

Evaluation of Antihypoxic Activities of Feijoa Sellowiana, Nepeta Pogonosperma and Cucumis Melo in Mice

Amin Barani¹,
Farzaneh Motafeghi²,
Mohammad Eghbali¹,
Dorri Mansourian³,
Sina Mirzaalilou³,
Pourya Dadollahi Sarab³,
Mohammad Ali Ebrahimzadeh⁴

¹ Doctor of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² PhD student of Toxicology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Pharmacy Student, Ramsar International Campus, Pardis School of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar, Iran

⁴ Professor of Medicinal Chemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received February 26, 2023 ; Accepted July 23, 2023)

Abstract

Background and purpose: Hypoxia can lead to body function impairment and may cause a variety of physiological abnormalities. Hypoxia is linked to the pathology of acute mountain sickness, cardiovascular disease, and stroke, and is the leading cause of death in many countries. *Feijoa sellowiana*, *Nepeta pogonosperma*, and *Cucumis melo* are plants with good antioxidant activities.

Materials and methods: Protective effects of *F. sellowiana*, *N. pogonosperma* fruits and *C. melo* aerial parts against hypoxia-induced lethality in mice were evaluated by three experimental models of hypoxia, including asphyctic, haemic, and circulatory models.

Results: *F. sellowiana*, and *N. pogonosperma* extracts had good protective effects and increased the survival time of male mice even at their lowest doses, 31.25 and 62.5 mg/kg. In all the models, they were effective at low doses and showed a similar degree of efficacy as propranolol and phenytoin, which were used as positive controls. *C. melo* fruit extract showed a weak effect in these tests. It was effective only in the dose of 250 mg/kg in blood circulatory model of hypoxia.

Conclusion: Extracts showed very good protective effects against hypoxia in all the hypoxic models. Even at low doses, they were able to show the same activity of positive controls. It seems that these plants have a good potential for the treatment of hypoxic conditions.

Keywords: asphyctic hypoxia, haemic hypoxia, circulatory hypoxia, *Feijoa sellowiana*, *Nepeta pogonosperma*, *Cucumis melo*

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (226): 14-27 (Persian).

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

فعالیت آنتی هیپوکسی فی جوآ، پونه سا و خربزه وحشی در موش سوری

امین بارانی¹
فرزانه متقی²
محمد اقبالی¹
درین منصوریان³
سینا میرزا علیلو³
پوریا داداللهی ساراب³
محمد علی ابراهیم زاده⁴

چکیده

سابقه و هدف: هیپوکسی می تواند منجر به اختلال در عملکرد بدن شود و ممکن است باعث ناهنجاری های فیزیولوژیکی متعدد شود. هیپوکسی با پاتولوژی بیماری کوه گرفتگی، بیماری قلبی عروقی و سکنه مغزی مرتبط است که منجر به مرگ در بسیاری از کشورها می شود. فی جوآ، پونه سا و خربزه وحشی گیاهانی هستند که فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی دارند.

مواد و روش ها: اثر محافظتی عصاره متانلی میوه فی جوآ، میوه خربزه وحشی و اندام هوایی پونه سا در مقابل مرگ و میر ناشی از هیپوکسی در موش سوری نر با سه مدل هیپوکسی خفگی، خونی و جریان خونی بررسی شد.

یافته ها: عصاره فی جوآ و پونه سا در تمامی تست های آنتی هیپوکسی، در مدل های خونی، گردش خونی و خفگی توانستند اثرات محافظتی خوبی در افزایش زمان زنده ماندن موش های سوری نر حتی در پایین ترین دوزهای استفاده شده، 31/25 و 62/5 mg/kg از خود نشان دهند. در تمامی مدل ها در دوزهای پایین موثر بوده و اثری مشابه پروپرانولول و فنی توئین که به عنوان کنترل مثبت به کار رفتند، از خود نشان دادند. عصاره میوه خربزه اثر ضعیفی در این تست ها از خود نشان داد. تنها در دوز 250mg/kg در هیپوکسی گردش خونی موثر بود.

استنتاج: عصاره فی جوآ و پونه سا فعالیت محافظتی بسیار خوبی در تمامی مدل ها از خود نشان دادند و حتی در دوزهای پایین اثری مشابه کنترل مثبت از خود نشان دادند. به نظر می رسد این گیاهان پتانسیل خوبی برای استفاده در شرایط هیپوکسی را داشته باشند.

واژه های کلیدی: هیپوکسی خفگی، هیپوکسی خونی، هیپوکسی جریان خون، فی جوآ، پونه سا، خربزه وحشی

مقدمه

خونی یا خون ریزی و مسمومیت های سلولی از عوامل ایجادکننده هیپوکسی است. این نوع از کاهش اکسیژن، سرآغاز بسیاری از مشکلات، تخریب های بافتی و مرگ و میرها در بیماری های قلبی - عروقی است.

کاهش میزان اکسیژن در بافت های بدن در نتیجه تغییر در انجام تنفس طبیعی، هیپوکسی نام دارد. کاهش در اکسیژن شریان منتهی به بافت به شکل خفگی، اختناق و سیانوز نمایان می شود. به طور کلی، کمبود اکسیژن، کم

مؤلف مسئول: محمدعلی ابراهیم زاده - ساری، کیلومتر 17 جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: zadeh20@yahoo.com

1. دکتر داروساز، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. دستیار سم شناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. دانشجوی داروسازی، واحد پردیس رامسر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، رامسر، ایران

4. استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1401/12/7 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1401/12/13 تاریخ تصویب: 1402/5/1

زرد کیجا(14)، گیاه ولیک(15)، پلم و گیاه مورد(16) به چاپ رسیده است. برخی از این گیاهان، مانند گزنه، گیاه شناخته شده‌ای در مصارف قلبی عروقی بوده(17) که به نظر می‌رسد گزارش وجود اثر آنتی‌هیپوکسی توانسته است مکانیسم جدیدی برای بروز این اثرات مفید ارائه دهد.

تاثیر دگزامتازون در درمان کووید-19 (نیازمند اکسیژن) در بیماران متوسط تا شدید تایید شده است. این دارو در گایدلاین موسسه ملی سلامت امریکا NIH و سازمان بهداشت جهانی WHO مورد استفاده قرار می‌گیرد و تا این لحظه این دارو یکی از داروهای موثر در درمان کووید-19 می‌باشد. دگزا متازون مرگ بیماران کووید-19 بستری و نیازمند اکسیژن (بدون ونتیلاتور) و تحت ونتیلاسیون را به ترتیب حدود 18 و 36 درصد کاهش داده است(18). از آن‌جا که دگزامتازون در بیماران بدون نیاز به حمایت اکسیژن سودی نداشته و موثر نبوده(19)، استراتژی جدیدی در درمان کووید-19 پیشنهاد شده است. این استراتژی مبتنی بر عملکرد دگزامتازون به‌عنوان یک آنتی‌هیپوکسی و پیشنهاد استفاده از آنتی‌هیپوکسی‌ها در درمان کووید-19 بود(20). بر همین اساس، فعالیت بالای آنتی‌هیپوکسی دگزامتازون به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های احتمالی عملکرد این دارو در درمان کووید-19 گزارش شده است(21). گیاهان دارویی مهم‌ترین منبع دارو برای مردم در سراسر جهان هستند. حدود 50 درصد داروهای تولید شده در جهان منشاء طبیعی دارند(22). طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی، حدود 80 درصد از مردم به داروهای سنتی مانند داروهای گیاهی که در بسیاری از فرمول‌های دارویی مدرن یافت می‌شوند، تکیه می‌کنند(23).

نپتا دارای حدود 300 گونه است که در اروپا و آسیا پراکنده شده است. حدود 67 گونه از جنس *Nepeta* در ایران یافت شده است که گونه *N. pogonosperma* از گونه‌های انحصاری ایران در منطقه الموت می‌باشد(24، 25). این گونه به‌عنوان یک گونه جدید در سال 1984

در صورتی که اقدامات درمانی برای کنترل این عارضه صورت نگیرد، مرگ یا آسیب جدی به بیمار را به همراه دارد(1). هیپوکسی معمولاً در معضلاتی چون آسیب‌های ایسکمیک، خون‌ریزی‌ها، سکته‌های قلبی - عروقی و یا مغزی، تولد نوزاد نارس و سایر مشکلات قلبی عروقی بروز می‌کند. از این رو دست یافتن به روش‌هایی جهت کنترل این عوارض ضروری به نظر می‌رسد(2). کاهش اکسیژن مغزی منجر به عوارض خطرناکی در ساختار و عملکرد بافت مغزی می‌شود که بر این اساس ترکیباتی که باعث پایداری و مقاومت مغز در مقابل ایسکمی یا هیپوکسی شوند از منظر درمانی قابل توجه خواهند بود(3). ترکیبات آنتی‌هیپوکسی به منظور پیشگیری و درمان این مشکلات به کار می‌روند(4). تاکنون مکانیسم دقیقی از آسیب‌های ناشی از هیپوکسی و مرگ سلولی معرفی نشده است، اما به نظر می‌رسد که هیپوکسی موجب القای بیش از حد تولید نیتریک اکساید و آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (iNOS) می‌شود. براساس شواهد موجود، فاکتورهایی که به‌عنوان علت ترانس کریپشن iNOS شناخته می‌شوند، در هیپوکسی تغییر می‌یابند. شواهد نشان می‌دهند که Down regulation نیتریک اکساید سنتاز می‌تواند آسیب‌های سلولی ناشی از هیپوکسی را کاهش دهد(5). با توجه به روند پیشروی سلولی هیپوکسی به نظر می‌رسد که به دام‌اندازی نیتریک اکساید اثر ضد هیپوکسی خواهد داشت. از آن‌جا که ثابت شده است که هیپوکسی باعث افزایش ذرات فعال اکسیژن می‌شود(6) آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان آنتی‌هیپوکسی مطرح خواهند شد. در این میان با توجه به ترکیباتی با منشأ گیاهی که توانایی اثرگذاری آنتی‌هیپوکسیک قابل ملاحظه‌ای را داشته باشند، به تازگی از تعدادی از گیاهان از جمله گزنه(7)، زولنگ(8)، قارچ زرد کیجا(9)، گیاه ولیک(10)، پلم(11) و گیاه مورد (میرتل)(12) اثرات آنتی‌اکسیدانی خوبی گزارش شده است و در همین راستا فعالیت آنتی‌هیپوکسی جالبی نیز از همین گیاهان، گزنه و زولنگ(13)، قارچ

نشده است، تصمیم گرفته شد در قالب یک غربالگری، در ادامه کار به سوی کشف ترکیبات طبیعی و گیاهان موثر در کووید-19، فعالیت آنتی هیپوکسی این سه گیاه در سه روش (Circulatory و Asphyctic، Haemic) مورد بررسی قرار گیرد. وجود اثرات ضد التهابی و آنتی هیپوکسی در یک گیاهان پتانسیل استفاده از آنها را در درمان کووید-19 بالا می برد.



تصویر شماره 1: میوه فی جوآ (بالا)، اندام هوایی پونه سا (وسط) و میوه خربزه وحشی (پایین).

مواد و روش ها

حیوانات مورد استفاده

از موش های سوری نر با وزن 20-25 گرم که از

شناسایی شده است (26) (تصویر شماره 1). اثرات آنتی اکسیدانی خوب از این گیاه گزارش شده است (25). cineole و nepetalactone ترکیبات اصلی در اسانس این گونه است (27) که اثر ضد التهابی این ترکیبات مورد بررسی قرار گرفته است (28). فی جوآ *Acca sellowiana* گیاهی است از خانواده میرتاسه که به طور عمده در کشورهای حاره ای و تحت حاره کشت می شود. میوه آن بوی مطبوعی داشته و به صورت خام، آبمیوه، مربا و یا ژله به مصرف می رسد (تصویر شماره 1). میوه فی جوآ اثر ضد میکروبی قوی و آنتی اکسیدانی خوبی از خود نشان داده است (29، 30). اثر ضد دردی و ضد التهابی از عصاره میوه و برگ فی جوآ گزارش شده است (31). با توجه به خواص فیزیولوژیک خوب (اثرات ضد میکروبی، اثر آنتی اکسیدانی، فعالیت ضد التهابی)، پتانسیل بازسازی برای ترمیم زخم حاد و سرکوب التهاب حاصل از زخم نیز به تازگی از این گیاه گزارش شده است (32).

خربزه وحشی (*wild melons*) از جنس *Cucumis* و خانواده Cucurbitaceae است که در آفریقا و آسیا قابل مشاهده هستند. آن ها با برگ ها و گل های کوچک، ساقه هایی با قطر کم و شاخه های متعدد مشخص می شوند. میوه ها بیضی شکل، گاهی گرد، کوچک (20 تا 50 گرم) و صاف هستند. پوست میوه معمولاً سبز روشن با نقاط یا راه راه های سبز تیره و بدون بخیه است (33) (تصویر شماره 1). خربزه نارس به صورت تازه در سالاد، به صورت پخته شده یا ترشی استفاده می شود و میوه رسیده آن به صورت تازه به عنوان میوه دسر یا به صورت کنسرو شده یا به صورت شربت و مربا مصرف می شود (34). خربزه وحشی دارای خواص دارویی مفیدی مانند ضد زخم، ضد درد، ضد التهاب، حذف رادیکال های آزاد، آنتی اکسیدان، مدر، ضد پلاکت، ضد میکروبی، محافظ کبد، ضد دیابت و ضد سرطان است (35). به طور سنتی از این گیاه به عنوان رژیم دیابتی استفاده می شود (36). نظر به فعالیت آنتی اکسیدانی خوب این سه گیاه و این که تاکنون فعالیت آنتی هیپوکسی از این گیاهان گزارش

موش‌ها بر اثر کمبود اکسیژن محیط (هیپوکسی) تشنج گرفته و مردند. اثر ضد هیپوکسی عصاره‌ها به صورت زمان زنده بودن موش (به دقیقه) بیان شد. از نرمال سالین به عنوان کنترل منفی و از فنی توئین 50 mg/kg i.p به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (13-16). در این تست در هر گروه از 5 موش استفاده شد.

هیپوکسی خونی

در این روش از نیتريت سدیم به عنوان عامل ایجادکننده هیپوکسی خونی استفاده شد. دوزهای $31/25$ ، $62/5$ ، 125 و 250 mg/kg از عصاره‌ها در نرمال سالین به کار رفت. 30 دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی دوزهای موردنظر از هر عصاره به موش، NaNO_2 (360 mg/kg) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. اثر ضد هیپوکسی عصاره‌ها به صورت زمان زنده ماندن در مقایسه با گروه کنترل نرمال سالین بیان شد (13-16). در این تست در هر گروه 5 موش استفاده شد. پروپرانولول 20 میلی گرم بر کیلوگرم به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

هیپوکسی وابسته به گردش خون

در این روش از سدیم فلورید به عنوان عامل ایجادکننده هیپوکسی وابسته به گردش خون، استفاده شد. دوزهای $31/25$ ، $62/5$ ، 125 و 250 mg/kg از عصاره‌ها در نرمال سالین به کار رفت. 30 دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی دوزهای مورد نظر از هر عصاره به هر موش NaF با دوز 150 mg/kg به صورت داخل صفاقی تزریق گردیده و درصد فعالیت عصاره‌ها در مقابل کنترل به صورت زمان زنده ماندن در مقایسه با نرمال سالین سنجیده شد. در این تست در هر گروه 5 موش استفاده شد (13-16). از پروپرانولول 30 میلی گرم بر کیلوگرم به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

تعیین محتوای تام فنولی و فلاونوئید

محتوای تام فنولی از طریق متد فولین سیو کالتیو انجام شد (37). غلظت 1 mg/ml از عصاره تهیه شد. $0/5$

اینستیتو پاستور آمل تهیه شده بود استفاده شد. موش‌ها در شرایط کنترل شده 12 ساعت نور و 12 ساعت تاریکی در دمای متوسط 25 ± 2 درجه سانتی گراد به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش نگهداری شدند تا به شرایط عادت کنند. هم چنین دسترسی به آب و غذا برای همه موش‌ها فراهم شد. کلیه مراحل انجام طرح به تایید کمیته اخلاق دانشگاه رسیده است.

تهیه نمونه و عصاره گیری و آماده سازی نمونه‌ها

نپتا از الموت، فی جوآ از رامسر و خربزه وحشی از روستای تیرکلای ساری جمع آوری و توسط دکترای سیستماتیک گیاهی تأیید شد. نمونه هر یاریومی در دانشکده بیولوژی دانشگاه آزاد قائم شهر (به شماره هر یاریومی 7-1295) نگهداری می شود. عصاره گیری با متانول به شکل خیساندن (ماسیراسیون) انجام شد. در این روش 30 گرم از پودر خشک شده هر گیاه با حدود 80 میلی لیتر متانول مخلوط شد. مجموعه به مدت 24 ساعت رها شد. روز بعد فاز آلی جدا و مجدداً متانول جدید اضافه شد. این عمل برای سه بار تکرار شد. در روز سوم، مجموعه حلال‌ها توسط دستگاه روتاری (تبخیر کننده چرخان) حذف شد. از عصاره‌ها محلول‌هایی با دوزهای $31/25$ ، $62/5$ ، 125 و 250 mg/kg در نرمال سالین تهیه شد. این محلول‌ها در تست‌های زیر به کار رفت. اساس انتخاب دوز اولیه، تجارب در کارهای قبلی انجام شده بود (13-16). در هر تست دوز $62/5$ میلی گرم بر کیلوگرم مورد استفاده قرار گرفت و سپس حسب میزان پاسخ، دوز بعدی افزایش یا کاهش یافت. در هر تست، حداقل دوز به کار رفت.

هیپوکسی خفگی

دوزهای $31/25$ ، $62/5$ ، 125 و 250 mg/kg از عصاره‌ها در نرمال سالین به کار رفت. 30 دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی دوزهای موردنظر از هر عصاره، حیوان در یک محفظه شیشه‌ای در بسته و مهر و موم شده توسط پارافیلیم، به حجم 300 میلی لیتر قرار گرفت. از مقداری آهک در پارچه توری به عنوان جاذب CO_2 استفاده شد.

میلی لیتر از عصاره با 2/5 میلی لیتر واکنش گر 0/2 نرمال فولین سیو کالتیو مخلوط شد و به مدت 5 دقیقه هم زده شد. سپس 2 میلی لیتر محلول کربنات سدیم با غلظت 7/5 درصد اضافه شد. جذب نمونه پس از 2 ساعت در دمای اتاق توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ماوراءبنفش در 760 نانومتر اندازه گیری شد. گالیک اسید به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. نتیجه به صورت میلی گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره (GAE) بیان شد. آزمایشات برای عصاره و استاندارد 3 بار تکرار شد. میزان محتوای تام فلاونوئید هر عصاره از طریق روش های رنگ سنجی ارزیابی شد (38). غلظت 1 mg/ml از عصاره تهیه شد. 0/5 میلی لیتر از نمونه در 1/5 میلی لیتر متانول حل شد. سپس 0/1 میلی لیتر آلومینیوم کلراید 10 درصد به آن اضافه شد، سپس 0/1 میلی لیتر از محلول پتاسیم استات 1 مولار و در نهایت 2/8 میلی لیتر آب مقطر هم به آن اضافه شد و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و سپس جذب مخلوط حاصل در طول موج 415 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی - ماوراءبنفش اندازه گیری شد. کوئرستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. میزان فلاونوئید به صورت میلی گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد (QE). آزمایشات 3 بار تکرار شد و میانگین آن ها گزارش شد.

آنالیز آماری

کلیه اطلاعات به صورت Mean \pm SD گزارش شد. آنالیز واریانس یک سویه (ANOVA) و متعاقب آن Newman-Keuls multiple comparisons test برای مقایسه میانگین ها به کار رفت. نتایج با احتمال $P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد. برای انجام برنامه های آماری از برنامه پریم (GraphPad Prism 8) استفاده شد.

یافته ها

محتوای تام فنلی عصاره اندام هوایی پونه سا، میوه خربزه وحشی و میوه فی جوآ به ترتیب حاوی

هیپوکسی خفگی

عصاره متانولی اندام هوایی پونه سا اثر خیلی خوبی در این تست نشان داد. گرچه در دوز 31/25 mg/kg، تاثیری بر زمان مرگ موش ها نداشت اما در دوز 62/5 mg/kg، زمان مرگ را موش ها 10/3 دقیقه افزایش داد که این افزایش از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0/01$). در دوز 250 mg/kg زمان مرگ در موش ها را حدودا به دو برابر افزایش داد ($P < 0/0001$). در این مدل، فنی توئین به عنوان کنترل مثبت به کار رفت. زنده ماندن در گروه های دریافت کننده فنی توئین $5/60 \pm 55/03$ دقیقه بود که تفاوت معنی داری با گروه کنترل داشت ($P < 0/0001$). عصاره در بالاترین دوز تست شده خود، 250 mg/kg توانست اثری مشابه فنی توئین ایجاد کند ($P > 0/05$).

عصاره فی جوآ اثر بسیار خوبی در این تست نشان داد. عصاره در 31/25 mg/kg، موجب افزایش معنی دار زمان زنده ماندن موش ها شد ($P > 0/05$). در دوز 62/5 mg/kg، زمان مرگ را 16/4 دقیقه افزایش داد ($P < 0/0001$). با افزایش دوز تجویز عصاره، زمان بقاء نیز افزایش یافت. زنده ماندن در گروه های دریافت کننده عصاره در دوز 62/5 mg/kg توانست اثری مشابه با گروه دریافت کننده فنی توئین ایجاد کند. در این دوز بین اثر این دو اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P > 0/05$). در دوزهای بالاتر، نتوانست اثری قویتر از فنی توئین از خود نشان دهد و در

توانست زمان زنده ماندن موش‌ها را 3/5 دقیقه افزایش دهد ($P < 0/05$) با افزایش دوز، زمان زنده ماندن موش‌ها افزایش یافت تا در دوز 250 mg/kg، که زمان زنده ماندن بیش از 16 دقیقه افزایش یافت ($P < 0/0001$). عصاره در دوز 31/25 mg/kg، اثری معادل پروپرانولول داشت ($P > 0/05$). در دوز 125 mg/kg، تاثیر عصاره بیش تر از پروپرانولول بود ($P < 0/05$). عصاره خربزه وحشی هیچ اثری در این تست از خود نشان نداد. حتی در بالاترین دوز تست شده، 250mg/kg، گرچه حدود 2/2 دقیقه توانست زمان زنده ماندن موش‌ها افزایش دهد اما این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$).

جدول شماره 2: فعالیت آنتی هیپوکسی عصاره پونه سا در مدل هیپوکسی خونی در موش سوری نر

انحراف معیار \pm میانگین	دوز (mg/kg)	ترکیب
12/20 \pm 1/07	0/5 ml	نرمال سالین
14/40 \pm 1/26 *	62/5	پونه سا
24/67 \pm 2/03 ****	125	پونه سا
26/65 \pm 1/62 ****	250	پونه سا
15/72 \pm 1/37 *	31/25	فی جوآ
18/44 \pm 2/12 **	62/5	فی جوآ
20/35 \pm 3/63 ****	125	فی جوآ
28/70 \pm 02/74 ****	250	فی جوآ
12/80 \pm 01/26 **	62/5	خربزه وحشی
13/26 \pm 0/77 ^{ns}	125	خربزه وحشی
13/41 \pm 0/79 ^{ns}	250	خربزه وحشی
16/44 \pm 1/139 ****	20	پروپرانولول

(نسبت به گروه کنترل منفی)

، $P > 0/05$:not significant (ns)

*: $P < 0/05$ ، **: $P < 0/01$ ، ***: $P < 0/001$ ، ****: $P < 0/0001$

هیپوکسی گردش خون

عصاره متانولی اندام هوایی پونه سا اثر بسیار خوبی در تست هیپوکسی گردش خونی از خود نشان داد. عصاره در پایین ترین دوز تست شده، 31/25mg/kg، زمان مرگ را در موش‌ها 3/6 دقیقه افزایش داد که این افزایش از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0/05$). عصاره در دوز 125mg/kg زمان مرگ موش‌ها را دو برابر نمود ($P < 0/0001$) در این تست پروپرانولول در دوز 30 میلی گرم به عنوان کنترل مثبت به کار رفت. پروپرانولول موجب افزایش زمان مرگ در موش‌ها

تمامی دوزهای دیگر نیز اثر مشابهی با فنی توئین داشت ($P > 0/05$). عصاره خربزه وحشی اثر ضعیفی در این تست نشان داد. در دوز 125 mg/kg زمان مرگ را 4/3 دقیقه افزایش داد ($P < 0/05$) اما حتی در دوز 250 mg/kg زمان زنده ماندن در گروه‌های دریافت کننده عصاره نزدیک گروه دریافت کننده فنی توئین هم نشد (جدول شماره 1).

جدول شماره 1: فعالیت آنتی هیپوکسی عصاره های پونه سا، فی جوآ و خربزه وحشی در هیپوکسی خفگی در موش سوری نر

انحراف معیار \pm میانگین	دوز (mg/kg)	ترکیب
28/20 \pm 3/27	0/5 ml	نرمال سالین
30/48 \pm 1/63 ^{ns}	31/25	پونه سا
39/56 \pm 4/38 **	62/5	پونه سا
46/78 \pm 4/41 ****	125	پونه سا
53/09 \pm 2/21 ****	250	پونه سا
34/68 \pm 4/15 *	31/25	فی جوآ
44/57 \pm 4/14 ****	62/5	فی جوآ
50/76 \pm 5/27 ****	125	فی جوآ
52/99 \pm 3/97 ****	250	فی جوآ
29/94 \pm 1/70 ^{ns}	62/5	خربزه وحشی
32/54 \pm 2/42 *	125	خربزه وحشی
36/15 \pm 1/76 **	250	خربزه وحشی
55/03 \pm 5/60 ****	50	فنی توئین

(نسبت به گروه کنترل منفی)

، $P > 0/05$:not significant (ns)

*: $P < 0/05$ ، **: $P < 0/01$ ، ***: $P < 0/001$ ، ****: $P < 0/0001$

هیپوکسی خونی

عصاره متانولی اندام هوایی پونه سا اثر بسیار خوبی در این تست از خود نشان داد. عصاره در پایین ترین دوز تست شده، 62/5 mg/kg، زمان مرگ را 2/2 دقیقه افزایش داد که این افزایش از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0/05$). در دوز 125 mg/kg زمان مرگ را دو برابر نمود ($P < 0/0001$). در این تست پروپرانولول در دوز 20 mg/kg به عنوان کنترل مثبت به کار رفت. در این دوز، پروپرانولول به طور معنی داری زمان مرگ را 4/2 دقیقه افزایش داد ($P < 0/001$). عصاره در دوز 62/5 mg/kg اثری مشابه پروپرانولول 20 داشت ($P > 0/05$). در دوز 125 mg/kg به مراتب قوی تر از آن بود ($P < 0/001$). عصاره فی جوآ در این تست اثر بسیار خوبی از خود نشان داد. در پایین ترین دوز تست شده، 31/25 mg/kg

کار به سوی کشف ترکیبات طبیعی و گیاهان موثر در کووید-19، فعالیت آنتی هیپوکسی (آنتی ایسکمی) سه گیاه داروئی در سه روش مختلف در موش سوری نر مورد بررسی قرار گرفت.

مدل هیپوکسی خفگی یکی از مدل‌هایی است که شرایط کمبود اکسیژن را در سلول شبیه‌سازی می‌کند. در مدل خفگی، فنی توئین به‌عنوان عامل خواب‌آور و پایین آورنده خلق و به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. این دارو میزان فعالیت سلولی و اکسیژن و ATP مصرفی را کم تر و مقاومت در برابر هیپوکسی را بیش تر می‌نماید (40). در ارگانسم‌های عالی، سیستم تنفس و قلبی عروقی، موجب تهیه و توزیع اکسیژن به بافت‌ها می‌شوند. اکسیژن به‌عنوان آخرین پذیرنده الکترون در فرآیند اکسیداتیو فسفوریلاسیون میتوکندری عمل کرده که مهم‌ترین واکنش بیوشیمیایی به‌منظور کسب انرژی در فرم ATP است. از آن‌جا که عملکرد مغز در پستانداران به پیوستگی تهیه اکسیژن و گلوکز بستگی دارد، هنگامی که در تهیه این عوامل اختلال ایجاد شود، این عملکرد به سرعت مختل می‌شود (41).

عصاره پونه سا اثر بسیار خوبی در این تست نشان داد. در دوز 62/5 mg/kg، زمان مرگ را افزایش داد که این افزایش از نظر آماری معنی دار بود. در دوز 250 mg/kg زمان مرگ در موش‌ها را حدوداً به دو برابر افزایش داد. در همین دوز، عصاره توانست اثری مشابه فنی توئین که به‌عنوان کنترل مثبت به‌کار رفت، ایجاد کند. عصاره فی جوآ نیز اثر بسیار خوبی در این تست نشان داد. عصاره در 31/25 mg/kg، موجب افزایش معنی دار زمان زنده ماندن موش‌ها شد. عصاره در دوز 62/5 mg/kg توانست اثری مشابه با گروه دریافت‌کننده فنی توئین ایجاد کند (P>0/05). عصاره خربزه وحشی اثر ضعیفی در این تست نشان داد. تنها در دوز 125 mg/kg زمان مرگ را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (جدول شماره 1). در گزارش‌های قبلی، عصاره گیاه تره در دوز 250 mg/kg به‌طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه

شد (P<0/05). اثر عصاره در دوز 31/25 میلی‌گرم بر کیلوگرم معادل پروپرانولول بود (P>0/05). عصاره در دوز 125 میلی‌گرم بر کیلوگرم اثری به مراتب قوی‌تر از پروپرانولول داشت (P<0/0001).

عصاره میوه فی جوآ اثر بسیار خوبی در این تست از خود نشان داد. گرچه در کم‌ترین دوزهای مورد استفاده، یعنی 31/25 زمان مرگ موش‌ها را تنها 2/2 دقیقه افزایش داد، اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>0/05). در دوز 62/5 mg/kg موثر بود و زمان مرگ را 6/3 دقیقه افزایش داد (P<0/01). در دوز 125 mg/kg، زمان مرگ حدوداً دو برابر شد (P<0/0001). عصاره میوه فی جوآ در دوز 62/5 mg/kg اثری مشابه پروپرانولول از خود نشان داد (P>0/05). عصاره در دوز 125 mg/kg اثری قوی‌تر از پروپرانولول از خود نشان داد (P<0/05). عصاره میوه خربزه اثر ضعیفی در این تست از خود نشان داد. تنها در دوز 250 mg/kg موثر بود و زمان مرگ را 2/5 دقیقه افزایش داد (P<0/05). این دوز اثری مشابه پروپرانولول از خود نشان داد (P>0/05) (جدول شماره 3).

جدول شماره 3: فعالیت آنتی هیپوکسی عصاره پونه سا در مدل وابسته به گردش خون در موش سوری نر

توزیع	دوز (mg/kg)	انحراف معیار ± میانگین
نرمال سالین	0/5 ml	12/11 ± 1/54
پونه سا	31/25	15/73 ± 1/48 *
پونه سا	62/5	19/38 ± 1/62 ***
پونه سا	125	24/34 ± 1/05 ****
پونه سا	250	29/19 ± 4/37 ****
فی جوآ	31/25	14/23 ± 0/95 ns
فی جوآ	62/5	18/41 ± 1/57 **
فی جوآ	125	21/33 ± 4/62 ****
فی جوآ	250	27/07 ± 3/56 ****
خربزه وحشی	62/5	12/11 ± 0/90 ns
خربزه وحشی	125	12/56 ± 1/09 ns
خربزه وحشی	250	14/61 ± 0/92 *
پروپرانولول	30	15/91 ± 0/17*

(نسبت به گروه کنترل منفی)

ns: not significant, P>0/05

*: P<0/05, **: P<0/01, ***: P<0/001, ****: P<0/0001

بحث

در این مطالعه، در قالب یک غربالگری، در ادامه

هیپوکسی استفاده می‌شود. در این مدل، فاکتورهای حمل‌کننده یعنی هموگلوبین‌ها، از نظر ساختاری و زنجیره‌های تولید انرژی در میتوکندری‌ها دچار اختلال نیستند اما ظرفیت حمل اکسیژن از طریق تبدیل هموگلوبین به مت هموگلوبین کاهش داده شده و در نتیجه سبب ایجاد هیپوکسی در سلول‌های بافت‌ها و مرگ جاندار می‌شوند (50). علت مسمومیت سدیم نیتريت از طریق فعال کردن مسیرهای اکسیداسیون مغزی می‌باشد که به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد سبب مرگ سلولی می‌شود (51, 52). عصاره متانولی اندام هوایی پونه سا تاثیر بسیار خوبی در این تست از خود نشان داد. عصاره در پایین‌ترین دوز تست شده، 62/5 mg/kg، زمان مرگ را 2/2 دقیقه افزایش داد که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود (P<0/05). در دوز 125 mg/kg زمان مرگ را دو برابر نمود (P<0/0001). در این تست پروپرانولول در دوز 20 mg/kg به عنوان کنترل مثبت به کار رفت که به‌طور معنی‌داری زمان مرگ را در موش‌ها افزایش داد (P<0/001). عصاره در دوز 62/5 mg/kg اثری مشابه پروپرانولول 20 داشت (P>0/05). در دوز 125 mg/kg به مراتب قوی‌تر از آن بود (P<0/0001). عصاره فی‌جوا در نیز این تست اثر بسیار خوبی از خود نشان داد. در 31/25 mg/kg، توانست زمان زنده ماندن موش‌ها را 3/5 دقیقه افزایش دهد (P<0/05) در این دوز اثری معادل پروپرانولول داشت (P<0/05). در دوز 125 mg/kg، تاثیر عصاره بیش‌تر از پروپرانولول بود (P<0/05). عصاره خربزه وحشی هیچ اثری در این تست از خود نشان نداد. حتی در بالاترین دوز تست شده نتوانست به‌طور معنی‌داری زمان زنده ماندن موش‌ها افزایش دهد. در مطالعه قبلی، عصاره گیاه تره با دوز 500 mg/kg در هیپوکسی خونی نسبت به گروه کنترل فعالیت قابل توجهی از خود نشان داد (42). در گزارشی دیگر عصاره سرخ و لیک در دوز 400 mg/kg حدود یک دقیقه زمان بقا را در موش افزایش داد. این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود. عصاره سیاه و لیک حتی در این دوز نیز تأثیری بر زمان

کنترل زمان مرگ را به تعویق انداخت (42) اما عصاره‌های سرخ و لیک و سیاه و لیک هیچ یک حتی تا دوز 400 mg/kg تأثیری بر افزایش زمان زنده ماندن موش‌ها در مدل هیپوکسی خفگی نداشتند (43). عصاره‌های برگ و میوه پلم در هیچ یک از دوزهای تست شده فعالیتی از خود نشان ندادند اما عصاره برگ مورد در دوز 125 mg/kg به‌طور معنی‌داری زمان مرگ را افزایش داد. در مورد زنده ماندن در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره برگ مورد در دوز 125 mg/kg اثری مشابه گروه فنی‌توئین گزارش شد (44). کوچیک اسید اثر بسیار خوبی در تست هیپوکسی خفگی نشان داد. در دوز 125 mg/kg به‌طور معنی‌داری زمان مرگ را افزایش داد که به مراتب از گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین بیش‌تر بود (45). عصاره اندام هوایی فرولا پرسیکا اثر بسیار خوبی در این تست نشان داد. در 62/5 mg/kg، موجب افزایش زمان زنده ماندن در موش‌ها شد. زنده ماندن در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در دوز 250 mg/kg با گروه دریافت‌کننده فنی‌توئین برابر بود. عصاره متانولی ریشه فرولا پرسیکا حتی در دوز 250 mg/kg نیز به‌طور معنی‌داری کم‌تر از فنی‌توئین مؤثر بود (46). اثرات عصاره گل سیر به خصوص در مدل خفگی بسیار بالا بود. عصاره در دوز 125 mg/kg اثری معادل فنی‌توئین از خود نشان داد. در دوز 250 mg/kg بسیار قوی‌تر از فنی‌توئین بود (47). اثر عصاره ویسه آکراکا در مدل خفگی قابل ملاحظه بود. در دوز 100 mg/kg زمان زنده ماندن موش‌ها را بیش‌تر از گروه کنترل افزایش داد اما حتی در دوز 200 اثرات آن با فنی‌توئین قابل مقایسه نبود (48). اثر عصاره ویسه آهیرسوتا در مدل خفگی بسیار قابل ملاحظه بود. در دوز 100 mg/kg زمان زنده ماندن موش‌ها را به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه کنترل افزایش داد که معادل فنی‌توئین بود. عصاره ویسه آهیرسوتا در دوز 50 mg/kg نیز به‌طور معنی‌داری زمان زنده ماندن موش‌ها را افزایش داد (49). در مدل مسمومیت خونی از سدیم نیتريت برای القای

را در بدن را فلج کرده و سبب مرگ سلول در اثر نرسیدن اکسیژن به سلول‌ها می‌شود که به دنبال آن زنجیره تنفسی سلول قطع می‌شود و سلول می‌میرد (53).

عصاره متانولی اندام هوایی پونه سا اثر بسیار خوبی در تست هیپوکسی گردش خونی از خود نشان داد. عصاره در پایین‌ترین دوز تست شده، 31/25 mg/kg، زمان مرگ را در موش‌ها 3/6 دقیقه افزایش داد ($P < 0/05$). عصاره در دوز 125 mg/kg زمان مرگ موش‌ها را دو برابر نمود ($P < 0/0001$). اثر عصاره در دوز 31/25 میلی‌گرم بر کیلوگرم معادل پروپرانولول بود که به عنوان کنترل مثبت به کار رفت ($P > 0/05$). عصاره در دوز 125 میلی‌گرم بر کیلوگرم اثری به مراتب قوی‌تر از پروپرانولول داشت ($P < 0/0001$). عصاره میوه فی جوآ نیز اثر بسیار خوبی در این تست از خود نشان داد. در دوز 62/5 mg/kg موثر بود و زمان مرگ را 6/3 دقیقه افزایش داد ($P < 0/05$). در این دوز عصاره اثری مشابه پروپرانولول از خود نشان داد ($P > 0/05$). عصاره در دوز 125 mg/kg قوی‌تر از پروپرانولول بود ($P < 0/05$). عصاره میوه خربزه اثر ضعیفی در این تست از خود نشان داد. تنها در دوز 250 mg/kg موثر بود و زمان مرگ را 2/5 دقیقه افزایش داد ($P < 0/05$) (جدول شماره 3). در مطالعه قبلی، عصاره گیاه تره با دوز 500 mg/kg فعالیت قابل توجهی از خود نشان داد و به‌طور معنی‌داری زمان مرگ را نسبت به گروه کنترل به تأخیر انداخت ($P < 0/05$) (42). عصاره سیاه ولیک در دوز 100 mg/kg مؤثرتر از سرخ ولیک بود. جایی که زمان زنده ماندن موش‌ها را به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($P < 0/01$) (43).

عصاره متانولی برگ پلم فعالیت محافظتی خوبی از خود نشان داد. عصاره میوه در دوز 250 mg/kg هیچ فعالیتی نشان نداد. برگ گیاه مورد تنها در بالاترین دوز تست شده به‌طور معنی‌داری زمان زنده ماندن موش را افزایش داد (44). کوجیک اسید در دوز 62/5 mg/kg بسیار مؤثر بود. کوجیک اسید در دوز 31/25 mg/kg اثری مشابه پروپرانولول نشان داد اما در دوز 125 mg/kg به

زنده ماندن در این نوع هیپوکسی نداشت (43). عصاره برگ و میوه پلم به ترتیب با دوز 125 و 62/5 mg/kg در هیپوکسی خونی نسبت به گروه کنترل فعالیت قابل توجهی از خود نشان دادند و زمان مرگ را نسبت به گروه کنترل به تأخیر انداختند. در همین مطالعه نشان داده شد که عصاره برگ مورد حتی با دوز 125 mg/kg اثری ندارد (44). تأثیر کوجیک اسید در تست هیپوکسی خونی وابسته به دوز بود. کوجیک اسید با دوز 125 mg/kg نسبت به گروه کنترل فعالیت قابل توجهی از خود نشان داد و در این دوز اثر کوجیک اسید با پروپرانولول یکسان بود (45). عصاره متانولی اندام هوایی فرولا پرسیکا با دوز 62/5 mg/kg در هیپوکسی خونی نسبت به گروه کنترل فعالیت قابل توجهی از خود نشان دادند و به صورت بارزی زمان مرگ را نسبت به گروه کنترل به تأخیر انداخت. عصاره در دوز 125 mg/kg تأثیر یکسانی با پروپرانولول 20 mg/kg نشان داد. عصاره ریشه در 62/5 mg/kg تأثیر یکسانی با پروپرانولول 20 mg/kg نشان داد (46). عصاره گل سیر به‌طور معنی‌دار و وابسته به دوز زمان زنده ماندن را نسبت به کنترل افزایش داد. در 125 mg/kg زمان مرگ را نسبت به گروه کنترل به تأخیر انداخت (47). عصاره ویسه آکراکا در دوز 100 mg/kg به‌طور معنی‌داری زمان زنده ماندن موش‌ها را بیش‌تر از گروه کنترل افزایش داد (48). عصاره ویسه آ هیرسوتا اثرات بسیار بالایی از خود نشان داد. این عصاره در دوز 50 mg/kg به‌طور معنی‌داری زمان زنده ماندن موش‌ها را افزایش داد (49).

از مسمومیت‌های شیمیایی دیگر، مسمومیت گردش خون می‌باشد. در این مسمومیت، سدیم فلوراید سبب لیز شدن هموگلوبین شده در نتیجه ظرفیت حمل اکسیژن کاهش یافته و سلول با وجود سالم بودن سیستم‌های آنزیمی و عملکردی دچار هیپوکسی و مرگ می‌شود. با لیز شدن هموگلوبین سبب وارد شدن ترکیبات موجود در ساختار آن به داخل خون می‌شود و از سویی با تضعیف مغز استخوان، تولید لکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها

نداشت. این موضوع به عنوان محدودیت مطالعه ذکر می شود و پیشنهاد می شود سایر محققان این موارد را مدنظر قرار دهند.

عصاره های پونه سا و فی جوا در تمامی مدل های خونی، گردش خونی و خفگی توانستند اثرات محافظتی بسیار خوبی در افزایش زمان زنده ماندن موش های سوری نر در دوزهای پایین از خود نشان دهند. حتی در دوزهای پایین اثری مشابه کنترل مثبت داشتند. پیشنهاد می شود ارزیابی فعالیت آنتی هیپوکسی عصاره ها در مدل های دیگر هیپوکسی مانند هیپوکسی هیپوباریک سنجیده شود تا شاید بتوان به ترکیبات مهمی در زمینه فعالیت آنتی هیپوکسی (آنتی ایسکمی) دست پیدا کرد.

سپاسگزاری

این مقاله، حاصل کار سه پایان نامه دانشجویی دوره دکترای داروسازی پردیس خودگردان رامسر می باشد که بدین وسیله از حمایت بخش پژوهشی پردیس رامسر تشکر و قدردانی می شود. هم چنین این مقاله دارای کد اخلاق IR.MAZUMS.3.REC.1401.13823 و IR.MAZUMS.3.REC.1401.14354 و IR.MAZUMS.3.REC.1401.14355 از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران می باشد.

References

1. Peruche B, Ahlemeyer B, Bruncs H, Kriegstein I. Cultured neurons for testing antihypoxic drug effects. *J Pharmacol Methods* 1990; 23(1): 63-77.
2. Ostrovskaya RU. Differences in the mechanism of antihypoxic action of benzodiazepine receptor agonists and muscimol. *Biull Eksp Biol Med* 2008; 98(4): 436-439.
3. Mitkov J, Danchev N, Nikolova I, Zlatkov A. Synthesis and brain antihypoxic activity of some aliphatic and arylaliphatic amides of caffeine-8-thioglycolic acid. *Acta Pharm* 2007;

مراتب قوی تر از پروپرانولول بود (45). عصاره متانولی اندام هوایی فرولا پرسیکا اثر خوبی در این تست از خود نشان داد. در $62/5 \text{ mg/kg}$ موش ها را برای مدت بیش تری نسبت به کنترل زنده نگه داشت. عصاره اندام هوایی در دوز 250 mg/kg بسیار قوی تر از پروپرانولول با دوز 20 mg/kg بود. عصاره ریشه فرولا پرسیکا، با دوز $62/5 \text{ mg/kg}$ اثری مشابه پروپرانولول در دوز 20 mg/kg از خود نشان داد (46).

در این مدل عصاره گل سیر در دوز 125 mg/kg زمان زنده ماندن را افزایش داد اما در دوز $62/5 \text{ mg/kg}$ تأثیری نداشت (47). اثر عصاره ویسه آ کراکا در مدل هیپوکسی گردش خونی ضعیف بود. این عصاره تنها در دوز 200 mg/kg زمان زنده ماندن موش ها را بیش تر از گروه کنترل افزایش داد (48). اثر عصاره ویسه آ هیرسوتا در مدل هیپوکسی گردش خونی بسیار قوی بود. این عصاره در دوز 100 mg/kg زمان زنده ماندن موش ها را به طور معنی داری بیش تر از گروه کنترل افزایش داد (49). در انجام این کار بهتر بود که حداقل یکی از فاکتورهای اصلی نشان دهنده هایپوکسی مانند ارزیابی مقدار اشباع اکسیژن یا سطح خونی فاکتور القا شده با هایپوکسی سنجیده و گزارش شود. اما عملاً بودجه لازم و زمان کافی برای انجام این آزمایشات وجود

- 57(3): 361-370.
4. Armstrong D. *Advanced Protocols in Oxidative Stress I, Methods in Molecular Biology*. Totowa, New Jersey: Humana Press; 2010.
5. Korde SD, Basak A, Chaudhary M, Goyal M, Vagga A. Enhanced nitrosative and oxidative stress with decreased total antioxidant capacity in patients with oral precancer and oral squamous cell carcinoma. *Oncology* 2011; 80(5-6): 382-389.
6. Wu Q, Chen W, Sinha B, Tu Y, Manning S, Thomas N, et al. Neuroprotective agents for

- neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Drug Discov Today* 2015; 20(11): 1372-1381.
7. 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.
 8. Riekandeh SM, Mazandarani M, Ebrahimzadeh MA, Zargari M. Antioxidant activities of *Eryngium caucasicum* inflorescence. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016; 20(5): 946-949.
 9. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Eslami S. 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.
 10. Ebrahimzadeh M, Bahramian F. Antioxidant Activity of *Crataegus pentaegyna* Subsp. *elburensis* Fruits Extracts used in traditional medicine in Iran. *Pak J Biol Sci* 2009; 12(5): 413-419.
 11. Ebrahimzadeh MA, Ehsanifar S, Eslami B. *Sambucus ebulus elburensis* fruits: A good source for antioxidants. *Pharmacognosy Magazine* 2009; 5(19): 213-218.
 12. Mozdastan S, Ebrahimzadeh MA, Eslami S. Effect of increasing the polarity of solvent on total phenol and flavonoid contents and antioxidant activity of Myrtle (*Myrtus communis* L.). *J Mazandaran Univ Med Sci* 2015; 25(126): 68-81 (Persian).
 13. Khalili M, Dehdar T, Hamed F, Ebrahimzadeh MA, Karami M. Antihypoxic activities of *Eryngium caucasicum* and *Urtica dioica*. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19(17): 3282-3285.
 14. 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.
 15. Ebrahimzadeh MA, Khalili M, Jafari N, Zareh G, Farzin D, Amin G. Antihypoxic activities of *Crataegus pentaegyn* and *Crataegus microphylla* fruits-an in vivo assay. *Braz J Pharm Sci* 2018; 54(2): e17363.
 16. Kaveh K, Mohamadyan M, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic Activities of *Sambucus ebulus* Leaf and Fruit and *Myrtus communis* Leaf in Mice. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 29(176): 61-73 (Persian)
 17. Testai L, Chericoni S, Calderone, V, Nencioni G, Nieri P, Morelli I, et al. Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: in vitro and in vivo pharmacological studies. *J Ethnopharmacol* 2002; 81(1): 105-109.
 18. Águas R, Mahdi A, Shretta R, Horby P, Landray M, White L. Potential health and economic impacts of dexamethasone treatment for patients with COVID-19. *Nat Commun* 2021; 12(1): 915.
 19. RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2021; 384(8): 693-704.
 20. Shamshirian A, Shamshirian D, Hosseinzadeh MH, Ebrahimzadeh MA. A Mini-Review and Perspective on Anti-hypoxic Hypothesis of COVID-19. *Tabari Biomed Stu Res J* 2020; 2(4): 1-8 (Persian).
 21. Hosseinzadeh MH, Shamshirian A, Ebrahimzadeh MA. Dexamethasone Vs. COVID-19: An experimental study in line with the preliminary findings of a large trial. *Int J Clin Prac* 2020; 75(6): e13943.
 22. Tripathi L, Tripathi Jn. Role of biotechnology in medicinal plants. *Trop J Pharm Res* 2003; 2(2): 243-253.
 23. Liu B, Gao HM, Wang JY, Jeohn GH, Cooper CL, Hong JS. Role of nitric oxide in

- inflammation media tedneuro degeneration. Ann NY Acad Sci 2002; 962: 318-331.
24. Layeghhighi M, Hassanpour Asil M, Abbaszadeh B, Sefidkon F, Matinzadeh M. Effect of water deficit stress on essential oil yield, percentage and components in *Nepeta pogonosperma* Jamzad. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 2016; 32(3): 513-526 (Persian).
 25. Khalighi-Sigaroodi F, Ahvazi M, Ebrahimzadeh H, Rahimifard N. Chemical composition of the essential oil and antioxidant activities, total phenol and flavonoid content of the extract of *Nepeta pogonosperma*. J Med Plants 2013; 12(48): 185-198.
 26. Jamzad Z, Assadi M. New species of the genera *Nepeta* and *Ajuga* (Labiatae) from Iran. Iran J Botany 1984; 2(2): 95-103 (Persian).
 27. Sefidkon F, Akbari-Nia A. Essential oil composition of *Nepeta pogonosperma* Jamzad & Assadi from Iran. J Essent Oil Res 2003; 15(5): 327-328.
 28. Ricci EL, Toyama DO, Lago JHG, Romoff P, Kirsten B, Reis-Silva TM, et al. Anti-nociceptive and anti-inflammatory actions of *Nepeta cataria* L. var. *citriodora* (Becker) Balb. essential oil in mice. J Health Sci Inst 2010; 28(3): 289-293.
 29. Vuotto ML, Basile A, Moscatiello V, De Sole P, Castaldo-Cobianchi R, Laghi E, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of *Feijoa sellowiana* fruit. Int J Antimicrob Agents 2000; 13(3): 197-201
 30. Ebrahimzadeh MA, Hosseinimehr SJ, Hamidinia A, Jafari M. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sellowiana* fruits peel and leaves. Pharmacologyonline 2008; 1: 7-14.
 31. Mahmoudi M, Seifi S, Khan BA, Alshahrani SM, Arimi A, Allami A, Alqahtani SS, Ebrahimzadeh MA. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of polyphenols from *Feijoa* fruit and leaves Pak J Pharm Sci 2021; 34(4): 1445-1448.
 32. Otaghvar HA, Rezapour-Nasrabad R, Ebrahimzadeh MA, Yaghoubi M, Khalatbary AR, Nasiry D, et al. The effects of *Feijoa sellowiana* fruit extract on wound healing in rats: a stereological and molecular study. J Wound Care 2022; 31(Sup8): S36-S44.
 33. Pitrat M. Phenotypic diversity in wild and cultivated melons (*Cucumis melo*). Plant Biotechnology 2013; 30(3): 273-278.
 34. Vishwakarma VK, Gupta JK, Upadhyay PK. Pharmacological importance of *Cucumis melo* L.: An overview. Asian J Pharm Clin Res 2017; 10(3): 8-12.
 35. Kerje T, Grum M. The origin of melon, *Cucumis melo*: a review of the literature. In VII Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding 510 2000 (pp. 37-44). Doi:10.17660/ActaHortic.2000.510.5.
 36. Gopalsatheeskumar K, Ariharasivakumar G, Kalaichelvan VK, Sengottuvel T, Devan VS, Srividhya V. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of wild musk melon (*Cucumis melo* var. *agrestis*) in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. Chin Herb Med 2020; 12(4): 399-405.
 37. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Eslami B. Free radical scavenging ability of methanolic extract of *Hyoscyamus squarrosus* leaves. Pharmacologyonline 2009; 2: 796-802.
 38. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Eslami B. Antioxidant activity of aqueous extract of *Pyrus boissieriana* fruit. Pharmacologyonline 2009; 1: 1318-1323.
 39. Hashemi Z, Ebrahimzadeh MA, Biparva P, Mortazavi-Derazkola S, Goli HR, Sadeghian F, Kardan M, Rafiei A. Biogenic silver

- and zero-valent iron nanoparticles by feijoa: biosynthesis, characterization, cytotoxic, antibacterial and antioxidant activities. *Anticancer Agents Med Chem* 2020; 20(14): 1673-1687.
40. Moriuchi H, Yuizono T. Pentoxifylline prevents a decrease in arterial oxygen tension in oleic acid-induced lung injury. *Crit Care Med* 1995; 23(2): 357-364.
 41. Singer MA. *Comparative Physiology, Natural animal models and clinical medicine insights into clinical medicine from animal adaptations*. London :Imperial College Press; 2007.
 42. Shahnazi R, Mehrdadfar F, Ebrahimzadeh MA. Impact of extraction methods on total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antihypoxic oroperties of *Allium ampeloprasum* in Mice. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2018; 27(158): 27-44 (Persian).
 43. Ebrahimzadeh MA, Khalili M, Jafari N, Zareh G, Farzin D, Amin G. Antihypoxic activities of *Crataegus pentaegyn* and *Crataegus microphylla* fruits-an in vivo assay. *Braz J Pharm Sci* 2018; 54(2): e17363.
 44. Kaveh K, Mohamadyan M, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic activities of *Sambucus ebulus* leaf and fruit and *Myrtus communis* leaf in mice. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 29(176): 61-73 (Persian).
 45. Ebrahimzadeh MA, Hosseinzadeh MH, Mohammadyan M, Yazdani S. Evaluation of antihypoxic activities of kojic acid in mic. *SJKU* 2023; 27(6): 1-13 (Persian).
 46. Ataee R, Hasani H, Mohammadyan M, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic activities of aerial parts and roots of *Ferula persica* in Mice. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2020; 30(189): 126-132 (Persian).
 47. Shahbazee M, Mohammadyan M, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic Activities of *Allium sativum* Flower in Mice. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 29(175): 145-149 (Persian).
 48. Shahnazi R, Ebrahimzadeh MA. Protective effects of methanolic extract of *Vicia cracca* against hypoxia-induced lethality in mice. *Pharm Biomed Res* 2017; 3(4): 14-17.
 49. Yazdanpanah MA, Mousavi ZA, Ebrahimzadeh MA. Protective effects of *Vicia hirsuta* against hypoxia-induced lethality in mice. *Int J Life Sci Pharm Res* 2016; 6(4): 17-21.
 50. Hock F. Effects of cromakalim on sodium nitrite intoxication. *Proceedings of the 21st Göttingen Neurobiology Conference*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag 1993. p. 681.
 51. Gibson GE, Shumada M, Blass JP. Alterations in acetylcholine synthesis and cyclic nucleotides in mild cerebral hypoxia. *J Neurochem* 1978; 31(4): 757-760
 52. Schindler U, Rush DK, Fielding S. Nootropic drugs: Animal models for studying effects on cognition. *Drug Development Research* 1984; 4(5): 567-576.
 53. Imaizumi S, Suzuki J, Kinouchi H, Yoshimoto T. Superior protective effects of phenytoin against hypoxia in a pharmacological screening test. *Neurol Res* 1988; 10(1): 18-24.