

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

Mehrnoosh Sedighi¹,
Mosayeb Noori-Ahmabadabi²,
Mahmoud Rafieian-Kopaei³,
Jamshid Ebrahimpoor-Samani⁴,
Najmeh Shahinfard⁵

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 KCl 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).

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

مهرنوش صدیقی^۱

مصطفی نوری احمدآبادی^۲

محمد 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 هیدرولکلی 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 (۱۵۰-۲۰۰ g) به شش گروه تصادفی هشت تایی شامل گروه شاهد، گروه دریافت کننده عصاره گل محمدی، پروپرانولول، نالولکسان، ال-نیم (L-NAMe) و کلرور کلسیم تقسیم شدند. به منظور بررسی اثر مکانیسم ایلئوم با داروهای آنتاگونیست ریپتورهای 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، Student t-ANOVA و ANOVA گرفت.

یافته‌ها: عصاره گل محمدی انقباضات ایلئوم ناشی از کلرور پتانسیم را کاهش داد ($P < 0.001$). پروپرانولول و نالولکسان، اثر مهاری عصاره بر انقباضات ناشی از کلرور پتانسیم را به صورت معنی دار مهار نمود ($P < 0.001$). ال-نیم بی‌اثر بود. کلسیم، سبب انقباض بافت دپولاریزه شده توسط کلرور پتانسیم شد و این اثر انقباضی، توسط غلظت‌های تجمعی عصاره به صورت معنی دار کاهش یافت ($P < 0.001$).

استنتاج: احتمال می‌رود عصاره گل محمدی، با تحریک گیرنده‌های بتا آدرنرژیک 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.

واژه‌های کلیدی: گل محمدی، ایلئوم، موش صحرایی

مقدمه

با مکانیسم‌های مختلف برای درمان اسهال وجود دارند. اساس

اسهال، عامل مهم بیماری و مرگ و میر به ویژه در

استفاده از این داروهای افزایش جذب آب و الکترولیت و غذا از روده، کاهش ترشح از روده و کاهش حرکات روده کشورهای جهان سوم می‌باشد (۱). داروها و ترکیبات زیادی

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

E-mail: rafieian@yahoo.com

مؤلف مسئول: محمود رفیعیان کوپائی - شهرکرد: دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی.

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 پام نور شهرکرد، شهرکرد، ایران

۵. کارشناس مامایی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۹۲/۲/۱۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۹۲/۴/۲۳ تاریخ تصویب: ۱۴۹۲/۶/۱۰

موجود در ریشه ختمی و دیگر گیاهان، موجب شل شدن وابسته و غیر وابسته به آندوتیال در شریان انسانی می‌شود (۱۹).

ترکیب تراهیدروکسی فلاونن کامفروл، 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 فلچ 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 ایلثوم 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 ایلثوم 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 ایلثوم دارد. غلظت‌های پایین عصاره (۱۰-۱۰۰ µg/ml) سبب افزایش فعالیت حرکتی روده در پاسخ KCl، (Acetylcholine) Ach و EFS (Potassium chloride) Executive function (system) و غلظت‌های به نسبت بالای عصاره (۱-۸ mg/ml) سبب کاهش حرکات ایلثوم روده توسط محرک‌های ACh و EFS و KCl گردیده است.

این تحقیق با هدف بررسی اثر غلظت‌های تجمعی

کوچک می‌باشد (۲۶). اگر چه داروهای سنتیک 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 فراینده دارند (۳-۶) و با عوارض جانبی کمتری در تهیه دارو استفاده می‌شوند (۷، ۸).

گل محمدی با نام علمی Rosa damascena Mill از خانواده رزاسه (Rosa) و از جنس Rosa می‌باشد که در شرایط مختلف آب و هوایی کشور می‌روید. این گیاه در خنچه‌ای، 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 می‌روید 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، آراینوزید، آفزلین، سیترونلول، لینالول، ژرانیول و ترپن‌ها می‌باشند (۱۳). فرآورده‌های گیاهان جنس Rosa در طب سنتی اثرات فارماکولوژیکی فراوانی دارند. از خواص دارویی ترکیب‌های فلاونوئیدی کامفرول و کوئرستین، مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی را می‌توان 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 آندوتیال می‌گردد (۱۷) و در انقباض ایلثوم خوکچه هندی مؤثر است (۱۸). همچنین فلاونوئید

ترانسدیوسر ایزوتوونیک 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 دائم، حباب هوا به داخل حمام دمیده شد. کشش اولیه به بافت g ۱ و محلول تیروود حمام (37°C و $\text{pH} = 7/4$) بود.

بعد از سازگاری، ایلئوم توسط $0/9\text{ cm}^3$ کلرور پتانسیم (60 mM) منقبض شد و هنگامی که انقباض به حالت کفه رسید (27)، غلظت‌های تجمعی عصاره (1000 mg/kg ، 500 و 100) به نسبت $0/5\text{ cm}^3$ به حمام بافت اضافه و درصد تغییر نیروی انقباضی نسبت به حالت کفه محاسبه شد.

در مطالعه صدرایی و همکاران (26) اثر عصاره بر فعالیت ایلئوم در دوزهای پایین ($100-100\text{ }\mu\text{g/ml}$) و $1-8\text{ mg/ml}$ بررسی گردید. این جا به ترتیب دوزهای بالاتر (100 mg/kg ، 500 و 1000) بررسی گردید. این دوزها با توجه به مقاله رخشنده و همکاران (28) بررسی گردید.

محلول تیروود ترکیبی از NaCl ($136/00\text{ mM}$)، NaHCO_3 ($2/00\text{ mM}$)، CaCl_2 ($5/00\text{ mM}$)، KCl ($0/36\text{ mM}$)، NaH_2PO_4 ($0/98\text{ mM}$)، MgCl_2 ($11/90\text{ mM}$) و گلوکز ($5/55\text{ mM}$) بود.

به منظور درک مکانیسم اثر عصاره بر ایلئوم، دخالت رسپتورهای بتا‌آدرنرژیک، اوپیوئیدی و نیتریک اکساید و غلظت‌های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از کلروپتانسیم بررسی شد. بدین صورت، پس از 30 دقیقه انکوبه کردن بافت با پروپرانولول با غلظت $1\text{ M}\mu\text{l}$ (29)، یا نالوکسان با غلظت $1\text{ M}\mu\text{l}$ (30) و یا 20 دقیقه در غلظت $1\text{ M}\mu\text{l}$ (31 -نیم) مراحل قبلی یعنی اضافه کردن عصاره تکرار شد.

جهت بررسی نقش کلسیم خارج سلولی در عملکرد عصاره، ابتدا بافت در محلول تایروود فاقد کلسیم و دارای غلظت زیاد کلرور پتانسیم (60 mM) قرار گرفت و کلرور کلسیم به صورت تجمعی ($2-8\text{ mM}$) به حمام اضافه گردید (27). سپس 5 دقیقه حضور عصاره با غلظت‌های تجمعی انجام

دوز بالای عصاره هیدروالکلی گل محمدی (1000 mg/kg ، 500 و 100) بر فعالیت انقباضی ایلئوم موش صحرایی انجام شد. ایلئوم بیشتر مسؤول حرکات گوارشی روده است؛ از این‌رو، مکانیسم مربوط با توجه به ترکیبات عصاره هیدروالکلی گل محمدی وجود گیرنده‌ها و کanal‌های عضله صاف ایلئوم بررسی گردید (26).

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از روش ماسرسیون جهت به دست آوردن عصاره گیاه گل محمدی استفاده شد. بدین نحو که 100 g گلبرگ‌های گیاه گل محمدی را پس از تمیز نمودن، پودر شد و بر روی پودر حاصل اتانول 70 درصد ریخته شد. بعد از گذشت 72 ساعت، مخلوط به دست آمده به وسیله قیف بوخرن صاف و محلول به دست آمده در دمای 35°C با ایجاد خلا تبخیر گردید. محلول غلیظ شده در انکوباتور با دمای حداقل 40°C درجه قرار داده شد تا کل موجود در محلول به طور کامل خارج شود. از 500 g گیاه 15 g پودر به دست آمد که تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

48 سر موش صحرایی نر و ماده از نژاد ویستان در محدوده وزنی g $150-200$ ، در شرایط روشنایی و تاریکی 12 ساعته و در دمای $20-24^{\circ}\text{C}$ و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند، اما شب قبل، از آزمایش از غذا محروم شدند.

پروپرانولول 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 2 cm آخر) یک قطعه به طول cm 2 جدا شد و در داخل حمام بافت (50 ml) حاوی محلول تیروود در بین دو قلاب استیل زنگ‌زن به صورت عمودی قرار دادیم. قلاب پایین در ته حمام ثابت و قلاب بالا توسط نخ، به اهرم ترانسدیوسر ایزوتوونیک (Harvard، UK) و دستگاه ثبات (Universal Harvard Osillograph) متصل شد.

یافته‌ها

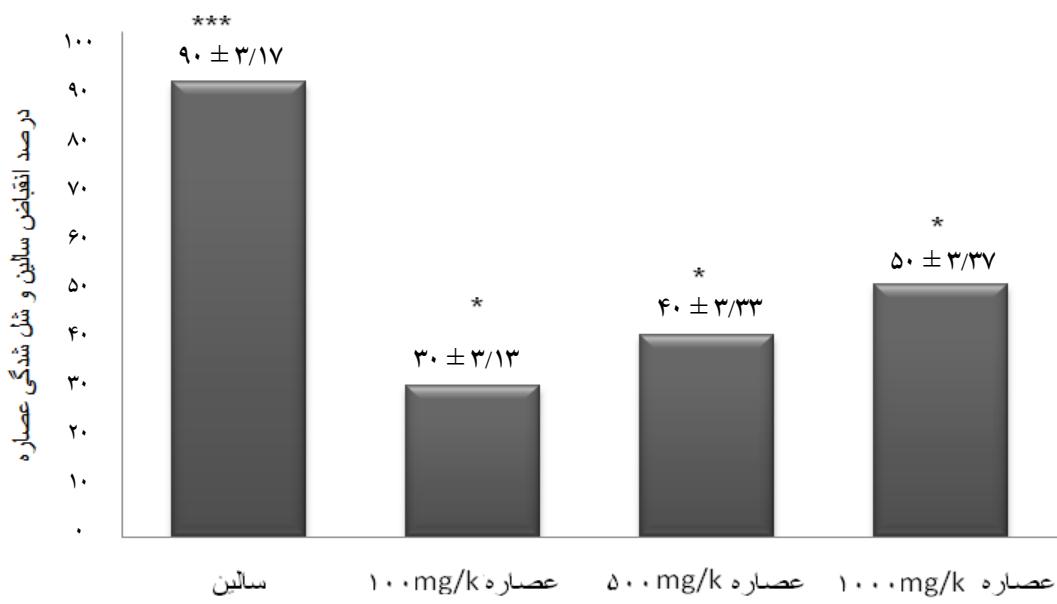
مقایسه غلظت‌های تجمیعی عصاره هیدروالکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم در ایلئوم موش صحرابی هر یک از غلظت‌های 100 , 500 و 1000 mg/kg، $n = 8$ عصاره، به طور معنی دار و وابسته به دوز، سبب کاهش انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (60 mM) در مقایسه با گروه سالین شد ($P < 0.0001$).

نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد که عصاره تجمیعی گل محمدی (100 , 500 و 1000 mg/kg)، انقباضات ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم و سالین را مهار می‌کند ($n = 8$, $P < 0.0001$). که این اثر وابسته به دوز است. بیشترین اثر در غلظت 1000 mg/kg عصاره مشاهده می‌شود. همچنین اختلاف معنی داری بین غلظت‌های مهاری عصاره دیده می‌شود ($P < 0.0500$). انقباض ناشی از کلرور پتاسیم در تمام طول آزمایش حفظ می‌شد و عملکرد مهاری عصاره پس از شستشوی مکرر بافت و فاصله زمانی 15 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.

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

در تمامی مراحل انجام آزمایش فوق، اضافه کردن محلول کلرور پتاسیم (60 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 تجمیعی عصاره گل محمدی، همچنین اثر انکوبه کردن بافت با داروهای آنتاگونیست رستپورهای بتا‌آدرنرژیک (پروپرانولول $1\text{ M}\mu\text{M}$)، اوپیوئیدی (نالوکسان $1\text{ M}\mu\text{M}$) و مهار کننده ستز نیتریک اکساید (ال- نیم $100\text{ }\mu\text{M}$) 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 \pm انحراف معیار محاسبه گردید. به کمک آزمون آماری ANOVA جهت مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره و از t Student جهت مقایسه دو گروه با یکدیگر استفاده گردید. $P < 0.0500$ به عنوان تفاوت معنی دار در نظر گرفته شد.



نمودار شماره ۱: اثر غلظت‌های تجمیعی عصاره گل محمدی (100 , 500 و 1000 mg/kg) بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (60 mM) و سالین ($n = 8$, * $P < 0.0001$).

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

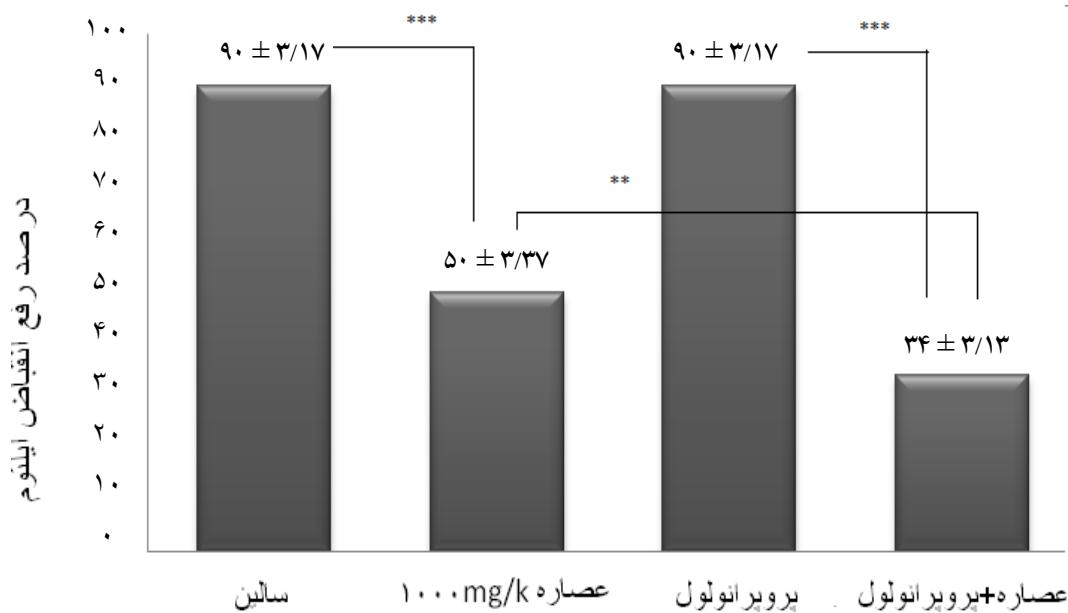
شدن ایلنوم می‌شود و احتمال دارد عصاره از طریق سنتز نیتریک اکساید سبب اثر مهاری حرکات ایلنوم شده باشد. بنابراین، پس از مقایسه اثر مهاری عصاره بر انقباض کلرور پتاسیم، اثر مهاری عصاره با فاصله زمانی ۱۵ دقیقه و شستشوی بافت، در حضور ۲۰ دقیقه ال-نیم، آتناگونیست سنتز نیتریک اکساید مقایسه شد. عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم شد ($n = 8$, $P < 0.0001$)، اما اختلاف معنی‌داری بین دو حالت عصاره در حضور و غیاب ال-نیم مشاهده نشد.

مقایسه عملکرد عصاره هیدروالکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم، قبل و بعد از انکوبه کردن ایلنوم موش با نالوکسان نمودار شماره ۴ نشان می‌هد، نالوکسان از طریق تأثیر بر گیرنده‌های اوپیوئیدی سبب شل شدن ایلنوم 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 گیرنده‌های اوپیوئیدی و بلوه کردن کانال‌های کلسیمی سبب افزایش مهاری حرکات ایلنوم شده

مقایسه عملکرد عصاره هیدروالکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم، قبل و بعد از انکوبه کردن ایلنوم موش با پروپرانولول نمودار شماره ۲ نشان می‌دهد، پروپرانولول سبب شل شدن ایلنوم 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، آتناگونیست گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک مقایسه شد.

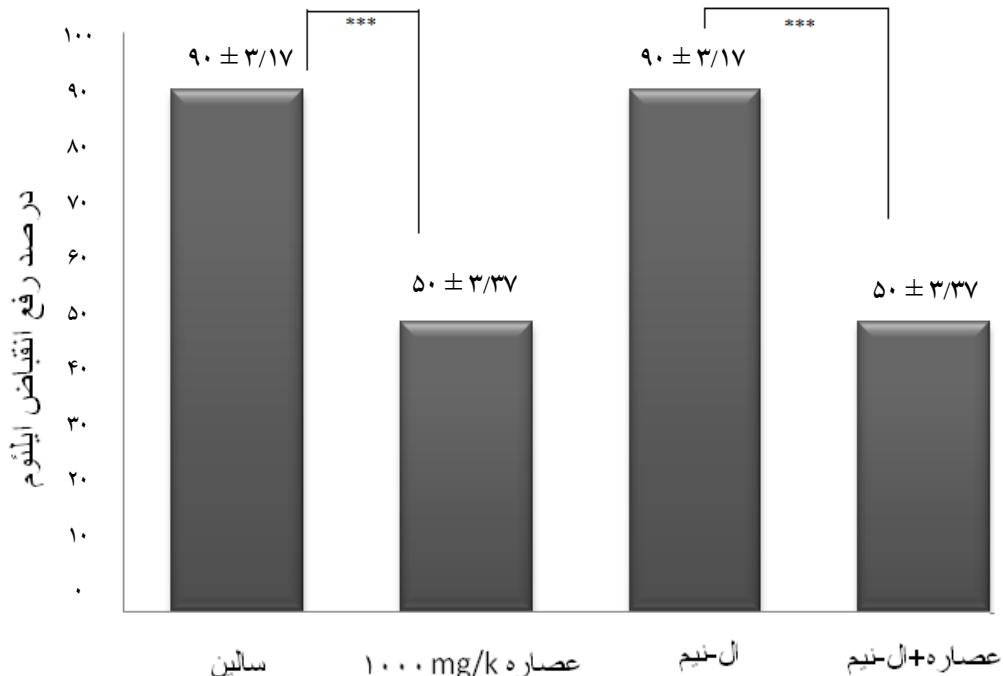
عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم ($P < 0.0001$) و پروپرانولول نیز سبب کاهش معنی‌دار اثر انقباض ایلنوم ناشی از عصاره شد ($n = 8$, $P < 0.001$).

مقایسه عملکرد عصاره هیدروالکلی گلبرگ‌های گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم، قبل و بعد از انکوبه کردن ایلنوم موش با ال-نیم نمودار شماره ۳ نشان می‌دهد، نیتریک اکساید سبب شل



نمودار شماره ۲: مقایسه اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهاری عصاره در غلظت 1000 mg/kg و پروپرانولول ($1 \mu\text{M}$) بر گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک در ایلنوم ($n = 8$, ** $P < 0.001$, *** $P < 0.0001$).

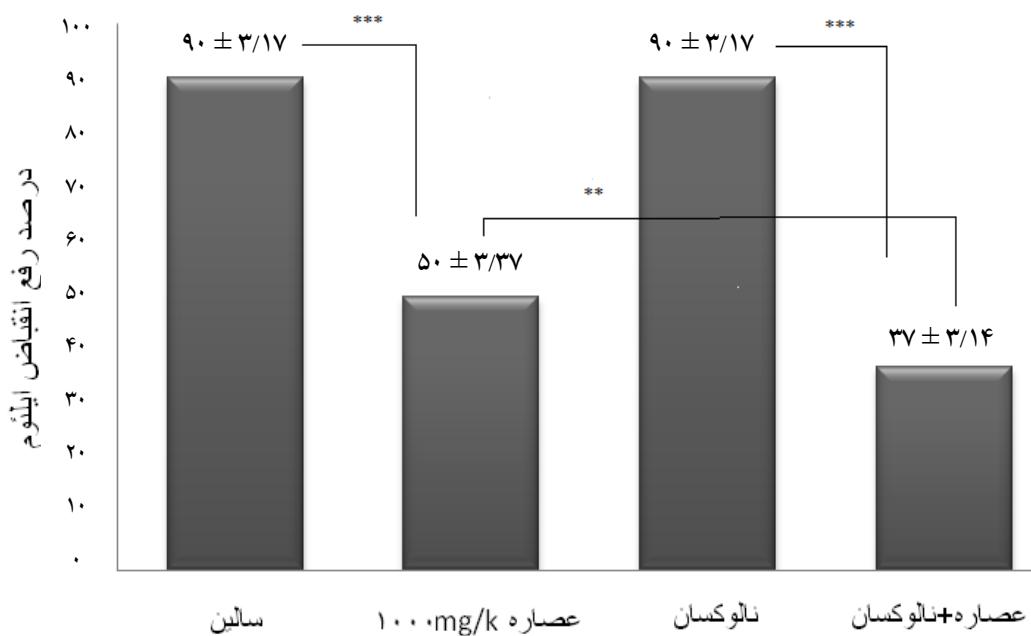
^{**} اختلاف معنی‌دار در آزمون آماری t Student؛ ^{***} اختلاف معنی‌دار در آزمون آماری ANOVA



نمودار شماره ۳: مقایسه اثر انقباضی کلرور پتابسیم و اثر مهاری عصاره در غلظت ۱۰۰۰ mg/kg و آل-نیم (۱۰۰ M μ)

مهار کننده ستر آنزیم نیتریک اکساید در اینتوم (۸). ***P < ۰/۰۰۰۱, n = ۸

*** اختلاف معنی دار در آزمون آماری ANOVA



نمودار شماره ۴: مقایسه اثر انقباضی کلرور پتابسیم و اثر مهاری عصاره در غلظت ۱۰۰۰ mg/kg و نالوکسان (۱) بر گیرنده‌های

اوپیوئیدی در اینتوم (۸). ***P < ۰/۰۰۰۱, **P < ۰/۰۰۱, n = ۸

** اختلاف معنی دار در آزمون آماری t Student, *** اختلاف معنی دار در آزمون آماری ANOVA

شستشوی بافت، در حضور ۳۰ دقیقه نالوکسان یعنی آنتاگونیست گیرنده‌های اوپیوئیدی مقایسه شد.

باشد. از این‌رو، پس از مقایسه اثر مهاری عصاره بر انقباض کلرور پتابسیم، اثر مهاری عصاره با فاصله زمانی ۱۵ دقیقه و

بحث

نتایج تحقیق حاضر، نشان دهنده اثر مهاری عصاره گل محمدی بر فعالیت انقباضی ایلئوم ناشی از کلرور پتابسیم 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.

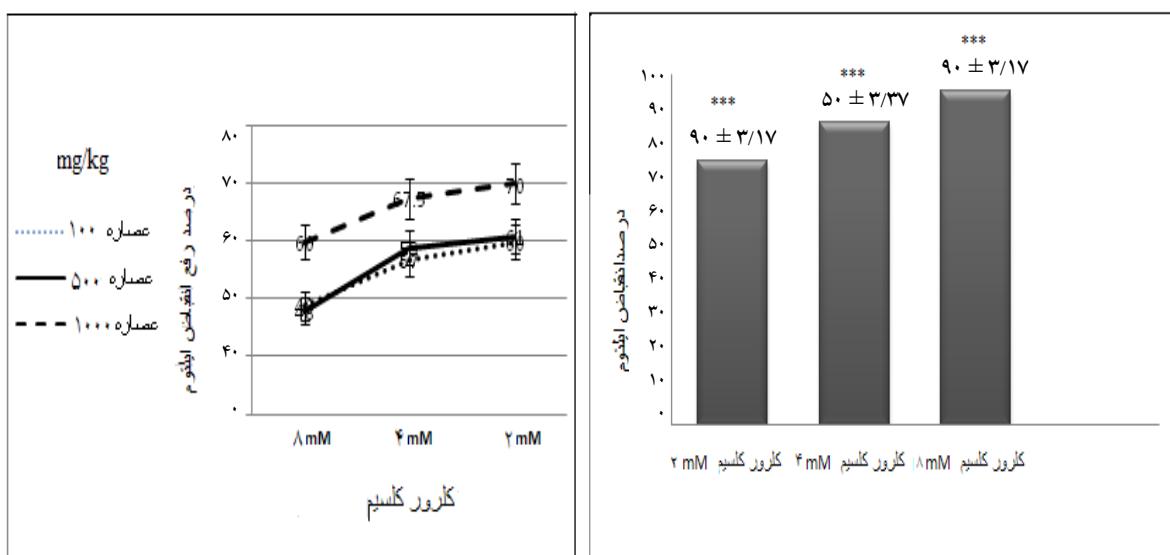
از آن جا که افزایش غلظت کلسیم درون سلولی، عامل اصلی تانسیون در عضله صاف می‌باشد، احتمال دارد عصاره حاضر، مانع از ورود کلسیم به سلول گردیده و مهار انقباض را سبب شده باشد (۲۴). با توجه به افزایش این کانال‌ها در غشاء عضله صاف، این عضله در مقایسه با عضله اسکلتی، دارای کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ زیادتر 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 پتابسیم 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

عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتابسیم شد ($n = 8$, $P < 0.0001$), نالوکسان نیز سبب کاهش معنی‌دار اثر مهاری انقباض ناشی از عصاره گردید ($n = 8$, $P < 0.0010$).

اثر عصاره هیدروالکلی بر گل محمدی بر انقباض ناشی از کلرور کلسیم در ایلئوم دپولاریزه شده توسط کلرور پتابسیم نمودار شماره ۵ نشان می‌دهد، انقباض ایلئوم ناشی از غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم ($2-8 \text{ mM}$) در بافت دپولاریزه توسط کلرور پتابسیم (60 mM), وابسته به غلظت کلرور کلسیم است ($P < 0.0001$) و این پاسخ‌های انقباضی در حضور غلظت‌های تجمعی عصاره گل محمدی کاهش می‌یابد ($P < 0.0010$).

در محلول تایروド بدون کلسیم دارای کلرور پتابسیم (60 mM بالا، اضافه کردن غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم به حمام بافت، موجب انقباض وابسته به غلظت کلسیم در ایلئوم گردید ($n = 8$, $P < 0.0001$).

انکویه 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 ($n = 8$, $P < 0.0010$).



نمودار شماره ۵: مقایسه اثر انقباضی غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم ($2-8 \text{ mM}$) و اثر مهاری عصاره در غلظت‌های تجمعی عصاره (100 , 500 و 1000 mg/kg)

دپولاریزه شد (۳۸) و انقباض آن مشروط به اضافه کردن کلسیم به محیط بود (۳۹). در این جایز 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 آندوتیال آئورت و کاهش فشار خون (۱۶، ۱۷) 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 ایلثوم (۱۸) و همچنین تأثیر شل کننده گردد (۴۲) و این اثرات به آندوتیال 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 عمدۀ 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 مسهله 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

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 ایلثوم می‌گردد. وجود رسپتورهای اوپیوئیدی نوع ۵ و ۶ و اثر مهار کننده‌گی آن‌ها نیز در ایلثوم 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 ایلثوم می‌گردد (۳۵).

همچنین نیتریک اکساید یکی از نورترانسیمیترهای 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 ایلثوم با آنتاگونیست رسپتورهای اوپیوئیدی توسط نالوکسان و آنتاگونیست گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک توسط پروپرانولول، عملکرد شل کننده عصاره بر انقباض ایلثوم ناشی از کلرور پتاسیم کاهش یافته است که نشان دهنده اختلاف معنی دار 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 ایلثوم ثابت شده و اثر مهاری آن‌ها نیز مشخص شده است (۳۷)، سبب ایجاد عملکرد مهاری عصاره شده باشند.

انکوبه کردن قطعه ایلثوم با آنتاگونیست سنتر نیتریک اکساید توسط داروی ال-نیم سبب شل شدن بافت ایلثوم گردید و اختلاف معنی داری 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 تایروند بدون کلسیم، بافت توسط مقدار زیادی از پتاسیم خارج سلولی فقط

سپاسگزاری

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

گل محمدی در غاظت‌های 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.

References

- Saffar M. Patients with acute diarrhea and how that feedback. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2000; 10(28): 58-74. (Persian).
- Taylor DE, Courvalin P. Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* species. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32(8): 1107-12.
- Asgari.S, Rafieian-kopaei.M, Pourghleysari.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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Ghorbani A, Ehsanpour A, Roshanzamir N, Omidvar B. Alterations in antibiotic susceptibility of urinary tract infection pathogens. *J Nephropathology* 2012; 1(1): 43-8.
- Khajehdehi P. Turmeric: Reemerging of a neglected Asian traditional remedy. *J Nephropathology* 2012; 1(1): 17-22.
- 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.
- Middleton JE, Kandaswami C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne JB, editor. *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. London, UK: Chapman & Hall/CRC; 1999. p. 619-52.
- Chevallier A. *The Encyclopedia of Medicinal Plants*. London, UK: Dorling Kindersley, Limited; 1996.
- Guenther E. *The essential oils*. Malabar, FL: Krieger Publishing. Company Malabar; 1952. p. 506.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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).

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-Ahmabadi 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, Esmaeil-Zadeh M. Analgesic and anti-inflammatory effects of extracts of rose (*Rosa damascena*) in mice and rats. *Herbal Pharmacology Research Center and Department of Pharmacology* 1102296811022968. *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.