View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017

ORIGINAL ARTICLE

The effect of Rosa damascena Mill Hydro-alcoholic extract on the ileum contraction in rat

Mehrnoosh Sedighi[1],
Mosayeb Noori–Ahmadabadi[2],
Mahmoud Rafieian-Kopaei[3],
Jamshid Ebrahimpoor-Samani[4],
Najmeh Shahinfard[5]

[1] MSc in Physiology, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[2] Student of Medicine, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[3] Professor in Pharmacology, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[4] MSc in Administration, Department of Humanities, School of Humanities, Payame Noor University, Shahrekord, Iran
[5] Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

(Received May 8, 2013; Accepted September 1, 2013)

Abstract

Background and purpose: *Rosa damascena Mill* in Iranian folk medicine is used for treating digestive disorders. We assessed the antispasmodic effects of extract of the leaves of this plant on ileum contractions in Wistar rats; possible mechanisms were investigated, too.

Materials and methods: In this experimental study, 48 male Wistar rats (150-200 g) were divided randomly into six groups of eight members, including control group and the groups received extracts of *Rosa damascena Mill*, propranolol, naloxone, L-nitro-arginine methyl ester (L-NAME), and calcium chloride. To evaluate the effectiveness mechanisms, ileum was placed adjacent to antagonist drugs of β-adrenergic receptors, opioid and inhibitor of the synthesis of nitric oxide, and also under the influence of different doses of calcium chloride. The observed effects were recorded. Then, the percent changes were calculated. Statistical analysis was done using parametric tests of repeated measuring design, ANOVA and t tests.

Results: Cumulative extract of *Rosa damascena Mill* (100, 500 and 1000 mg/k) decreased ileum contractions induced by KCl ($P < 0.0001$). Propranolol and naloxone significantly decreased the inhibitive effect of the extract on contractions induced by KCl ($P < 0.0010$), but L-NAME was ineffective. Also, calcium led to the contraction of depolarized tissue through KCI and this contractile effect decreased significantly by the cumulative concentration of *Rosa damascena Mill* ($P < 0.0010$).

Conclusion: Extract of *Rosa damascena Mill* probably decreases ileum movements of the rat through stimulating the β-adrenergic and opioid receptors and voltage-dependent channels, and it may be used to treat digestive disorders.

Keywords: *Rosa damascena* Mill, Ileum, L-NAME, Rat

J Mazand Univ Med Sci 2014; 23(108): 30-9 (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و سوم شماره ۱۰۸ دی سال ۱۳۹۲ (۳۹-۳۰)

بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گل محمدی بر روی حرکات ایلئوم موش صحرایی

مهرنوش صدیقی[۱]
مصیب نوری احمدابادی[۲]
محمود رفیعیان کوپائی[۳]
جمشید ابراهیم‌پور سامانی[۴]
نجمه شاهین‌فرد[۵]

چکیده

سابقه و هدف: گل محمدی، در طب سنتی ایران برای درمان بعضی از ناراحتی‌های گوارشی استفاده می‌شود. در این تحقیق، اثر ضد انقباضی عصاره هیدروالکلی گلبرگ‌های گیاه، بر انقباضات ایلئوم موش‌های صحرایی نژاد Wistar و بیان مکانیسم محتمل بر آن بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق مداخله‌ای، ۴۸ سر موش صحرایی، از نژاد Wistar (g ۲۰۰-۱۵۰) به شش گروه تصادفی هشت‌تایی شامل گروه شاهد، گروه دریافت کننده عصاره گل محمدی، پروپرانولول، نالوکسان، ال- نیم (L-NAME) و کلرور کلسیم تقسیم شدند. به منظور بررسی اثر مکانیسم ایلئوم با داروهای آنتاگونیست رسپتورهای بتا آدرنرژیک، اوپیوئیدی و مهار کننده سنتز نیتریک اکساید، انکوبه شدند و تحت تأثیر دوزهای متفاوت کلرور کلسیم قرار گرفتند. اثرات مشاهده شده ثبت و درصد تغییرات محاسبه گردید. آنالیز آماری با آزمون‌های متغیری طرح اندازه‌گیری مکرر، ANOVA و Student t، انجام گرفت.

یافته‌ها: عصاره گل محمدی انقباضات ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم را کاهش داد ($P < ۰/۰۰۰۱$). پروپرانولول و نالوکسان، اثر مهاری عصاره بر انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم را به صورت معنی‌دار مهار نمود ($P < ۰/۰۰۱۰$). ال- نیم بی‌اثر بود. کلسیم، سبب انقباض بافت دپولاریزه شده توسط کلرور پتاسیم شد و این اثر انقباضی، توسط غلظت‌های تجمعی عصاره به صورت معنی‌دار کاهش یافت ($P < ۰/۰۰۱۰$).

استنتاج: احتمال می‌رود عصاره گل محمدی، با تحریک گیرنده‌های بتاآدرنرژیک و اوپیوئیدی و کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ، حرکات ایلئوم موش صحرایی را کم کند و می‌توان از آن به منظور درمان ناراحتی‌های گوارشی استفاده کرد.

واژه های کلیدی: گل محمدی، ایلئوم، موش صحرایی

مقدمه

اسهال، عامل مهم بیماری و مرگ و میر به ویژه در کشورهای جهان سوم می‌باشد (۱). داروها و ترکیبات زیادی با مکانیسم‌های مختلف برای درمان اسهال وجود دارند. اساس استفاده از این داروها، افزایش جذب آب و الکترولیت و غذا از روده، کاهش ترشح از روده و کاهش حرکات روده

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد به شماره ۸۱۱ می‌باشد که با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی شهرکرد به انجام رسید.

مولف مسئول: محمود رفیعیان کوپائی- شهرکرد: دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی. E-mail: rafieian@yahoo.com

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. استاد فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴. کارشناسی ارشد مدیریت، گروه علوم انسانی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه پیام نور شهرکرد، شهرکرد، ایران
۵. کارشناس مامایی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۲/۱۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۴/۲۳ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۶/۱۰

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017

کوچک می‌باشد (۲). اگر چه داروهای سنتتیک مؤثری برای این منظور موجود است، اما همگی دارای عوارضی هستند که جستجو برای داروهای جدید را ضروری می‌نماید. در طب سنتی، گیاهان دارویی کاربرد فزاینده دارند (۶-۳) و با عوارض جانبی کمتری در تهیه دارو استفاده می‌شوند (۸، ۷).

گل محمدی با نام علمی Rosa damascena Mill از خانواده رزاسه (Rosaceae) (۹) و از جنس Rosa می‌باشد که در شرایط مختلف آب و هوایی کشور می‌روید. این گیاه درختچه‌ای، چند ساله، با ارتفاع نزدیک به ۱/۵ متر، دارای شاخه‌های استوانه‌ای شکل، بدون شیار و دارای گل‌های مرکب شانه‌ای، به رنگ صورتی، میوه گوشتی گرد و یا تخم مرغی است (۱۰).

این گیاه از مهم‌ترین گونه‌های معطر است که ابتدا به صورت وحشی می‌رویید و هنوز هم به صورت خودرو در سوریه، مراکش و استرالیا رویش دارد (۱۱). همچنین کشت و کار آن در نقاط مختلف کشورمان از جمله مناطق غربی کشور شامل استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، همدان، کرمانشاه و کردستان انجام می‌گیرد (۱۲).

ترکیبات اصلی گیاه آنتوسیانین، سیانیدین ۵، ۳ دی گلیکوزید و چندین ترکیب دیگر مثل کامفرول، کوئرستین، گالاکتوزید، آرابینوزید، آفزلین، سیترونلول، لینالول، ژرانیول و ترپن‌ها می‌باشند (۱۳). فرآورده‌های گیاهان جنس Rosa در طب سنتی اثرات فارماکولوژیکی فراوانی دارند. از خواص دارویی ترکیب‌های فلاونوییدی کامفرول و کوئرستین، مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی را می‌توان نام برد (۱۰).

آنتی اکسیدان‌های طبی در پیشگیری از بیماری‌های قلبی- عروقی سودمند هستند (۱۴).

کوئرستین (یکی از فلاونوئیدهای موجود در گل محمدی)، می‌تواند از انواع سرطان (مثل سرطان روده) جلوگیری (۱۵) و به کاهش فشار خون در افراد مبتلا به این بیماری کمک کند (۱۶). فلاونوئید کوئرستین در آئورت سبب شلی وابسته به آندوتلیال می‌گردد (۱۷) و در انقباض ایلئوم خوکچه هندی مؤثر است (۱۸). همچنین فلاونوئید موجود در ریشه ختمی و دیگر گیاهان، موجب شل شدن وابسته و غیر وابسته به آندوتلیال در شریان انسانی می‌شود (۱۹).

ترکیب تتراهیدروکسی فلاونن کامفرول، که از عصاره گل محمدی به دست می‌آید، به واسطه ممانعت از فعالیت پروتئازهای ویروس ایدز، دارای خاصیت ضد ایدز می‌باشد (۲۰). همچنین عصاره گل محمدی دارای فعالیت ضد باکتری و آنتی اکسیدان است (۲۱) و باعث کاهش اسپاستیسیته در کودکان فلج مغزی می‌شود (۲۲). ارزش دارویی تانن نیز به عنوان آنتی بیوتیک و اثر ضد سرطانی مشخص شده است (۲۳). اما تحقیقی در مورد اثر درمانی و چگونگی اثر گیاه بر فعالیت حرکتی ایلئوم موش صحرایی صورت نگرفته است.

در کل، فعالیت حرکتی عضله صاف تحت تأثیر عوامل عصبی، میانجی‌های شیمیایی، داروها و کشش عضله قرار دارد. این عوامل با اثر بر مکانیسم سلولی عضله، فعالیت حرکتی عضله را سبب می‌شوند. عواملی که به واسطه آن‌ها بر کانال‌های یونی عضله، هومئوستاز کلسیم و فعالیت آنزیم‌های سیتوزولی اثر می‌گذارند، فعالیت حرکتی عضله را تغییر می‌دهند (۲۴).

در تحقیقات قبلی، اثر گل نسترن از این خانواده (رزاسه) بر فعالیت انقباضی ایلئوم و اثر برون تنی گل محمدی جوشانده شده، بر فعالیت ژوژنوم موش صحرایی با اثر سودمند درمانی دوزهای استفاده شده در بیماری اسهال مشخص گردید (۲۵). همچنین صدرایی و همکاران نشان دادند که عصاره هیدرو الکلی به صورت وابسته به دوز، اثرات متفاوتی بر فعالیت حرکتی ایلئوم دارد. غلظت‌های پایین عصاره (۱۰-۱۰۰ µg/ml) سبب افزایش فعالیت حرکتی روده در پاسخ به محرک‌های حرکتی Ach (Acetylcholine)، KCl (Potassium chloride) و EFS (Executive function system) و غلظت‌های به نسبت بالای عصاره (۱-۸ mg/ml) سبب کاهش حرکات ایلئوم روده توسط محرک‌های ACh، KCl و EFS گردیده است.

این تحقیق با هدف بررسی اثر غلظت‌های تجمعی

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017

دوز بالای عصاره هیدرو الکلی گل محمدی (۱۰۰ mg/kg، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) بر فعالیت انقباضی ایلئوم موش صحرایی انجام شد. ایلئوم بیشتر مسؤول حرکات گوارشی روده است؛ از این‌رو، مکانیسم مربوط با توجه به ترکیبات عصاره هیدرو الکلی گل محمدی و وجود گیرنده‌ها و کانال‌های عضله صاف ایلئوم بررسی گردید (۲۶).

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از روش ماسراسیون جهت به دست آوردن عصاره گیاه گل محمدی استفاده شد. بدین نحو که ۱۰۰ گرم گلبرگ‌های گیاه گل محمدی را پس از تمیز نمودن، پودر شد و بر روی پودر حاصل اتانول ۷۰ درصد ریخته شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت، مخلوط به دست آمده به وسیله قیف بوخنر صاف و محلول به دست آمده در دمای $35\ ^oC$ با ایجاد خلأ تبخیر گردید. محلول غلیظ شده در انکوباتور با دمای حداکثر $40\ ^oC$ درجه قرار داده شد تا الکل موجود در محلول به طور کامل خارج شود. از ۵۰۰ g گیاه، ۱۵ گرم پودر به دست آمد که تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

۴۸ سر موش صحرایی نر و ماده از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰-۱۵۰ g، در شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و در دمای $24-20\ ^oC$ و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند، اما شب قبل، از آزمایش از غذا محروم شدند.

پروپرانول و ال- نیم از شرکت Sigma (آمریکا)، نالوکسان از شرکت تولید دارو (ایران) و کلیه نمک‌های مصرفی از شرکت Merck (آلمان) تهیه شد.

در روز آزمایش، موش‌ها با کلروفرم بی‌هوش شدند و از انتهای ایلئوم آن‌ها (به جز ۲ cm آخر) یک قطعه به طول ۲ cm جدا شد و در داخل حمام بافت (۵۰ ml) حاوی محلول تیرود در بین دو قلاب استیل زنگ‌نزن به صورت عمودی قرار دادیم. قلاب پایین در ته حمام ثابت و قلاب بالا توسط نخ، به اهرم ترانسدیوسر ایزوتونیک (Harvard, UK) و دستگاه ثبات (Universal Harvard Osilloghraph) متصل شد.

ترانسدیوسر ایزوتونیک مسؤول تبدیل فعالیت مکانیکی بافت به جریان الکتریکی و انتقال آن به دستگاه ثبات و ثبت اثر روی کاغذ توسط قلم دستگاه ثبات است. دوره سازگاری ۶۰ دقیقه که طی آن هر ۱۵ دقیقه محلول حمام تعویض شد و جریان دایم، حباب هوا به داخل حمام دمیده شد. کشش اولیه به بافت ۱ g و محلول تیرود حمام ($37\ ^oc$ و $pH = 7/4$) بود.

بعد از سازگاری، ایلئوم توسط $0/9\ cm^3$ کلرور پتاسیم (۶۰ mM) منقبض شد و هنگامی که انقباض به حالت کفه رسید (۲۷)، غلظت‌های تجمعی عصاره (۱۰۰ mg/kg، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) (۲۸) به نسبت $0/5\ cm^3$ به حمام بافت اضافه و درصد تغییر نیروی انقباضی نسبت به حالت کفه محاسبه شد.

در مطالعه صدرایی و همکاران (۲۶) اثر عصاره بر فعالیت ایلئوم در دوزهای پایین (۱۰۰-۱۰ µg/ml و ۸-۱ mg/ml) بررسی گردید. این جا به ترتیب دوزهای بالاتر (۱۰۰ mg/kg، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) بررسی گردید. این دوزها با توجه به مقاله رخشنده و همکاران (۲۸) بررسی گردید.

محلول تیرود ترکیبی از NaCl (۱۳۶/۰۰ mM)، KCl (۵/۰۰ mM)، $CaCl_2$ (۲/۰۰ mM)، $NaHCO_3$ (۱۱/۹۰ mM)، $MgCl_2$ (۰/۹۸ mM)، NaH_2PO_4 (۰/۳۶) و گلوکز (۵/۵۵ mM) بود.

به منظور درک مکانیسم اثر عصاره بر ایلئوم، دخالت رسپتورهای بتاآدرنرژیک، اوپیوئیدی و نیتریک اکساید و غلظت‌های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از کلروپتاسیم بررسی شد. بدین صورت، پس از ۳۰ دقیقه انکوبه کردن بافت با پروپرانولول با غلظت ۱ Mµ (۲۹)، یا نالوکسان با غلظت ۱ Mµ (۳۰) و یا ۲۰ دقیقه در غلظت ۱۰۰ Mµ ال- نیم (۳۱) مراحل قبلی یعنی اضافه کردن عصاره تکرار شد.

جهت بررسی نقش کلسیم خارج سلولی در عملکرد عصاره، ابتدا بافت در محلول تایرود فاقد کلسیم و دارای غلظت زیاد کلرور پتاسیم (۶۰ mM) قرار گرفت و کلرور کلسیم به صورت تجمعی (۸-۲ mM) به حمام اضافه گردید (۲۷). سپس ۵ دقیقه حضور عصاره با غلظت‌های تجمعی انجام

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017

و اثر آن توسط دستگاه ثبات، روی کاغذ ثبت شد.

در تمامی مراحل انجام آزمایش فوق، اضافه کردن محلول کلرور پتاسیم (۶۰ mM) سبب افزایش انقباض ایلئوم شد و پس از مدت کوتاهی انقباض به حالت کفه می‌رسید. در این نقطه، میزان انقباض ایلئوم روی کاغذ ثبت و محاسبه می‌شد. سپس اثرات سالین و غلظت‌های تجمعی عصاره گل محمدی، همچنین اثر انکوبه کردن بافت با داروهای آنتاگونیست رسپتورهای بتاآدرنرژیک (پروپرانولول ۱ Mμ)، اوپیوئیدی (نالوکسان ۱ Mμ) و مهار کننده سنتز نیتریک اکساید (ال- نیم ۱۰۰ μM) و تأثیر کلرور کلسیم بر کانال‌های وابسته به ولتاژ نیز ثبت و بررسی می‌شد.

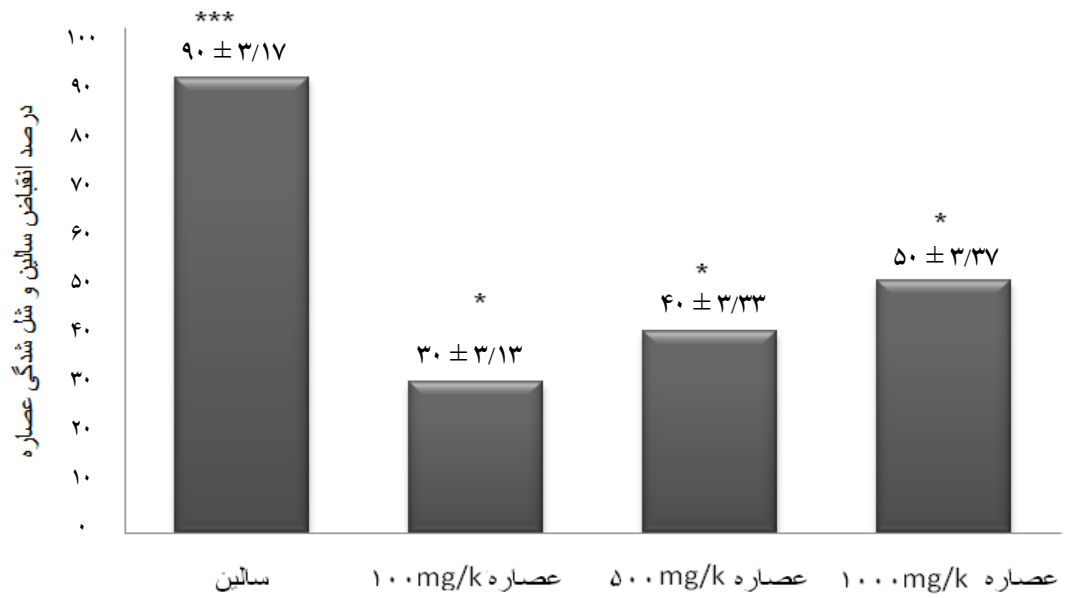
اطلاعات به دست آمده از داده‌ها پس از ثبت در کامپیوتر و نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. تغییرات نیروی انقباضی ناشی از عصاره و آنتاگونیست نسبت به عصاره، به صورت میانگین ± انحراف معیار محاسبه گردید. به کمک آزمون آماری ANOVA جهت مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره و از Student t جهت مقایسه دو گروه با یکدیگر استفاده گردید. $P < ۰/۰۵۰۰$ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مقایسه غلظت‌های تجمعی عصاره هیدرو الکلی گلبرگ های گل محمدی بر انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم در ایلئوم موش صحرایی

هر یک از غلظت‌های mg/kg ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ عصاره، به طور معنی‌دار و وابسته به دوز، سبب کاهش انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) در مقایسه با گروه سالین شد ($P < ۰/۰۰۰۱$).

نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد که عصاره تجمعی گل محمدی (۱۰۰ mg/kg، ۵۰۰ و ۱۰۰۰)، انقباضات ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم و سالین را مهار می‌کند ($n = ۸$، $P < ۰/۰۰۰۱$) که این اثر وابسته به دوز است. بیشترین اثر در غلظت ۱۰۰۰ mg/kg عصاره مشاهده می‌شود. همچنین اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مهاری عصاره دیده می‌شود ($P < ۰/۰۵۰۰$). انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در تمام طول آزمایش حفظ می‌شد و عملکرد مهاری عصاره پس از شستشوی مکرر بافت و فاصله زمانی ۱۵ دقیقه استراحت از بین نمی‌رفت؛ که نشان دهنده اثر پایداری عصاره بر بافت است و این اثر مهاری وابسته به عصاره می‌باشد؛ نه خستگی عضلانی.



نمودار شماره ۱: اثر غلظت‌های تجمعی عصاره گل محمدی (۱۰۰ mg/kg، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) و سالین (*$P < ۰/۰۰۰۱$، $n = ۸$)

* منظور این که عصاره انقباض ناشی از سالین را کاهش می‌دهد.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017

مقایسه عملکرد عصاره هیدرو الکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم، قبل و بعد از انکوبه کردن ایلئوم موش با پروپرانولول

نمودار شماره ۲ نشان می‌دهد، پروپرانولول سبب شل شدن ایلئوم می‌شود و احتمال دارد مواد مؤثر در عصاره، از طریق تأثیر بر گیرنده‌های بتاآدرنرژیک سبب اثر مهاری عصاره شده باشند. پس از مقایسه اثر مهاری عصاره بر انقباض کلرور پتاسیم، اثر مهاری عصاره با فاصله زمانی ۱۵ دقیقه و شستشوی بافت، در حضور ۳۰ دقیقه پروپرانولول، آنتاگونیست گیرنده‌های بتاآدرنرژیک مقایسه شد.

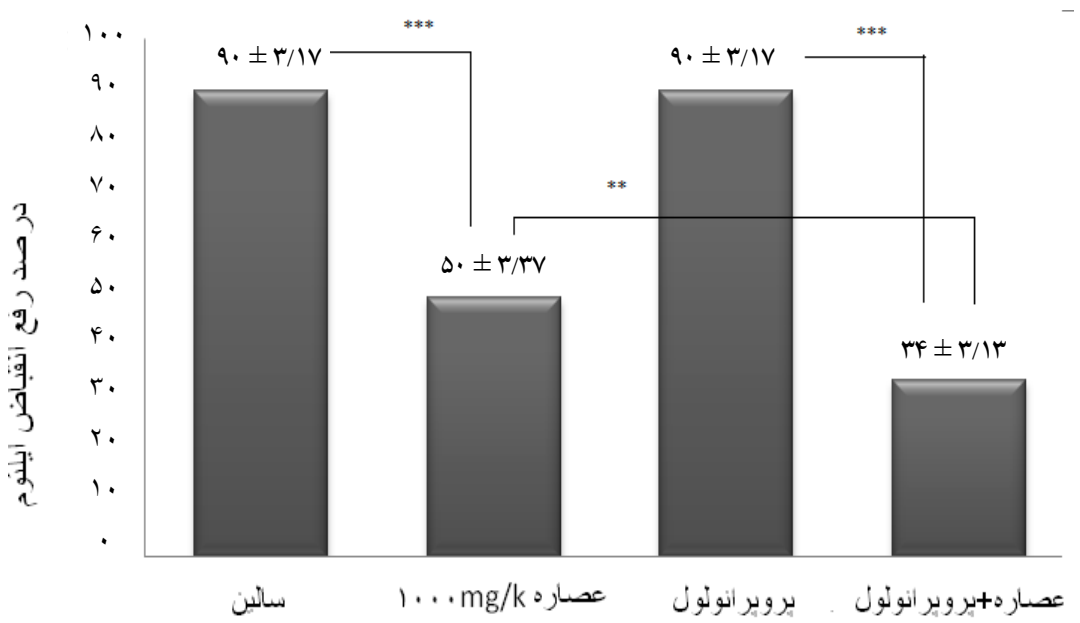
عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم ($P < ۰/۰۰۰۱$) و پروپرانولول نیز سب کاهش معنی‌دار اثر انقباض ایلئوم ناشی از عصاره شد ($n = ۸$، $P < ۰/۰۰۱۰$).

مقایسه عملکرد عصاره هیدرو الکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم، قبل و بعد از انکوبه کردن ایلئوم موش با ال- نیم

نمودار شماره ۳ نشان می‌دهد، نیتریک اکساید سبب شل شدن ایلئوم می‌شود و احتمال دارد عصاره از طریق سنتز نیتریک اکساید سبب اثر مهاری حرکات ایلئوم شده باشد. بنابراین، پس از مقایسه اثر مهاری عصاره بر انقباض کلرور پتاسیم، اثر مهاری عصاره با فاصله زمانی ۱۵ دقیقه و شستشوی بافت، در حضور ۲۰ دقیقه ال- نیم، آنتاگونیست سنتز نیتریک اکساید مقایسه شد. عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم شد ($n = ۸$، $P < ۰/۰۰۰۱$)، اما اختلاف معنی‌داری بین دو حالت عصاره در حضور و غیاب ال- نیم مشاهده نشد.

مقایسه عملکرد عصاره هیدرو الکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم، قبل و بعد از انکوبه کردن ایلئوم موش با نالوکسان

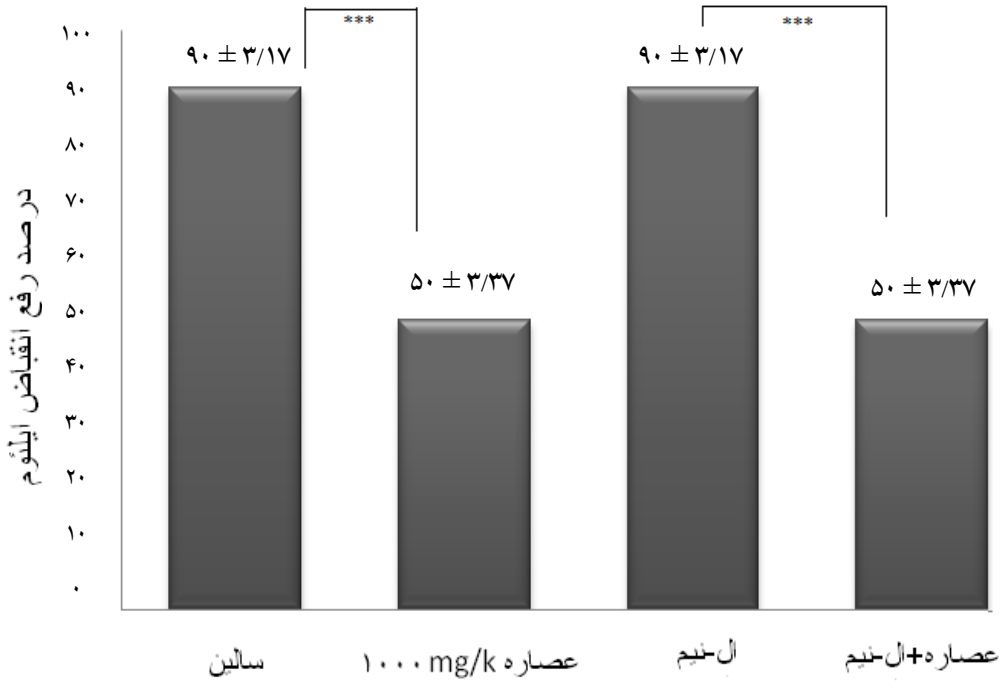
نمودار شماره ۴ نشان می‌هد، نالوکسان از طریق تأثیر بر گیرنده‌های اوپیوئیدی سبب شل شدن ایلئوم می‌شود (و احتمال دارد عصاره از طریق تأثیر بر گیرنده‌های اوپیوئیدی سبب اثر مهاری عصاره شده باشد). احتمال می‌رود مواد مؤثر عصاره، از طریق تأثیر بر گیرنده های اوپیوئیدی و بلوکه کردن کانال‌های کلسیمی سبب افزایش مهاری حرکات ایلئوم شده



نمودار شماره ۲: مقایسه اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهاری عصاره در غلظت ۱۰۰۰ mg/kg و پروپرانولول (1μM ۱) بر گیرنده‌های بتاآدرنرژیک در ایلئوم ($n = ۸$)، $P < ۰/۰۰۱۰$ **، $P < ۰/۰۰۰۱$ *).**

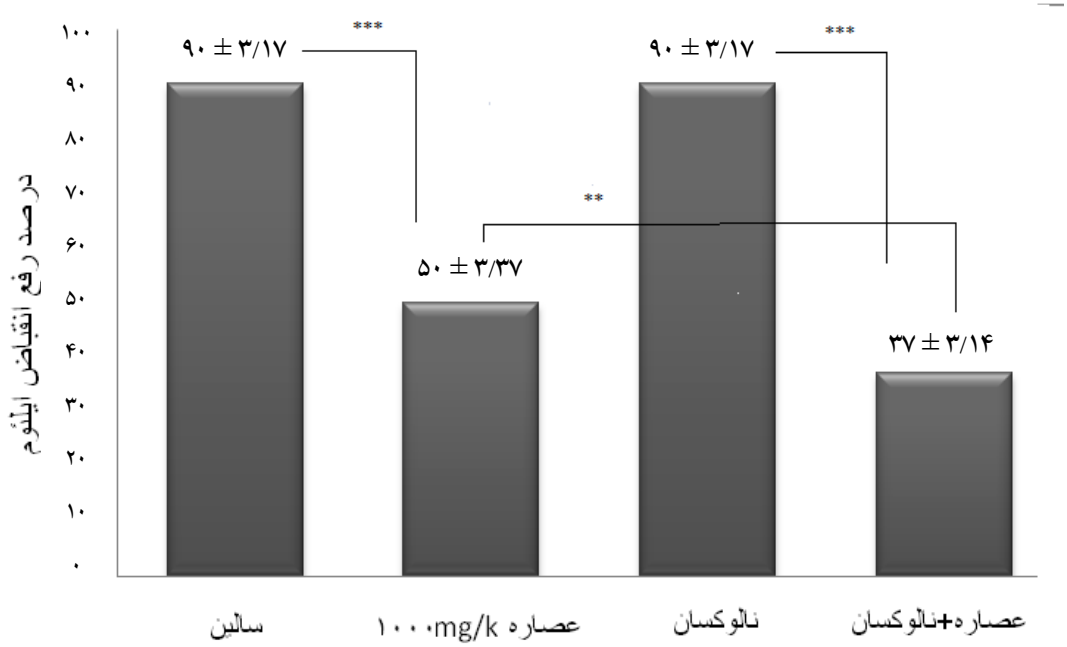
** اختلاف معنی‌دار در آزمون آماری Student t؛ *** اختلاف معنی‌دار در آزمون آماری ANOVA

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017



نمودار شماره ۳: مقایسه اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهاری عصاره در غلظت ۱۰۰۰ mg/kg و ال- نیم (۱۰۰ Mμ) مهار کننده سنتز آنزیم نیتریک اکساید در ایلئوم (۸ = n، ۰/۰۰۰۱ > P*).**

*** اختلاف معنی‌دار در آزمون آماری ANOVA



نمودار شماره ۴: مقایسه اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهاری عصاره در غلظت ۱۰۰۰ mg/kg و نالوکسان (۱ Mμ) بر گیرنده‌های اوپیوئیدی در ایلئوم (۸ = n، ۰/۰۰۱۰ > P، ۰/۰۰۰۱ > P***).**

** اختلاف معنی‌دار در آزمون آماری Student t؛ *** اختلاف معنی‌دار در آزمون آماری ANOVA

باشد. از این‌رو، پس از مقایسه اثر مهاری عصاره بر انقباض کلرور پتاسیم، اثر مهاری عصاره با فاصله زمانی ۱۵ دقیقه و شستشوی بافت، در حضور ۳۰ دقیقه نالوکسان یعنی آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی مقایسه شد.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017

عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم شد (n = ۸، P < ۰/۰۰۰۱)، نالوکسان نیز سب کاهش معنی‌دار اثر مهاری انقباض ناشی از عصاره گردید (n = ۸، P < ۰/۰۰۱۰).

اثر عصاره هیدرو الکلی برگ گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور کلسیم در ایلئوم دپولاریزه شده توسط کلرور پتاسیم

نمودار شماره ۵ نشان می‌دهد، انقباض ایلئوم ناشی از غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم (۸-۲ mM) در بافت دپولاریزه توسط کلرور پتاسیم (۶۰ mM)، وابسته به غلظت کلرور کلسیم است (P < ۰/۰۰۰۱) و این پاسخ‌های انقباضی در حضور غلظت‌های تجمعی عصاره گل محمدی کاهش می‌یابد (P < ۰/۰۰۱۰).

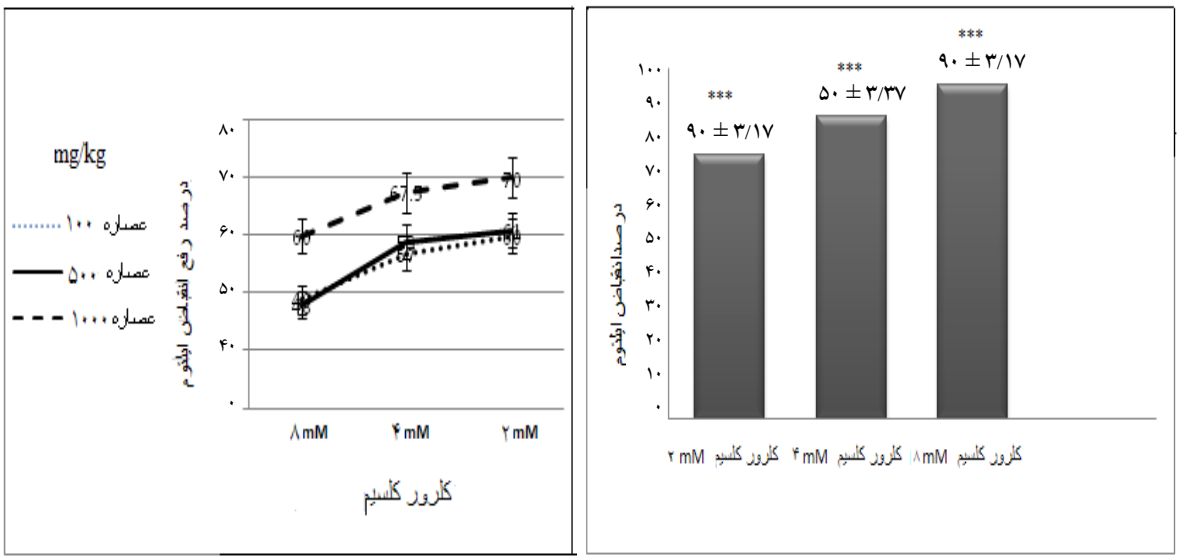
در محلول تایرود بدون کلسیم دارای کلرور پتاسیم (۶۰ mM) بالا، اضافه کردن غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم به حمام بافت، موجب انقباض وابسته به غلظت کلسیم در ایلئوم گردید (n = ۸، P < ۰/۰۰۰۱).

انکوبه کردن بافت ۳ دقیقه با غلظت‌های مختلف عصاره، سبب اثر مهاری انقباض ناشی از کلرور کلسیم شد که این تأثیر ضد انقباضی نیز وابسته به غلظت عصاره بود. مقایسه اثر انقباضی کلرور کلسیم در غیاب و در حضور عصاره، در تمام غلظت‌های کلسیم اختلاف معنی‌داری با هم داشتند (n = ۸، P < ۰/۰۰۱۰).

بحث

نتایج تحقیق حاضر، نشان دهنده اثر مهاری عصاره گل محمدی بر فعالیت انقباضی ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم بود. شستشوی بافت و تعویض محلول حمام، اثر ضد انقباضی عصاره را از بین نمی‌برد. بنابراین کاهش انقباض در حضور عصاره، نمی‌تواند ناشی از بروز خستگی عضله باشد و نتیجه اثر عصاره بر مکانیسم سلولی عضله می‌باشد و فعالیت حرکتی عضله را تغییر می‌دهد.

از آن جا که افزایش غلظت کلسیم درون سلولی، عامل اصلی تانسیون در عضله صاف می‌باشد، احتمال دارد عصاره حاضر، مانع از ورود کلسیم به سلول گردیده و مهار انقباض را سبب شده باشد (۲۴). با توجه به افزایش این کانال‌ها در غشای عضله صاف، این عضله در مقایسه با عضله اسکلتی، دارای کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ زیادتر و کانال‌های سدیمی وابسته به ولتاژ بسیار کمتری است. بنابراین اغلب، جریان یون‌های کلسیم از طریق کانال‌های آهسته کلسیمی- سدیمی به داخل فیبر، مسؤول تولید پتانسیل عمل و انقباض است. تحقیقات نشان داده‌اند که انقباض ناشی از کلرور پتاسیم با دخالت کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ انجام می‌شود (۳۲). این کانال‌های نوع L در ایلئوم موش صحرایی مشخص شده است (۳۳). از این‌رو به نظر می‌رسد در تجربه حاضر نیز ورود



نمودار شماره ۵: مقایسه اثر انقباضی غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم (۸-۲ mM) و اثر مهاری عصاره در غلظت‌های تجمعی عصاره (۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg)

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017

کلسیم از این کانال‌ها توسط عصاره، دچار اختلال شده باشد.

در مورد بررسی مکانیسم اثر عصاره بر فعالیت بافت، می‌توان گفت که فعال شدن گیرنده‌های اوپیوئیدی سبب شل شدن ایلئوم می‌گردد. وجود رسپتورهای اوپیوئیدی نوع δ و μ و اثر مهار کنندگی آن‌ها نیز در ایلئوم موش صحرایی گزارش شده است (۳۴). فعال شدن رسپتورهای بتاآدرنرژیک و در نهایت، افزایش cAMP (Cyclic adenosine monophosphate) و انتقال فعال کلسیم به درون شبکه سارکوپلاسمی، موجب مهار فعالیت انقباضی ایلئوم می‌گردد (۳۵).

همچنین نیتریک اکساید یکی از نورترانسمیترهای مهاری دستگاه گوارش است. این مولکول پیامبر ثانویه گازی، با فعال کردن پروتئین کینازهای وابسته به cGMP (Cyclic guanosine monophosphate) و اثر بر کانال‌های یونی و غلظت کلسیم، سبب شل شدن عضله می‌گردد (۳۶). با انکوبه کردن قطعه ایلئوم با آنتاگونیست رسپتورهای اوپیوئیدی توسط نالوکسان و آنتاگونیست گیرنده‌های بتاآدرنرژیک توسط پروپرانولول، عملکرد شل کننده عصاره بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم کاهش یافته است که نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین دو گروه عصاره در حضور و غیاب پروپرانولول و نالوکسان است. پس می‌توان احتمال داد که مواد مؤثر عصاره از طریق تأثیر بر گیرنده‌های بتاآدرنرژیک و گیرنده‌های نالوکسان که وجود آن‌ها در ایلئوم ثابت شده و اثر مهاری آن‌ها نیز مشخص شده است (۳۷)، سبب ایجاد عملکرد مهاری عصاره شده باشند.

انکوبه کردن قطعه ایلئوم با آنتاگونیست سنتز نیتریک اکساید توسط داروی ال- نیم سبب شل شدن بافت ایلئوم گردید و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه دریافت عصاره در حضور و غیاب ال- نیم مشاهده نشد که نشان دهنده عدم توانایی نیتریک اکساید بر عملکرد مهاری عصاره است.

همچنین در تحقیق حاضر، اضافه کردن کلرور کلسیم به محیط، سبب افزایش انقباض عضله شد؛ اما عصاره سبب کاهش انقباضات ناشی از کلرور کلسیم گردید. در محلول تایرود بدون کلسیم، بافت توسط مقدار زیادی از پتاسیم خارج سلولی فقط دپولاریزه شد (۳۸) و انقباض آن مشروط به اضافه کردن کلسیم به محیط بود (۳۹). در این جا نیز انقباض ایجاد شده در عضله صاف دپولاریزه شده توسط کلرور پتاسیم وابسته به حضور کلسیم در محیط است. بعد از اضافه کردن کلرور کلسیم، بافت دپولاریزه شده توسط کلرور پتاسیم، توسط کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ موجود در عضله منقبض شده و انقباض آن وابسته به دوز است. همچنین نتایج نشان داد که غلظت‌های تجمعی عصاره، مانع از عملکرد انقباضی کلسیم در بافت دپولاریزه می‌گردد که می‌تواند نشان دهنده دخالت کانال‌های کلسیم در بروز عملکرد مهاری عصاره باشد.

خواص آنتاگونیست کلسیمی ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین و اثر آن در شلی وابسته به آندوتلیال آئورت و کاهش فشار خون (۴۰، ۱۷، ۱۶) و در گیاه زالزالک با افزایش آزادسازی ماده گشاد کننده عروقی نیتریک اکسید (۴۱) و اثرات ضد انقباضی فلاونوئیدها در عضلات صاف جدار عروق و نیز ایلئوم (۱۸) و همچنین تأثیر شل کنندگی وابسته و غیر وابسته به آندوتلیال در شریان انسانی برای فلاونوئیدهای موجود در ریشه ختمی و دیگر گیاهان (۱۹)، تا کنون به اثبات رسیده است.

بنابراین، چون خواص آنتاگونیست کلسیمی ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین و اثرات مهاری دیگر ترکیبات فلاونوئیدی بر عضله صاف بافت‌های دیگر ثابت شده است، می‌توان احتمال داد که خاصیت مهاری عصاره هیدرو الکلی گل محمدی به صورت وابسته به دوز و با توجه به مطالعه صدرایی و همکاران (۲۶) به دلیل اثر عمده فلاونوئیدها به ویژه کوئرستین عصاره بر کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ و دیگر فلاونوئیدها و ترکیبات گیاه بر گیرنده‌های بتاآدرنرژیک و اوپیوئیدی عضله و همچنین خاصیت مسهلی عصاره، دلیل بر دیگر ترکیبات گیاه به ویژه ترکیبات روغنی و اسانس گیاه باشد. البته برای تعیین مکانیسم اثر عصاره، جدا کردن تک‌تک ترکیبات گیاه و بررسی جداگانه آن‌ها بر رسپتورها و دیگر عوامل حرکتی عضله لازم است.

به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که عصاره هیدرو الکلی

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017

گل محمدی در غلظت‌های وابسته به دوز بر مکانیسم سلولی عضله صاف، از جمله کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ، بتاآدرنرژیک و اوپیوئیدی ایلئوم موش صحرایی اثر می‌گذارد و ممکن است بتوان از آن به منظور درمان ناراحتی‌های گوارشی استفاده کرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله پژوهشگران مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد اعلام می‌دارند.

References

1. Saffar M. Patients with acute diarrhea and how that feedback. J Mazandaran Univ Med Sci 2000; 10(28): 58-74. (Persian).
2. Taylor DE, Courvalin P. Mechanisms of antibiotic resistance in Campylobacter species. Antimicrob Agents Chemother 1988; 32(8): 1107-12.
3. Asgari.S, Rafieian-kopaei.M, Pourgheysari.B, Ansari-Samani.R, Deris.F, Shahinfard.N, et al. Allium hirtifolium Boiss: Radical scavenging property and the lowering effects on blood fibrinogen and factor VII. Life Science Journal 2012; 9(3): 1793-8.
4. Setorki M, Nazari B, Asgary A, Azadbakht L, Rafieian-Kopaei M. Anti atherosclerotic effects of verjuice on hypocholesterolemic rabbits. Afr J Pharm Pharmacol 2011; 5(8): 1038-45.
5. Jafarzadeh L, Rafieian-Kopaei M, Ansari Samani R, Asgari A. The effect of hydroalcoholic extract of stachys lavandulifolia vahl on pregnant mice. EXCLI Journal 2012; 11: 357-62.
6. Sharafati-Chaleshtori R, Rafieian-Kopaei M, Mortezaei S, Sharafati-Chaleshtori A, Amini E. Antioxidant and antibacterial activity of the extracts of Echinophora platyloba D.C. Afr J Pharm Pharmacol 2012; 6(37): 2692-5.
7. Ghorbani A, Ehsanpour A, Roshanzamir N, Omidvar B. Alterations in antibiotic susceptibility of urinary tract infection pathogens. J Nephropathology 2012; 1(1): 43-8.
8. Khajehdehi P. Turmeric: Reemerging of a neglected Asian traditional remedy. J Nephropathology 2012; 1(1): 17-22.
9. Haghi G, Hatami A. Simultaneous Quantification of Flavonoids and Phenolic Acids in Plant Materials by a Newly Developed Isocratic High-Performance Liquid Chromatography Approach. J Agric Food Chem 2010; 58(20): 10812-16.
10. Middleton JE, Kandaswami C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity, in flammation and cancer. In: Harborne JB, editor. The Flavonoids: Advances in Research Since 1986.London, UK: Chapman & Hall/CRC; 1999. p. 619-52.
11. Chevallier A. The Encyclopedia of Medicinal Plants. London, UK: Dorling Kindersley, Limited; 1996.
12. Guenther E. The essential oils. Malabar, FL: Krieger Publishing. Company Malabar; 1952. p. 506.
13. Velioglu YS, Mazza G. Characterization of flavonoids in petals of Rosa damascena by HPLC and spectral analysis. J Agric Food Chem 1991; 39(3): 463-7.
14. Kalim MD, Bhattacharyya D, Banerjee A, Chattopadhyay S. Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of plants used in Unani system of medicine. BMC Complement Altern Med 2010; 10: 77.
15. Shoskes DA, Zeitlin SI, Shahed A, Rajfer J. Quercetin in men with category III chronic prostatitis: a preliminary prospective, double-blind, placebo-controlled trial. Urology 1999; 54(6): 960-3.
16. Edwards RL, Lyon T, Litwin SE, Rabovsky A, Symons JD, Jalili T. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. J Nutr 2007; 137(11): 2405-11.
17. Roghani M, Baluchnejad-Mojarad T. Endothelium-dependent and -independent vascular effect of the flavonoid quercetin in thoracic aorta of diabetic rats. Koomesh 2005; 6(3): 223-8.
18. Galkin AA, Sarkisian DA, Timin EN, Khodorov BI. Effect of papaverine on the tonus and contraction of depolarized taenia coli musculature in guinea pigs. Biull Eksp Biol Med 1978; 85(2): 177-80.
19. Zhang WJ, Chen BT, Wang CY, Zhu QH, Mo ZX. Mechanism of quercetin as an antidiarrheal agent. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao 2003; 23(10): 1029-31.
20. Mahmood N, Piacente S, Pizza C, Burke A, Khan AI, Hay AJ. The anti-HIV activity and mechanisms of action of pure compounds isolated from Rosa damascena. Biochem Biophys Res Commun 1996; 229(1): 73-9.
21. Ozkan G, Sagdiç O, Baydar NG, Baydar H. Note: Antioxidant and Antibacterial Activities of Rosa Damascena Flower Extracts. Food Science and Technology International 2004; 10(4): 277-81.
22. Rakhshandeh H, Ashraf Zadeh F, Habibollah E. Rose extract effect on muscle stiffness (spasticity) in the 2-8 year old children with cerebral palsy in children's hospital ward in Ghaem [PhD Thesis] Mashhad University of Medical Science; 2005. (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 13:55 +0430 on Wednesday August 2nd 2017

23. Perchellet JP, Gali HU, Perchellet EM, Laks PE, Bottari V, Hemingway RW, et al. Antitumor-Promoting Effects of Gallotannins, Ellagitannins, and Flavonoids in Mouse Skin In Vivo. In: Huang MT, Editor. Food phytochemicals for cancer prevention I: fruits and vegetables. Washington, DC: American Chemical Society; 1994. p. 303-27.
24. Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. Am J Physiol Cell Physiol 2005; 288(4): C769-C783.
25. Mandade RJ, Choudhury A, Harsulkar A, Wakade R. Role of the Rosa canina L. leaf extract as an antidiarrheal drug in rodents. Indian J Pharmacol 2011; 43(3): 316-9.
26. Sadraei H, Asghari G, Emami S. Effect of *Rosa damascena* Mill flower extract on rat ileum. Research in Pharmaceutical Sciences 2013; 8(4): 277-84.
27. Sedighi M, Rafieian-kopaei M, Noori-Ahmadabadi M. Effect of *Allium ampeloprasum* on ileum function: Involvement of beta-adrenergic receptors and voltage dependent calcium channels. Life Sci J 2012; 9(4): 1660-7.
28. Rakhshandeh H, Dolati K, Hosseini M, Esmaeili-Zadeh M. Analgesic and anti-inflammatory effects of extracts of rose (Rosa demascena) in mice and rats Herbal Pharmacology Research Center and Department of Pharmacology1102296811022968. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2004; 7(3): 151-6.
29. Storr M, Franck H, Saur D, Schusdziarra V, Allescher HD. Mechanisms of alpha, beta-methylene atp-induced inhibition in rat ileal smooth muscle: involvement of intracellular Ca2+ stores in purinergic inhibition. Clin Exp Pharmacol Physiol 2000; 27(10): 771-9.
30. Gray AC, White PJ, Coupar IM. Characterisation of opioid receptors involved in modulating circular and longitudinal muscle contraction in the rat ileum. Br J Pharmacol 2005; 144(5): 687-94.
31. Andersson A, Sundler F, Ekblad E. Expression and motor effects of secretin in small and large intestine of the rat. Peptides 2000; 21(11): 1687-94.
32. Bolton TB. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. Physiol Rev 1979; 59(3): 606-718.
33. El BS, Lyoussi B, Wibo M, Morel N. Comparative study of the antihypertensive activity of Marrubium vulgare and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat. Clin Exp Hypertens 2004; 26(6): 465-74.
34. Bianchi G, Ferretti P, Recchia M, Rocchetti M, Tavani A, Manara L. Morphine tissue levels and reduction of gastrointestinal transit in rats. Correlation supports primary action site in the gut. Gastroenterology 1983; 85(4): 852-8.
35. Van d, V, Rademaker B, Bast A. A beta adrenoceptor with atypical characteristics is involved in the relaxation of the rat small intestine. J Pharmacol Exp Ther 1990; 255(1): 218-26.
36. Kanada A, Hata F, Suthamnatpong N, Maehara T, Ishii T, Takeuchi T, et al. Key roles of nitric oxide and cyclic GMP in nonadrenergic and noncholinergic inhibition in rat ileum. Eur J Pharmacol 1992; 216(2): 287-92.
37. Borrelli F, Capasso R, Pinto A, Izzo AA. Inhibitory effect of ginger (Zingiber officinale) on rat ileal motility in vitro. Life Sci 2004; 74(23): 2889-96.
38. Fujimoto S, Mori M. Characterization of capsaicin-induced, capsazepine-insensitive relaxation of ileal smooth muscle of rats. Eur J Pharmacol 2004; 487(1-3): 175-82.
39. Zhang WW, Li Y, Wang XQ, Tian F, Cao H, Wang MW, et al. Effects of magnolol and honokiol derived from traditional Chinese herbal remedies on gastrointestinal movement. World J Gastroenterol 2005; 11(28): 4414-8.
40. Morales MA, Tortoriello J, Meckes M, Paz D, Lozoya X. Calcium-antagonist effect of quercetin and its relation with the spasmolytic properties of Psidium guajava L. Arch Med Res 1994; 25(1): 17-21.
41. Machha A, Achike FI, Mustafa AM, Mustafa MR. Quercetin, a flavonoid antioxidant, modulates endothelium-derived nitric oxide bioavailability in diabetic rat aortas. Nitric Oxide 2007; 16(4): 442-7.