

Effect of Hydroalcoholic Extract of *Anethum graveolens* L. Seed on Tracheal Smooth Muscle Contractions in Male Rats

Parastoo Jafarzade¹,
Seyyed Mohammad Mohseni Mehran²,
Hassan Moladoust³,
Mohammad Reza Norasfard²,
Ahmad Ghorbani⁴,
Mahmood Abedinzade¹

¹ Lecturer, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

² Associate Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

³ Associate Professor, Department of Biophysics and Biochemistry, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Physiology, Pharmacological Research Center of Medicinal Plants, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

(Received June 11, 2017 ; Accepted November 6, 2017)

Abstract

Background and purpose: Airway stenosis is one the most dangerous diseases. *Anethum graveolens* L.(Dill) has anti-spastic effect on smooth muscle. The aim of this study was to investigate the effect of the hydroalcoholic extract of this plant on male rat tracheal smooth muscle contractile activity.

Materials and methods: In this experimental study, tracheas of healthy rats were dissected. We investigated the effect of different concentrations of Dill hydroalcoholic extract in presence and absence of propranolol and L-NAME on reduction of tracheal smooth muscle contraction induced by potassium chloride.

Results: Compared with the negative and positive control groups, the extract of *Anethum graveolens* at 5 gr/l significantly decreased tracheal smooth muscle contraction induced by potassium chloride ($P < 0.05$). Propranolol and L-NAME did not reduce the antispasmodic effect of Dill extract ($P < 0.05$).

Conclusion: Hydroalcoholic extract of *Anethum graveolens* could inhibit the tracheal smooth muscle of rat contractions in a dose-dependent manner, but it seems that β -Adrenergic receptors and NO are not involved in this process.

Keywords: *Anethum graveolens*, smooth muscle, airway

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (160): 146-150 (Persian).

ارزیابی اثر عصاره هیدروالکلی بذر گیاه شوید بر روی انقباضات عضله صاف نای موش صحرایی نر

پرستو جعفرزاده^۱
سید محمد محسنی مهران^۲
حسن مولادوست^۳
محمدرضا نورس فرد^۲
احمد قربانی^۴
محمود عابدین زاده^۱

چکیده

سابقه و هدف: تنگی مجاری تنفسی یکی از بیماری‌های مهم و خطرناک به شمار می‌رود. بذر شوید^۱ دارای اثر ضد اسپاسمی بر عضله صاف می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر عصاره هیدروالکلی بذر گیاه شوید بر روی انقباضات عضله صاف نای موش صحرایی نر بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی روی نای موش‌های صحرایی نر سالم انجام شد. تأثیر دوزهای مختلف عصاره شوید و نیز تأثیر حضور پروپرانولول و L-NAME بر کاهش قدرت انقباض عضله صاف نای حاصل از تأثیر کلرور پتاسیم مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: عصاره بذر گیاه شوید در غلظت ۵ گرم در لیتر به طور معنی‌داری سبب کاهش فعالیت انقباضی عضله صاف نای که توسط کلرید پتاسیم تحریک شده بودند نسبت به گروه کنترل منفی شد ($P < 0/05$). پروپرانولول و L-NAME تأثیری در کاهش خاصیت ضد اسپاسمی عصاره شوید نداشتند ($P < 0/05$).

استنتاج: بذر گیاه شوید توانست به روش وابسته به دوز سبب مهار عضله صاف نای موش صحرایی گردد، اما گیرنده‌های بتا آدرنژیک و نیتریک اکساید در این فرایند نقشی نداشتند.

واژه‌های کلیدی: شوید، عضله صاف، مجاری هوایی

مقدمه

تنگی مجاری هوایی یک عارضه نسبتاً شایع در بین جوامع انسانی می‌باشد (۱). تخمین زده می‌شود تا سال ۲۰۳۰ حدود ۶۴ میلیون نفر از مردم دنیا به بیماری انسدادی ریه مبتلا شوند و این اختلال به عنوان سومین عامل مرگ و میر در دنیا مطرح شود (۲). امروزه استفاده از داروهای گیاهی به خاطر عوارض جانبی کم‌تر در

درمان بسیاری از بیماری‌ها رایج شده است (۳، ۴). گیاه شوید با نام علمی *Anethum graveolens* از خانواده چتریان یا *Apiaceae* است (۵). عصاره آبی الکلی بذر شوید دارای خصوصیات ضد التهابی و ضد دردی می‌باشد و در قدیم به منظور درمان سرفه‌های مزمن مورد استفاده قرار می‌گرفت (۶). هم‌چنین بذر شوید

E-mail: mahmood.abedinzade@gmail.com

مؤلف مسئول: محمود عابدین زاده - رشت: دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دانشکده پزشکی

۱. مربی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۳. دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشکده علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۴. دانشیار، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فارماکولوژی گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۳/۲۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۸/۱۵

انقباض رحم ناشی از کلرور پتاسیم و اکسی توسین را کاهش می دهد (۷). علاوه بر آن اثر ضد اسپاسم و مهاری عصاره آبی الکلی بذر شویید بر انقباضات ایلئوم ناشی از بعضی محرک ها از جمله کلرور پتاسیم، استیل کولین و کلرور باریم نشان داده شده است (۸). اثرات فارماکولوژیک متعدد این گیاه به ویژه اثر ضد انقباضی آن سبب شد تا مطالعه حاضر با هدف احتمال استفاده آن به عنوان یک ترکیب امید بخش در درمان عارضه تنگی مجاری هوایی طراحی گردد.

مواد و روش ها

روش تهیه عصاره

با استفاده از روش ماسراسیون عصاره بذر گیاه مورد نظر تهیه شد (۹).

حیوانات مورد آزمایش

در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۱ سر موش صحرایی در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم تهیه و ۴۲ قطعه نای به طور تصادفی به ۳ گروه ۶ تایی شامل گروه کنترل مثبت، گروه کنترل منفی و گروه دریافت کننده عصاره بذر شویید با دوزهای مختلف تقسیم شد. موش ها پس از تزریق داخل صفاقی تیوپنتال ۵۰ mg/kg بیهوش شده و قفسه سینه حیوان شکافته و قطعه نای به طول ۱ cm جدا شد و در محلول گرم و اکسیژنه کربس- هانسلیت (۳۷) درجه سانتی گراد و pH=7.4 قرار داده شد. قطعه نای مورد آزمایش در یک محفظه حاوی محلول کربس- هانسلیت ۳۷ درجه سانتی گراد (به حجم ۱۰ میلی لیتر) نصب و پیوسته اکسیژن دهی می شد.

روش انجام کار

یک سر قطعه نای را با نخ سیلک ۰/۳ دوخته و به قلاب ترانسدیوسر ایزومتریک وصل می گردید و سر دیگر نوار نای به قلاب انتهایی لوله اکسیژن - دی اکسید کربن فیکس شده کف حمام بافت وصل شد (۱۱). پس

از سپری شدن دوره سازگاری، قطعه نای توسط کلرید پتاسیم ۶۰ میلی مولار منقبض شد و پس از رسیدن انقباض به حالت کفه، مقدار ۰/۱ میلی لیتر از غلظت ۵ گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی بذر شویید به حمام بافت حاوی محلول کربس هانسلیت اضافه شد و میزان اتساع پس از هر بار رسیدن به حالت کفه اندازه گیری شد. سپس پروپرانولول یک میکرو مولار به عنوان مسدود کننده گیرنده های بتا آدرنژیک و از مسدود کننده L-NAME صد میکرومولار به عنوان مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز استفاده شد. هم چنین از محلول کربس به عنوان کنترل منفی و از تنوفیلین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. هم چنین انقباض حاصله از پتاسیم کلرید یا KCl به عنوان انقباض صد در صد در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

برای آنالیز آماری داده ها از نرم افزار آماری SPSS 22 و آزمون Anova و توکی با سطح معنی داری $p < 0.05$ استفاده شد.

یافته ها و بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره هیدروالکلی بذر گیاه شویید با نام علمی *Anethum graveolens* در دوز ۵ گرم در لیتر سبب کاهش معنی دار اثر انقباضی ناشی از پتاسیم کلرید در عضلات صاف نای موش صحرایی می شود. درحالی که در دوزهای ۰/۱ و ۱ گرم در لیتر تاثیر معنی داری در کاهش قدرت انقباضی نداشتند (جدول شماره ۱). نتایج بالا نشان دهنده خاصیت ضداسپاسمی وابسته به دوز عصاره هیدروالکلی بذر گیاه شویید (*Anethum graveolens*) می باشد. نتایج به دست آمده قبلی مویید این موضوع است (۱۰-۸).

مسدود کننده های پروپرانولول و L-NAME سبب تغییر معنی داری در اثر شل کنندگی عصاره شویید نشدند. هر چند این تاثیر در مورد مسدود کننده های بتا آدرنژیک بیش تر محسوس است. وجود گیرنده های بتا آدرنژیک

جدول شماره ۱: تاثیر دوزهای مختلف عصاره شویذ بر انقباض عضله صاف نای موش صحرایی نر

گروه	درصد تغییرات قدرت انقباضی از ۱۰۰ (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد)
کنترل منفی	$1 \pm 99/33$
کنترل مثبت	$1/5 \pm 63/59$
۰/۱ گرم عصاره	$1/5 \pm 99/33$
۱ گرم/لیتر عصاره	$95/67 \pm 3$
۵ گرم/لیتر عصاره	$73/3 \pm 3$

در عضله صاف موش قبلاً گزارش شده است (۱۱). با این حال عدم توانایی پروپرانول، به عنوان مسدودکننده گیرنده بتا آدرنژیک، در مهار یا کاهش عملکرد عصاره مویذ عدم دخالت گیرنده‌های بتا آدرنژیک در عملکرد مهاری عصاره هیدروالکلی بذر شویذ می‌باشد و تحقیقات پیشین نیز این نتیجه را تایید می‌کنند (۷). هم‌چنین گزارش شده است که نیتریک اکساید موجب شل شدن عضلات صاف نای موش صحرایی می‌شود و این عمل مستقل از افزایش غلظت درون سلولی cGMP بوده و مستقیماً روی عضلات صاف تاثیر خود را می‌گذارد (۱۲). در صورتی که عملکرد مهاری عصاره به افزایش سنتز نیتریک اکساید مربوط باشد، مسدودکننده آنزیم سنتز کننده نیتریک اکساید یا L-NAME می‌بایست سبب کاهش معنی‌داری در اثر مهاری عصاره شود. تحقیقات گذشته نیز این مطلب را تایید کرده‌اند (۷).

بنابر اطلاعات موجود، تاثیر عصاره هیدروالکلی بذر شویذ (*Anethum graveolens*) بر روی انقباض عضلات صاف نای موش صحرایی برای اولین بار است که مورد بررسی قرار می‌گیرد. احتمال می‌رود عملکرد مهاری عصاره هیدروالکلی گیاه شویذ با دخالت کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ بروز می‌کند. علاوه

بر این مکانیسم، پیش‌بینی می‌شود که عصاره هیدروالکلی بذر شویذ با مکانیسم‌های دیگری مثل باز کردن کانال‌های پتاسیمی سبب کاهش فعالیت انقباضی در عضلات صاف نای شود. کلرور پتاسیم به عنوان مسدودکننده غیر انتخابی کانال پتاسیمی سبب دپلاریزه شدن غشا و افزایش فعالیت انقباضی عضلات صاف می‌شود (۱۳). بر اساس مطالعات اخیر، عصاره شویذ حاوی تانین و آنتول است، این دو ترکیب حدود ۹۰ درصد عصاره هیدروالکلی شویذ را تشکیل می‌دهد و سبب کاهش انقباضات رحمی هنگام زایمان و هم‌چنین سبب کاهش درد پس از زایمان می‌شوند (۱۴). هم‌چنین نقش تانین در کاهش انقباضات روده به اثبات رسیده است. تانین به همراه ساپونین احتمالاً با بلوکه کردن کانال‌های کلسیمی موجب کاهش انقباضات عضله صاف روده می‌شود (۱۵).

عصاره هیدروالکلی بذر شویذ سبب مهار وابسته به دوز انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم در عضلات صاف نای موش صحرایی شد. احتمالاً این عصاره با مسدود کردن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ این عمل را انجام می‌دهد. هرچند ممکن است که فعالیت ضد انقباضی عصاره شویذ ناشی از فلاونوئید کوئرستین باشد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی گیلان به دلیل حمایت مالی از طرح فوق که پایان نامه دانشجوی ارشد فیزیولوژی می‌باشد، سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Syyong HT, Pascoe CD, Zhang J, Arsenault BA, Solomon D, Elliott WM. Ultrastructure of Human Tracheal Smooth Muscle from Subjects with Asthma and Nonasthmatic Am J Respir Cell Mol Biol 52 (3): 304-314.
2. Psychometric properties of instruments measuring activities of daily living in Patients with COPD: A systematic review. Journal of Health Promotion Management (JHPM) 2015; 4(2): 57-76 (Persian).

3. Rafieian Kopaei M, Baradaran A . Teucirum polium and kidney. J Renal Inj Prev 2013; 2(1): 3-4.
4. Nasri H, Shirzad H, Toxicity and Safety of Medicinal Plant. J Herb Med Pharmacol 2013; 2(2): 21-22.
5. Dhalwal K, Shinde VM, Mahadik KR. "Efficient and Sensitive Method for Quantitative Determination and Validation of Umbelliferone, Carvone and Myristicin in Anethum graveolens and Carum carvi Seed". Chromatographia 1985; 67(1-2): 163-167.
6. Hosseinzadeh H, Karimi GR, Ameri M. Effects of Anethum graveolens L. seed extracts on experimental gastric irritation models in mice. BMC Pharmacol 2002; 2: 21-25.
7. Gharibnaseri M, Mard A, Farbod Y. Effect of Anethum extract on rat uterus contraction. Iran J Basic Med Sci 2005; 8(28): 263-270 (persian)
8. Gharib Naseri M, Heydari A. Spasmolytic Effect of Anethum Graveolens Fruit Extract on Rat ileum. Physiol Pharmacol 2006; 10(2): 99-105 (Persian).
9. Mohseni Mehran M, Norasfard MR, Abedinazade M, Khanaki K. Lamium Album or Urtica Dioica? Which is more effective in decreasing serum glucose, lipid and hepatic enzymes in streptozotocin induced diabetic rats: A comparative study. Afr J Tradit Complement Altern Med 2015; 12(2): 84-88.
10. Vakilzadeh G, Dastgheib SS, Gharib Naseri MK. Effect of Vitis vinifera Leaf Hydroalcoholic Extract on Rat Urinary Bladder Contractility. Neuroscience Journal of Shefaye Khatam 2014; 2(1): 24-30 (Persian).
11. Mohammadinia N, rezaei M, salehian T, dashipoor A. Comparing the effect of Anethum graveolens with mefenamic acid consumption on treatment of primary dysmenorrhea . J Shahrekord Univ Med Sci 2013; 15(5): 57-64 (Persian).
12. Nouraldini M, Mosavi Lordejani M, Haghiri Ebrahimabadi A, Batooli H. Effect of aqueous extract of Althaea root on tracheal smooth muscle in rat. J Shahrekord Univ Med Sci 2010; 11 (4):1-8 (Persian).
13. Dadfar F. The effect of hydroalcoholic extract of Zingiber officinale rhizomes on mechanical activity of isolated trachea of male rats. J Jahrom Univ Med Sci 2014; 12(1):1-7 (Persian).
14. Zhu F, Huang B, Hu CY, Jiang QY, Lu ZG, Lu M. Effects of total flavonoids of Hippophae rhamnoides L. on intracellular free calcium in cultured vascular smooth muscle cells of spontaneously hypertensive rats and Wistar-Kyoto rats. Chin J Integr Med 2005; 11(4): 287-292.
15. Hekmatzade SF, Mirmolaei ST, Hosseini N. The effect of boiled dill (Anethum graveolens) seeds on the long active phase and labor pain intensity. Armaghane Danesh 2014; 17(1):50-59 (Persian).