Cong.hydatid.Madrid: 84-95.

Smyth,J.D.and Barrett ,N.J (1980).Procedures for testing the viability of human hydatidosis following surgical removal especially after chemotherapy .Trans.Roy-Soci.Trop.Med.Hyg.74: 64-652

Toppo,A.F.,Akhand,R.Pathak,A.K.(2009).Pharmacological actions and potential uses of *Triginella Foenum-graecum* . A review,Asian Journal of pharmaceutical and clinical Research ,2(4):29-38.

Torgerson ,P.R.and Budke, C.M.(2003)Echinococcosis an international public healthy challenge.Res.Vet.Sci. 74:191-202.

Uddin,S.J.;Mondal,K.;Shilpi,J.A.and Rahman,M.T.(2006). Antidiarrhoeal activity of *Cyperus rotundus* .Fitoterapia,77.134-136