

Antihypoxic Activities of Allium sativum Flower in Mice

Matin Shahbaze¹,
Mahsa Mohammadyan¹,
Mohammad Ali Ebrahimzadeh²

¹ Pharmacy Student, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Professor, Department of Medicinal Chemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received January 19, 2018 ; Accepted June 25, 2019)

Abstract

Background and purpose: Imbalance between low oxygen supply and oxygen demands determines organ hypoxia causing oxidative stress and finally lead to cell death. Compounds with antioxidant activity are able to exhibit antihypoxic property. *Allium sativum* has distinctive antioxidant activities, but to the best of our knowledge, there is no reports on the protective effect of flower of this plant against hypoxia. In this study, antihypoxic activities of this plant were evaluated.

Materials and methods: Protective effects of *A. sativum* flower methanolic extract against hypoxia-induced lethality in mice were evaluated by three experimental models. Analysis of variance was performed followed by Newman-Keuls multiple comparison test.

Results: Considerable protective activities were established in all models. Antihypoxic activity was pronounced in asphyctic model. *A. sativum* flower methanolic extract showed the same activity of the positive control; phenytoin, at 125 mg/kg ($P>0.05$). At 250 mg/kg it was significantly higher than phenytoin ($P<0.001$). Compared to control group, in haemic model, the extract significantly prolonged survival time in a dose dependent manner. At 125 mg/kg, the extract was capable of keeping the mice alive for 31.20 ± 5.68 min ($P<0.001$). At 62.5 mg/kg, it prolonged survival time ($P<0.05$). In circulatory model, the extract at 125 mg/kg significantly prolonged survival time ($P<0.05$) but was not found to be effective at 62.5 mg/kg ($P>0.05$).

Conclusion: Methanolic extract of *A. sativum* flower demonstrated strong protective effects against hypoxia in all three models.

Keywords: asphyctic hypoxia, haemic hypoxia, circulatory hypoxia, antihypoxia, *Allium sativum*

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (175): 145-149 (Persian).

* Corresponding Author: Mohammad Ali Ebrahimzadeh - Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: zadeh20@yahoo.com)

ارزیابی فعالیت آنتی هیپوکسی گل سیر در موش سوری

متین شهبازی^۱مهسا محمدیان^۱محمد علی ابراهیم زاده^۲

چکیده

سابقه و هدف: عدم تعادل بین عرضه کم و مصرف زیاد اکسیژن منجر به هیپوکسی بافتی شود که با ایجاد استرس اکسیدتیو، عموماً مرگ سلولی ایجاد می‌شود. ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌توانند فعالیت آنتی‌هیپوکسی نشان دهند. سیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی دارد، اما فعالیت آنتی‌هیپوکسی گل این گیاه گزارش نشده است. در این تحقیق فعالیت آنتی‌هیپوکسی گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: اثر محافظتی عصاره متانلی گل سیر در مقابل مرگ و میر ناشی از هیپوکسی در موش سوری با سه مدل هیپوکسی بررسی شد. آنالیز واریانس یک سویه و متعاقب آن نیومن کولز به منظور تعیین اختلاف بین میانگین‌ها به کار رفت. **یافته‌ها:** اثرات محافظتی بالایی در تمامی مدل‌ها به اثبات رسید. اثرات به خصوص در مدل خفگی بسیار بالا بود. عصاره در دوز ۱۲۵ mg/kg، اثری معادل فنی توئین از خود نشان داد ($P > 0/05$). در دوز ۲۵۰ mg/kg، بسیار قوی‌تر از فنی توئین بود ($P < 0/001$). در هیپوکسی، به طور معنی‌دار و وابسته به دوز، زمان زنده ماندن نسبت به کنترل افزایش یافت. دوز ۱۲۵ mg/kg زمان مرگ را نسبت به گروه کنترل به تاخیر انداخت ($31/20 \pm 5/68$ ، $P < 0/001$). در دوز ۶۲/۵ mg/kg نیز زمان زنده ماندن را افزایش داد ($P < 0/05$). در مدل جریان خونی، عصاره در دوز ۱۲۵ mg/kg، زمان زنده ماندن را افزایش داد ($P < 0/05$)، اما در دوز ۶۲/۵ mg/kg، تاثیری نداشت ($P > 0/05$). **استنتاج:** عصاره متانلی گل سیر، اثر محافظتی (در مدل هیپوکسی) بسیار خوبی در تمامی مدل‌های هیپوکسی در موش از خود نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: هیپوکسی خفگی، هیپوکسی خونی، هیپوکسی جریان خون، آنتی‌هیپوکسی، سیر

مقدمه

مشکلات به کار می‌روند (۱). هیپوکسی تغییرات زیادی را در فعالیت آنزیم‌ها ایجاد می‌کند که این امر در مواقعی مانند ایسکمی، خونریزی، سکتة بروز می‌کند. یافتن درمانی که موجب کاهش مرگ و میر ناشی از آن شود ضروری به نظر می‌رسد (۲). هیپوکسی موجب القاء تولید بیش از حد نیتریک اکساید، تولید آنزیم نیتریک اکساید و افزایش پراکسیداسیون چربی می‌گردد. شواهد

کمبود اکسیژن در بافت‌های مختلف از جمله مغز می‌تواند به تغییرات زیان‌آور در ساختار و عملکرد آن بافت منجر شود. هر ترکیبی که باعث پایداری و مقاومت بافت‌ها در مقابل هیپوکسی گردد، از نظر درمانی قابل توجه خواهد بود (۱). هیپوکسی عامل ایجاد بسیاری از مشکلات مغزی و بیماری‌های قلبی-عروقی است. ترکیبات آنتی‌هیپوکسی به منظور پیشگیری و درمان این

E-mail: zadeh20@yahoo.com

مؤلف مسئول: محمد علی ابراهیم زاده - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

۱. دانشجوی داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استاد، گروه شیمی دارویی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۷/۱۰/۳۰ تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۴/۴

در هیپوکسی خفگی، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی، حیوان در یک محفظه شیشه‌ای درسته و مهر و موم شده توسط پارافیلیم، به حجم ۳۰۰ ml قرار گرفت. موش‌ها بر اثر کمبود اکسیژن محیط، دچار تشنج شده و مردند. اثر ضد هیپوکسی عصاره به صورت زمان زنده بودن موش بیان شد. از نرمال سالین به عنوان کنترل منفی و از فنی توئین (i.p 50 mg/kg) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۷). از نیتريت سدیم به عنوان عامل ایجاد کننده هیپوکسی خونی استفاده شد. ۳۰ دقیقه بعد از تزریق ip دوزهای مورد نظر از عصاره NaNO_2 (۳۶۰ mg/kg) تزریق شد. اثر ضد هیپوکسی به صورت زمان زنده ماندن در مقایسه با گروه کنترل بیان گردید (۷). از NaF بعنوان عامل ایجاد کننده هیپوکسی وابسته به گردش خون استفاده شد. ۳۰ دقیقه بعد از تزریق ip دوزهای مورد نظر از عصاره به هر موش NaF (۱۵۰ mg/kg) تزریق شد و زمان زنده ماندن در مقایسه با کنترل سنجیده شد (۷). آنالیز واریانس یک سویه (ANOVA) و متعاقب آن نیومن کولز برای مقایسه میانگین‌ها به کار رفت. نتایج با احتمال $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها و بحث

نتایج حاصل از تزریق نیتريت سدیم در نمودار شماره ۱ آمده است. عصاره با دوز ۱۲۵ mg/kg در هیپوکسی خونی نسبت به گروه کنترل فعالیت قابل توجهی از خود نشان داد و زمان مرگ را به تاخیر انداخت ($31/20 \pm 5/68$ mg/kg) در مقابل ($62/5$ mg/kg) در دوز $11/83 \pm 0/77$ mg/kg ($P < 0.001$). در دوز $62/5$ mg/kg نیز موثر بود ($P < 0.05$).

نتایج حاصل از تزریق سدیم فلوراید در نمودار شماره ۲ آمده است. عصاره در دوز ۱۲۵ mg/kg زمان زنده ماندن را افزایش داد ($18/40 \pm 6/15$ mg/kg) در مقابل $11/15 \pm 2/67$ mg/kg دقیقه برای گروه کنترل ($P < 0.05$) اما در دوز $62/5$ mg/kg تاثیری نداشت ($P > 0.05$).

نشان می‌دهند مهارکننده‌های نیتريك اکساید سنتاز موجب کاهش پراکسیداسیون چربی می‌گردند (۲). بر این اساس، به دام اندازی نیتريك اکساید اثر ضد هیپوکسی خواهد داشت. هیپوکسی موجب افزایش قابل ملاحظه ذرات فعال اکسیژن می‌گردد، بنابراین آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان آنتی‌هیپوکسی مطرح هستند (۳). اخیراً از گیاه گزنه (۴)، زولنگ (۵) و قارچ زرد کیجا (۶) اثرات آنتی‌اکسیدانی خوبی گزارش شده و در همین راستا، فعالیت آنتی‌هیپوکسی مناسبی نیز از همین گیاهان چاپ شده است (۷، ۸). به نظر می‌رسد گزارش وجود اثر آنتی‌هیپوکسی توانسته است مکانیسم جدیدی برای بروز اثرات قلبی عروقی این گیاهان ارائه دهد.

جنس آلیوم *Allium* دارای اثرات فراوانی هستند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت بالای به دام اندازی رادیکال آزاد نیتريك اکساید از چندین گونه گزارش شده است (۹-۱۱). علی‌رغم فعالیت خوب آنتی‌اکسیدانی و به دام اندازی نیتريك اکساید، فعالیت آنتی‌هیپوکسی از گل سیر گزارش نشده است. در این تحقیق، فعالیت آنتی‌هیپوکسی عصاره گل سیر *A. sativum* در سه روش (Circulatory، Asphyctic، Haemic) مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

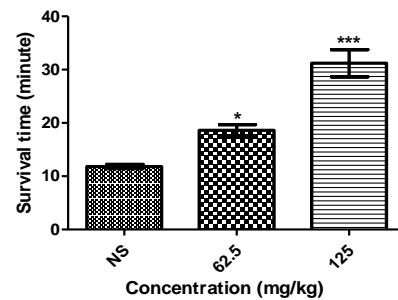
موش‌های سوری نر با سن ۸-۱۰ هفته‌ای از بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران هیه شد. در هر گروه، ۶ سر موش با وزن ۲۰-۲۵ گرم در وضعیت کنترل شده‌ی درجه حرارت و روشنایی نگهداری شد. پودر غذا و آب جهت تغذیه در دسترس آن‌ها قرار گرفت. محلول‌هایی از عصاره متانلی گل سیر با غلظت ۳۱/۲۵، ۶۲/۵ و ۱۲۵ mg/kg در نرمال سالین بر اساس تجارب قبلی تهیه شد (۷، ۸). در هر تست، دوز ۶۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورد استفاده قرار گرفت و سپس حسب میزان پاسخ، دوز بعدی افزایش یا کاهش یافت. در هر تست، دو دوز به کار رفت.

فعالیت آنتی هیپوکسیک بسیار خوبی در هر سه مدل خفگی، خونی و جریان خونی از *Hypericum scabrum* گزارش شده است. عصاره این گیاه در دوز ۷/۷۵ mg/kg زمان مرگ را در مدل خفگی از ۲۶ دقیقه برای گروه کنترل به ۳۳ دقیقه افزایش داد. در دو مدل دیگر نیز موجب طولانی تر شدن زمان مرگ در دوز ۳۱/۲۵ mg/kg شده است ($p < 0/001$) (۱۲). فعالیت آنتی هیپوکسیکی در دو مدل هیپوکسی خونی و جریان خونی از دانه گیاه *Hibiscus esculentus* گزارش شده است. این عصاره در دوزهای ۱۰۰۰-۲۵۰ mg/kg زمان مرگ را در مدل خونی از ۱۰ به ۲۲ دقیقه و در مدل جریان خونی از ۹ دقیقه به ۱۸ دقیقه افزایش داده است ($P < 0/001$) (۱۳). اثرات آنتی هیپوکسیک *Delphinium Elbursense* قوی و وابسته به دوز گزارش شده است. عصاره این گیاه در دوزهای ۱۲۵-۳۱/۲۵ mg/kg زمان مرگ را در موش در مدل خونی از ۱۱ به ۱۹ دقیقه و در مدل جریان خونی از ۹ به ۱۷ دقیقه افزایش داده است ($P < 0/001$) (۱۴). در گزارشی دیگر، در مدل خفگی عصاره گیاه *Allium ampeloprasum* در دوز ۲۵۰ mg/kg به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه کنترل زمان مرگ را به تعویق انداخت ($p < 0/001$) (۱۱). در تحقیق قبلی، در مدل هیپوکسی خونی، عصاره *A. ampeloprasum* در دوز ۵۰۰ mg/kg زمان زنده ماندن موش‌ها را نسبت به گروه کنترل به طور قابل توجه‌ای افزایش داد ($P < 0/001$). در مدل هیپوکسی گردش خون نیز با دوز ۵۰۰ mg/kg به طور معنی‌داری زمان مرگ را به تأخیر انداخت ($P < 0/05$) (۱۱). عصاره ویسه آکراکا نیز در دوز ۲۰۰ mg/kg زمان بقاء موش در مدل خفگی را افزایش داد ($P < 0/01$). در همین دوز در مدل خونی ($P < 0/01$) و در مدل جریان خونی کاملاً موثر بود ($P < 0/01$) (۱).

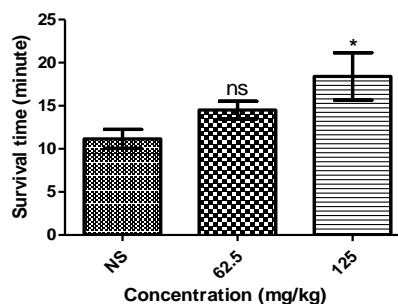
سپاسگزاری

این مقاله، حاصل پایان نامه دوره دکترای حرفه‌ای

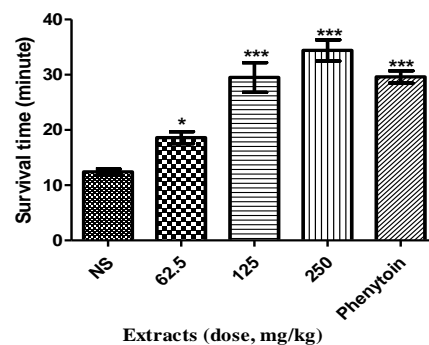
نتایج حاصل از هیپوکسی خفگی در نمودار شماره ۳ آمده است. فنی توئین به‌عنوان کنترل مثبت به کار رفت. عصاره در دوز ۱۲۵ mg/kg اثری معادل فنی توئین از خود نشان داد ($29/50 \pm 6/56$ mg/kg) در مقابل 250 mg/kg ($P > 0/05$). در دوز $29/60 \pm 2/51$ mg/kg عصاره بسیار قوی‌تر از فنی توئین بود ($p < 0/001$).



نمودار شماره ۱: فعالیت آنتی هیپوکسی عصاره متانولی گل سیر در هیپوکسی خونی در موش سوری نر



نمودار شماره ۲: فعالیت آنتی هیپوکسی عصاره متانولی گل سیر در هیپوکسی جریان خونی در موش سوری نر



نمودار شماره ۳: فعالیت آنتی هیپوکسی عصاره گل سیر در هیپوکسی خفگی در موش سوری نر

محترم تحقیقات و فناوری آن واحد (کد طرح ۲۶۸۸) تشکر می‌گردد.

خانم متین شهبازی در دانشکده داروسازی رامسر می‌باشد که بدین وسیله از حمایت مالی حوزه

References

1. Shahnazi R, Ebrahimzadeh MA. Protective effects of methanolic extract of *Vicia cracca* against hypoxia-induced lethality in mice. *Mazums-pbr* 2017; 3(4): 14-17.
2. Kiang JG, Tsen KT. Biology of hypoxia. *Chin J Physiol* 2006; 49(5): 223-233.
3. Armstrong D. *Methods in Molecular Biology In: Advanced Protocols in Oxidative Stress II*. New York: Humana Press; 2010. p. 28.
4. Ebrahimzadeh MA, Gharekhani M, Ghorbani M, Dargany P. Effect of extract of aerial parts of *Urtica dioica* (Urticaceae) on the stability of soybean oil. *Trop J Pharm Res* 2015; 14(1): 125-131.
5. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM. Antioxidant activity of leaves and inflorescence of *Eryngium caucasicum* Trautv at flowering stage. *Pharmacog Res* 2009; 1(6): 435-439.
6. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Eslami Sh. Antioxidant and free radical scavenging activities of culinary-medicinal mushrooms, golden chanterelle *Cantharellus cibarius* and angel's wings *Pleurotus porrigens*. *Int J Med Mushrooms* 2010; 12(3): 265-272.
7. Khalili M, Dehdar T, Hamedi F, Ebrahimzadeh MA, Karami M. Antihypoxic activities of *Eryngium caucasicum* and *Urtica dioica*. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19(17): 3282-3285.
8. Khalili M, Ebrahimzadeh MA, Omrani F, Karami M. Antihypoxic activities of the golden chanterelle mushroom, *Cantharellus cibarius* (Higher Basidiomycetes). *Int J Med Mushrooms* 2014; 16(4): 339-344.
9. Assadpour S, Nabavi SM, Nabavi SF, Dehpour AA, Ebrahimzadeh MA. In vitro antioxidant and antihemolytic effects of the essential oil and methanolic extract of *Allium rotundum* L. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016; 20(24): 5210-5215.
10. Nabavi SF, Nabavi SM, Ebrahimzadeh M A, Eslami B, Jafari N. In vitro antioxidant and antihemolytic activities of hydroalcoholic extracts of *Allium scabriscapum* Boiss. & Ky. aerial parts and bulbs. *Int J Food Prop* 2013; 16(4): 713-722.
11. Shahnazi R, Mehrdadfar F, Ebrahimzadeh MA. Impact of extraction methods on total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antihypoxic properties of *Allium ampeloprasum* in Mice. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2018; 27(158): 27-44 (Persian).
12. Eslami B, Nabavi SF, Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Mahmoudi M. Pharmacological activities of *Hypericum scabrum* L. *Eur Rev Med Pharm Sci* 2011; 15(5): 532-537.
13. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM, Eslami B. Antihypoxic and antioxidant activity of *Hibiscus esculentus* seeds. *Grasas Y Aceites* 2010; 61(1): 30-36.
14. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM, Mahmoudi M, Eslami B and Dehpour AA. Biological and pharmacological effects of *Delphinium elbursense*. *Afr J Biotechnol* 2010; 9(34): 5548-5555.