

Evaluation of Antioxidant and Antihypoxic Activities of *Convolvulus Fruticosus* in Mice

Amin Barani¹Samaneh Rahimi²Mohammad Hossein Hosseinzadeh^{3,4}Ahmad Ramezani⁵Mohammad Ali Ebrahimzadeh^{6,4}¹ Ph.D Student of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran² Pharmacy Student, Ramsar Campus, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar, Iran³ Pharm.D., Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran⁴ Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran⁵ Clinical Pharmacist, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran⁶ Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received September 3, 2023; Accepted May 11, 2024)

Abstract

Background and purpose: The *Convolvulus* genus (Convolvulaceae) is one of the medicinally and economically important genera, including about 250 species broadly distributed worldwide. Many researchers have paid attention to this genus because of its important phytochemical composition, biological activities, and safety. The *Convolvulus* genus contains various chemical profiles such as flavonoids, phenolic acids, coumarins, tannins, and essential oils. All the parts of these plants possess pharmacological activities such as antimicrobial, anticancer, and antioxidant activities. This investigation was designed to study the antioxidant and antihypoxic activities of *C. fruticosus*.

Materials and methods: The aerial parts were extracted by maceration with methanol as a solvent. In this experimental study, antioxidant activities were evaluated by four methods, DPPH and nitric oxide radical scavenging activities, iron chelatory capacity, and reducing power. Total phenolic and flavonoid contents were also investigated. High-performance liquid chromatography was used for the determination of phenolic compounds. The protective effects of extract at 62.5-250 mg/kg were evaluated against hypoxia-induced lethality in mice by three experimental models of hypoxia, i.e. asphyctic, haemic, and circulatory. The time it took for the mice to die (latency for death) was recorded in minutes. The Institutional Animal Ethical Committee of Mazandaran University of Medical Sciences approved the experimental protocol. In the asphyctic hypoxic model, phenytoin (50 mg/kg, i.p.) and in the next two tests, propranolol (20 mg/kg, i.p.) were used as the positive control. Normal saline (0.5 ml, i.p.) was used as the negative control. Analysis of variance was performed followed by Newman-Keuls multiple comparisons (by GraphPad Prism 8) to determine the differences in means. The extract did not show any metal-chelating activity in the chelating test.

Results: Total phenolic and flavonoid contents of the extract were 113.37 GAE and 20.32 QE, respectively. IC₅₀ of extract for DPPH radical-scavenging activity and nitric oxide-scavenging were 85.28 and 177.40 µg/ml, respectively. The extract showed a good effect in reducing the power test and there was no significant difference between extract and standard in higher concentrations ($p > 0.05$). In the haemic model, the extract showed a good and dose-dependent effect in all tested doses. The extract at 62.5 mg/kg increased the survival time by about 2 minutes ($P < 0.01$). At 250 mg/kg, the extract showed a similar effect to propranolol. In the circulatory model, it showed very good completely dose-dependent effects. At 62.5 mg/kg, the extract increased the survival time by more than 2 minutes ($P < 0.01$). The extract at 250 mg/kg increased the survival time by about 8 minutes ($P < 0.0001$). The effect of the extract at 62.5 mg/kg was similar to propranolol. In the asphyctic model, the extract did not show activity in any of the tested doses.

Conclusion: The presence of phenolic compounds in the extract can be responsible for the antioxidant activity observed in the plant extract. By conducting anti-hypoxia tests in two models of haemic and circulatory models, the extract was able to show good protective effects in increasing the survival time of mice. The good antioxidant activity of this extract can be a possible mechanism for the anti-hypoxia activity.

Keywords: *Convolvulus*, asphyctic hypoxia, haemic hypoxia, circulatory hypoxia, antioxidant, flavonoid

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (233): 203-212 (Persian).

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

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی هیپوکسی گیاه *Convolvulus fruticosus* در موش سوری

امین بارانی^۱
سمانه رحیمی^۲
محمد حسین حسین زاده^{۳*}
احمد رمضانی^۵
محمد علی ابراهیم زاده^{۴*}

چکیده

سابقه و هدف: جنس *Convolvulus* (خانواده *Convolvulaceae*) یکی از جنس‌های مهم دارویی است که شامل حدود ۲۵۰ گونه است که به طور گسترده در سراسر جهان توزیع شده‌اند. بسیاری از محققان به جنس *Convolvulus* به دلیل ترکیبات فیتوشیمیایی مهم، فعالیت‌های بیولوژیکی و سلامتی در مصرف آن‌ها توجه کرده‌اند. این جنس حاوی پروفایل‌های شیمیایی مختلفی مانند فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی، کومارین‌ها، تانن‌ها و اسانس‌ها می‌باشد. تمام قسمت‌های این گیاهان دارای فعالیت‌های دارویی مانند فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی هستند. این مطالعه به منظور بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی هیپوکسی *C. fruticosus* طراحی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، عصاره‌گیری اندام هوایی گیاه به روش خیساندن با حلال متانول انجام شد. فعالیت آنتی اکسیدانی با چهار روش بدام اندازه‌ی رادیکال آزاد DPPH، رادیکال آزاد نیتریک اکساید، تست احیاء کنندگی و تست شلاته کنندگی آهن سنجیده شد. محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی ارزیابی شد. کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا برای تشخیص اسیدهای فنولیک در عصاره به کار رفت. اثر محافظتی عصاره در دوزهای ۶۲/۵-۲۵۰ mg/kg در مقابل مرگ و میر ناشی از هیپوکسی در موش سوری با سه مدل خفگی، خونی و جریان خونی مورد ارزیابی قرار گرفت. زمان زنده ماندن موش‌ها به دقیقه اندازه‌گیری شد. کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران نیز پروتکل آزمایشی را تایید کرد. در تست هیپوکسی خفگی، فنی توتین (۵۰ mg/kg، داخل صفاقی) و در دو تست بعدی پروپرانولول (۲۰ mg/kg، داخل صفاقی) به عنوان کنترل مثبت به کار رفت. نرمال سالین به عنوان کنترل منفی به کار گرفته شد. آنالیز واریانس یک سویه و متعاقب آن نیومن کولز با کمک نرم افزار گراف پد پریزم ۸ به منظور تعیین اختلاف بین میانگین‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: محتوای تام فنولی و فلاونوئیدی عصاره به ترتیب معادل ۱۱۳/۳۷ میلی گرم گالیک اسید و ۲۰/۳۲ میلی گرم کوئرستین در هر گرم عصاره بود. مقدار IC_{50} در بدام اندازه‌ی رادیکال آزاد DPPH و نیتریک اکساید برای عصاره به ترتیب ۸۵/۲۸ و ۱۷۷/۴۰ میکروگرم در میلی لیتر به دست آمد. عصاره اثر خوبی در تست احیاء کنندگی از خود نشان داد و اختلاف معنی داری بین عصاره و استاندارد در غلظت‌های بالاتر وجود نداشت ($P > 0.05$). عصاره در تست شلاته کنندگی اثری نداشت. عصاره در هیپوکسی خونی در تمامی دوزها، اثر خوب و وابسته به دوزی از خود نشان داد. در ۶۲/۵ mg/kg موجب افزایش حدود ۲ دقیقه در زمان بقاء در موش‌ها دقیقه شد ($P < 0.05$). عصاره در دوز ۲۵۰ mg/kg اثری مشابه پروپرانولول از خود نشان داد ($P > 0.05$). در هیپوکسی گردش خونی نیز عصاره در تمامی دوزها، اثرات خوب و وابسته به دوزی نشان داد. در ۶۲/۵ mg/kg، بیش از ۲ دقیقه موجب افزایش زمان زنده ماندن در موش‌ها شد ($P < 0.05$). عصاره در دوز ۲۵۰ mg/kg ۸ دقیقه زمان بقا را افزایش داد ($P < 0.001$). تاثیر عصاره در دوز ۶۲/۵ mg/kg و پروپرانولول مشابه بود ($P > 0.05$). در تست هیپوکسی خفگی، عصاره در هیچ یک از دوزهای تست شده فعالیتی از خود نشان نداد.

استنتاج: وجود ترکیبات فنلی در عصاره، می تواند مسئول ایجاد فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده شده در عصاره گیاه باشد. عصاره با انجام تست‌های مربوط به آنتی هیپوکسی در دو مدل هیپوکسی خونی و وابسته به گردش توانست اثرات محافظتی خوبی در افزایش زمان زنده ماندن موش‌های سوری در شرایط مختلف هیپوکسی از خود نشان دهد. فعالیت خوب آنتی اکسیدانی این عصاره می‌تواند مکانیسم احتمالی برای فعالیت آنتی هیپوکسی باشد.

واژه‌های کلیدی: کونولولوس، هیپوکسی گردش خونی، هیپوکسی خفگی، هیپوکسی خونی، آنتی اکسیدان، فلاونوئید

E-mail: zadeh20@yahoo.com

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

۱. دستیار شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشجوی داروسازی، پردیس رامسر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، رامسر، ایران

۳. دکتر داروساز، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. متخصص داروسازی بالینی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۶. استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۶/۱۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۱۱/۲۵ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۲/۲۲

مقدمه

رادیكال‌های آزاد اختلال و بیماری‌های زیادی از جمله ایسکمی، آترواسكلروزیس و سرطان ایجاد می‌کنند (۱). آنتی‌اکسیدان‌ها موجب کاهش این رادیكال‌های آزاد می‌شوند (۲). هیپوکسی می‌تواند به تغییرات زیان‌آوری منجر شده و عامل ایجاد برخی از مشکلات، تخریب‌های بافتی و مرگ و میر در بیماری‌های قلب و عروق است. ترکیبات آنتی‌هیپوکسی درپیشگیری و درمان این مشکلات به کار می‌روند (۳). هیپوکسی در مواردی چون ایسکمی، سكته، سرطان و کوهنوردی بروز می‌کند، لذا یافتن راه حلی که موجب تخفیف مشکلات ناشی از آن شود، تلاشی ضروری می‌باشد (۴). در مطالعات قبلی گیاهانی چون گزنه، زولنگ و گیاه ولیک با اثرات آنتی‌اکسیدانی خوب، فعالیت آنتی‌هیپوکسی بالایی از خود نشان دادند (۵-۸، ۳). جنس *Convolvulus* ۲۵۰ گونه دارد. گیاهان متعلق به این جنس حاوی تعداد زیادی ترکیبات شیمیایی از جمله فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، آنتراکینون‌ها، فیل پروپانوئیدها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها و اسانس هستند (۹). آن‌ها درمان بیماری‌هایی مانند تب، از دست دادن حافظه، یبخوابی و بیماری‌های قلبی به کار می‌روند (۱۰). فعالیت‌های بیولوژیک *C. piloselifolius* به عنوان ضد زخم، *C. arvensis* و *C. piloselifolius* به عنوان مهارکننده رشد تومور و *C. prostratus* در برابر آلزایمر گزارش شده است (۱۱). اثر نوتروپیک، آرام بخش، نورودژنراتیو، آنتی‌اکسیدان، کاهش چربی خون و قند خون، تعدیل‌کننده ایمنی، ضد درد و التهاب، ضد میکروبی، ملین، بهبود زخم، افزایش دهنده حافظه و درمان فشارخون برای *C. pluricaulis* و *C. arvensis* نشان داده است (۱۲، ۱۳). گیاه *C. fruticosus* درخچه‌ای تیغ‌دار، با شاخه‌های گسترده است. اطلاعات در خصوص اثرات بیولوژیک این گیاه بسیار اندک می‌باشد. کومارین‌ها، فلاونوئید، ساپونین و روغن فرار از آن گزارش شده است و محتوای الکلوئید این گیاه ۰/۰۸ درصد بوده و چند الکلوئید از جمله تروپین از آن

گزارش شده است (۱۴، ۱۵). گزارشی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه به دست نیامد، اما به‌طور غیرمستقیم از این فعالیت در تهیه نانو ذرات نقره و طلا استفاده شده است (۱۶، ۱۷). در این تحقیق، ضمن اندازه‌گیری برخی ترکیبات فنولی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی با روش‌های به دام اندازی رادیكال‌های آزاد DPPH و نیتریک اکساید، تست احیاء‌کنندگی و تست شلاته‌کنندگی آهن و فعالیت آنتی‌هیپوکسی با سه روش مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، اندام هوایی گیاه *C. fruticosus* از منطقه فیروزکوه جمع‌آوری شد. عصاره‌گیری با روش خیساندن در متانول انجام شد (راندمان ۶/۴ درصد) (۱۸).

تست‌های آنتی‌اکسیدانی

محتوای تام فنولی با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو بر اساس مقالات قبلی اندازه و نتایج به صورت مقادیر هم‌ارز با استاندارد گالیک اسید بیان شد (۱۸). میزان فلاونوئید تام با روش رنگ‌سنجی انجام شد و به صورت معادل میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش گردید (۱۸). به‌منظور تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از روش DPPH استفاده شد. یک ml از غلظت‌های مختلف عصاره به ۱ ml محلول DPPH اضافه و پس از ۱۵ دقیقه، جذب در ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. قدرت احیا‌کنندگی عصاره از طریق متد گزارش شده قبلی ارزیابی شد (۱۸). غلظت‌های مختلف از عصاره با بافر فسفات و محلول پتاسیم فری سیانید مخلوط شد و پس از ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰، در مجاورت با تری کلرواستیک اسید قرار گرفت. پس از افزایش ۲/۵ میلی‌لیتر آب، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد فریک کلراید، جذب در ۷۰۰ نانومتر قرائت شد (۱۸). به منظور ارزیابی میزان به دام‌اندازی نیتریک اکساید (NO)، عصاره آبی با غلظت‌های

مختلف با محلول سدیم نیتروپروساید عصاره مجاور شد و پس از افزایش واکنشگر گریس، جذب در ۵۴۶ نانومتر قرائت شد (۱۹). به منظور تعیین قدرت شلاته‌کنندگی آهن II، از معرف فروزین استفاده شد و جذب در طول موج ۵۶۲ نانومتر قرائت شد (۱۹).

یافته‌ها و بحث

محتوای تام فنولی موجود در عصاره معادل ۱۱۳/۳۷±۶/۵۸ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره و محتوای تام فلاونوئیدی معادل ۲۰/۳۲±۲/۱۹ میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره به دست آمد. در تست به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH، مقدار IC_{50} برای عصاره ۸۵/۲۸ و برای آسکوربیک اسید ۴۹۲/۸۲ $\mu\text{g/ml}$ به دست آمد. در سایر مطالعات، عصاره اتانلی گیاه *C. pilosellifolius* در این مدل، IC_{50} برابر ۳۸/۰ $\mu\text{g/ml}$ از خود نشان داد. عصاره متانلی گیاه *C. arvensis* پس از تهیه فراکسیون‌های مختلف، در مدل به دام‌اندازی رادیکال DPPH، IC_{50} در محدوده ۱۰۰-۵۱۰ $\mu\text{g/ml}$ از خود نشان داد. این مقدار برای *C. prostrates* در فراکسیون‌های مختلف بین ۱۴/۵ تا ۲۷۵/۰ $\mu\text{g/ml}$ بود (۹). عصاره متانلی *C. pluricaulis* پس از تهیه فراکسیون‌های مختلف، در مدل به دام‌اندازی رادیکال DPPH، IC_{50} برابر ۴۱ $\mu\text{g/ml}$ از خود نشان داد (۲۰). عصاره متانلی و اتیل استاتی *C. arvensis* در مدل به دام‌اندازی رادیکال DPPH، معادل ۱۳۱/۰۳ و ۴۳/۲۱ $\mu\text{g/ml}$ از خود نشان داد (۲۱). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانلی در تحقیق حاضر در جایگاه میانه‌ای قرار داشت. نمودار شماره ۱، قدرت احیاکنندگی عصاره را در مقایسه با ویتامین ث نشان می‌دهد. در غلظت‌های ۴۰۰ و ۸۰۰ $\mu\text{g/ml}$ ، عصاره اثر مشابهی در مقایسه با ویتامین ث از خود نشان داد. در تست قدرت احیاکنندگی از گیاه *C. arvensis*، عصاره متانولی و عصاره اتیل استاتی تهیه شد که هر دو پتانسیل خوبی نشان دادند اما فعالیت عصاره اتیل استاتی بسیار بالاتر بود (۲۱).

روش تست‌های حیوانی

دوزهای ۶۲/۵، ۱۲۵ و ۲۵۰ mg/kg تهیه شد (۸،۳). از موش‌های سوری نر با وزن ۲۵-۲۸ گرم استفاده شد. در هیپوکسی خونی از نیتريت سدیم و در هیپوکسی گردش خونی از سدیم فلورید به عنوان عامل ایجادکننده هیپوکسی استفاده شد. ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی دوزهای مورد نظر از عصاره، عامل ایجاد هیپوکسی به صورت i.p. تزریق شد. اثر ضد هیپوکسی به صورت زمان زنده ماندن در مقایسه با گروه نرمال سالیان بیان گردید. در هیپوکسی خفگی، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی دوزهای مورد نظر از عصاره، حیوان در یک محفظه شیشه‌ای در بسته قرار گرفت. موش‌ها بر اثر هیپوکسی مردند. در تمامی تست‌ها در هر گروه از ۵ سر موش استفاده گردید (۸،۳). کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران پروتکل آزمایشی را تایید کرد (IR.MAZUMS.REC.1398.5999). کلیه اطلاعات به صورت Mean±SD گزارش شد. آنالیز واریانس یک سویه و متعاقب آن نیومن کولز برای مقایسه میانگین‌ها به کار رفت. نتایج با احتمال $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

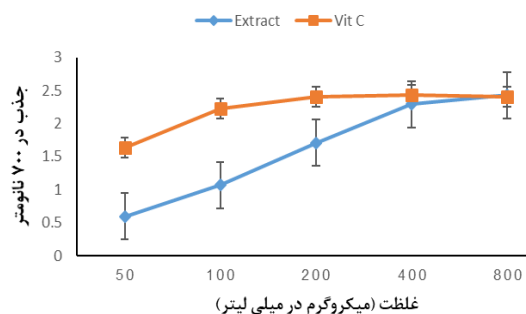
جداسازی به کمک کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا HPLC

سیستم HPLC (مدل K-1001) مجهز به سیستم تزریق Rheodyne، با حجم تزریق ۲۰ μl و آشکارساز اسپکتروفتومتری UV-vis مدل K-2600 از Knauer آلمان، از ستون ODS-C18 استفاده شد. تمامی حلال‌ها با خلوص HPLC بود. سیستم گریادانت شامل حلال A

۱۴/۸۲ $\mu\text{g/ml}$ گزارش شده است (۹). خاصیت آنتی اکسیدانی *C. prostratus* در یک مدل حیوانی نیز تایید شده است. *C. prostratus* اثر محافظتی عصبی در موش های صحرایی نشان داد و مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی مغز را در نقص های حرکتی ناشی از اسید نیتروپروپیونیک و آسیب اکسیداتیو تسریع کرد (۲۵). عصاره اتانولی *C. pluricaulis* فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان داد. فعالیت مهار رادیکال سوپراکسید (۸۸/۷۷ درصد). مطالعات فیتوشیمیایی اولیه روی عصاره وجود فلاونوئیدها را در عصاره اتانولی نشان داد (۱۲).

فعالیت محافظتی کبدی *C. arvensis* در سمیت کبدی ناشی از پاراستامول در موش مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره اتانولی *C. arvensis* (۲۰۰ و ۵۰۰ mg/kg) باعث کاهش معنی دار سطح آنزیم های کبدی و بیلی روبین تام شد. تحقیقات هیستوپاتولوژیک از اثرات محافظتی کبدی *C. arvensis* حمایت کرد (۱۳). یک مطالعه روی فیلم مبتنی بر ژلاتین حاوی *C. arvensis* اثر آنتی اکسیدانی قوی در جلوگیری از تخریب لیپید در گوشت ماهیچه ای نشان داد (۲۲). در مجموع گونه ها مختلف در این بخش فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی دارند.

عصاره در هیپوکسی خونی در تمامی دوزها، اثر خوب و وابسته به دوزی از خود نشان داد. در ۶۲/۵ mg/kg موجب افزایش زمان بقاء در موش ها از ۱۱/۸۰±۰/۶۷ دقیقه به ۱۳/۶۱±۰/۳۷ دقیقه شد ($P<0/05$). در دوز ۲۵۰ mg/kg این افزایش به ۱۵/۳۹±۲/۰۹ دقیقه رسید ($P<0/01$). عصاره در دوز ۲۵۰ mg/kg ، اثری مشابه پروپرانولول از خود نشان داد. در هیپوکسی گردش خونی نیز عصاره در تمامی دوزها، اثرات خوب و وابسته به دوزی نشان داد. در ۶۲/۵ mg/kg ، موجب افزایش زمان زنده ماندن در موش ها از ۱۱/۱۳±۱/۲۲ دقیقه به ۱۳/۲۷±۱/۸۳ دقیقه شد ($P<0/05$). با افزایش دوز به ۱۲۵ mg/kg این زمان به ۱۵/۰۶±۱/۰۸ دقیقه



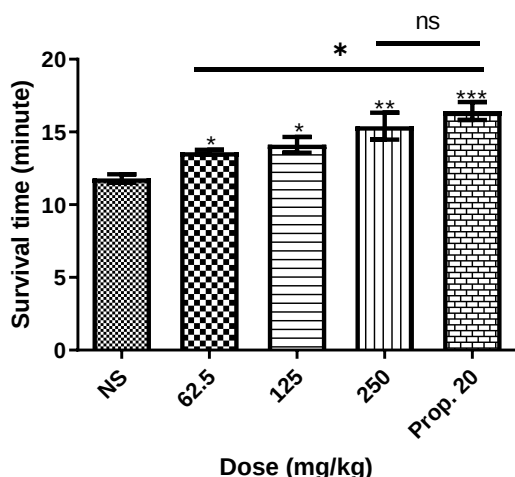
نمودار شماره ۱: قدرت احیا کنندگی عصاره اندام هوایی *C. fruticosus* و ویتامین ث

در تست به دام اندازی رادیکال نیتریک اکساید، مقدار IC_{50} برای عصاره ۱۷۷/۴۰ و برای کوئرستین ۱۹۴ $\mu\text{g/ml}$ به دست آمد. در این مدل، عصاره متانلی و اتیل استاتی گیاه *C. arvensis*، IC_{50} معادل ۱۳۰/۱۲ و ۵۷/۵۰ $\mu\text{g/ml}$ از خود نشان دادند که از گونه تست شده در تحقیق حاضر قوی تر بود (۲۱). نیتریک اکساید به عنوان یک پیام رسان عصبی، نقش زیادی از جمله گشاد کننده عروق و ضد توموری ایفا می کند. مهار کننده های اکسید نیتریک اثرات مفیدی بر برخی از جنبه های التهاب و آسیب بافتی دارند (۲۲، ۲۳). هیپوکسی موجب القاء تولید بیش از حد NO و تولید آنزیم مربوطه نیتریک اکساید سنتاز می گردد. هیپوکسی موجب افزایش پراکسیداسیون چربی می گردد. مهار کننده های نیتریک اکساید سنتاز موجب کاهش پراکسیداسیون چربی ها می شود. بر این اساس به دام اندازی نیتریک اکساید اثر ضد هایپوکسی خواهد داشت. از سوی دیگر، هیپوکسی موجب افزایش قابل ملاحظه ذرات فعال اکسیژن می گردد، بنابراین آنتی اکسیدان ها به عنوان آنتی هیپوکسی مطرح می شوند (۲۴). بر این پایه، تاثیر عصاره ها در تست های آنتی هیپوکسی نیز بررسی شد.

عصاره فعالیت ضعیف شلاته کنندگی آهن II از خود نشان داد. در غلظت ۴۰۰ $\mu\text{g/ml}$ توانست مهار ۸/۵ درصدی از خود نشان دهد. میزان IC_{50} ترکیب EDTA (ترکیب استاندارد) ۱۸/۰۴ $\mu\text{g/ml}$ به دست آمد. در تست شلاته کننده آهن برای *C. prostrates* مقدار IC_{50} برابر

بودند زمان زنده ماندن موش های آزمایشگاهی را در حد فنی توئین افزایش دهند (۳۱-۲۸). در عین حال اثرات قابل توجهی در این مدل از برخی گیاهان هم چون سیاه ولیک و سرخ ولیک حتی تا دوزهای ۴۰۰ mg/kg مشاهده نشد (۸). عصاره ریشه فرولا پرسیکا نیز در دوز ۶۲/۵ موثر نبود (۳۲). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که عصاره اثری در این مدل از هیپوکسی ندارد.

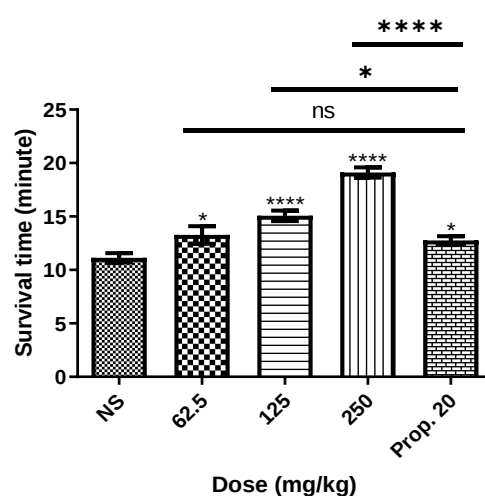
در مدل هیپوکسی خونی، عصاره در تمامی دوزها اثر خوب و وابسته به دوزی از خود نشان داد. در این تست پروپرانولول ۲۰ mg/kg زمان مرگ موش ها را به ۵/۷ دقیقه افزایش داد ($P<0/001$). عصاره در دوز ۲۵۰ mg/kg، اثری مشابه پروپرانولول از خود نشان داد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳: فعالیت آنتی هیپوکسی عصاره متانولی اندام هوایی گیاه *C. fruticosus* در هیپوکسی خونی در موش سوری نر
*: اختلاف نسبت به گروه کنترل نرمال سالین (کنترل منفی)،
****: $P<0/0001$, *: $P<0/05$, ns: not significant

پروپرانولول از عضله قلب در برابر اثرات مضر هیپوکسی و ایسکمی محافظت می کند. این دارو فعالیت تنفسی میتو کندریایی را بهتر می کند. عضله قلب در پاسخ به هیپوکسی، کاتکول آمین ها را آزاد می کند که حساسیت عضله قلب را به کمبود اکسیژن افزایش می دهند. پروپرانولول از این عمل جلوگیری می کند (۳۳). در این

رسید ($P<0/0001$). عصاره در دوز ۲۵۰ mg/kg تاثیر بسیار خوبی از خود نشان داد (۸ دقیقه افزایش) ($P<0/0001$). تاثیر عصاره در دوز ۶۲/۵ mg/kg و پروپرانولول مشابه بود. در دوز ۱۲۵ mg/kg بهتر از پروپرانولول ($P<0/05$) و در دوز ۲۵۰ mg/kg بسیار قوی تر از آن بود ($P<0/0001$) (نمودار شماره ۲). در تست هیپوکسی خفگی، عصاره در هیچ یک از دوزهای تست شده فعالیتی از خود نشان نداد.



نمودار شماره ۲: فعالیت آنتی هیپوکسی عصاره متانولی اندام هوایی گیاه *C. fruticosus* در هیپوکسی گردش خون
*: اختلاف نسبت به گروه کنترل نرمال سالین (کنترل منفی)،
****: $P<0/0001$, *: $P<0/05$, ns: not significant

نقش هیپوکسی به عنوان یک عامل مهم در پاتوژن برخی بیماری ها مانند پلی سیمی، اختلالات قلبی ریوی و کووید-۱۹ مشخص شده است (۲۶). ترکیبات طبیعی و برخی داروها فعالیت آنتی هیپوکسی خوبی دارند و بر این اساس پتانسیل استفاده در درمان محدوده وسیعی از بیماری ها را دارند (۲۷). مدل هیپوکسی خفگی شرایط کمبود اکسیژن را در سلول شبیه سازی می کند. در گزارش های پیشین، عصاره متانولی برگ گیاه مورد و عصاره متانولی گل سیر در دوز ۱۲۵ mg/kg، عصاره اتانولی برگ *Aloysia citrodora* و عصاره متانولی اندام هوایی *Vicia cracca* در دوز ۲۵۰ mg/kg توانسته

اینوتروپیک منفی بر روی میوکارد دوزیستان و پستانداران اعمال کرد (۴۱). از عصاره اتانلی *C. arvensis* اثر گشادکنندگی عروق در آئورت خرگوش گزارش شده است (۱۳). این کار به واسطه کانال‌های پتاسمی وابسته به کلسیم انجام می‌شود. این اثرات مفید می‌تواند در کاهش علائم هیپوکسی مفید باشد و زمان مرگ را در جانداران به تاخیر اندازد.

نتایج HPLC نشان داد که عصاره حاوی ۱۴/۴ میلی گرم اپی کاتشین، ۱۵/۲ میلی گرم پارا کوماریک اسید، ۷/۰ میلی گرم فرولیک اسید و ۱۵/۸ میلی گرم روتین/ گرم پودر می‌باشد (۱۶). اخیراً از ترکیبات فنلی، شامل برخی اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها فعالیت آنتی هیپوکسی گزارش شده است (۴۲، ۴۳). حضور این ترکیبات در عصاره می‌تواند پاسخ‌گوی اثرات آنتی هیپوکسی مشاهده شده باشد. ارتباط مستقیم بین حضور ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی در گیاهان نیز قبلاً اثبات شده است (۴۴). در انجام این کار بهتر بوده است، یکی از فاکتورهای نشان‌دهنده هیپوکسی مانند ارزیابی مقدار اشباع اکسیژن یا سطح خونی فاکتور القا شده با هیپوکسی سنجیده شود؛ اما عملاً بودجه لازم برای انجام این آزمایشات وجود نداشت (۴۵). این موضوع به عنوان محدودیت کار ذکر گردد و پیشنهاد می‌شود، سایر محققان این مورد در نظر بگیرند.

عصاره در دو مدل هیپوکسی خونی و گردش خونی توانست اثرات محافظتی خوبی در افزایش زمان زنده ماندن موش‌ها در شرایط مختلف هیپوکسی از خود نشان دهد. وجود همین ترکیبات فنلی می‌تواند به عنوان عاملی در بروز این فعالیت باشد. فعالیت خوب آنتی اکسیدانی این عصاره می‌تواند مکانیسم احتمالی برای بروی فعالیت آنتی هیپوکسی باشد.

سپاسگزاری

این مقاله، حاصل پایان‌نامه رشته داروسازی خانم سمانه رحیمی در دانشکده داروسازی پردیس رامسر می‌باشد.

مدل عصاره اتانولی اندام هوایی *Delphinium elbursense* و عصاره متانولی میوه بامیه در دوز ۱۰۰۰ mg/kg توانستند زمان زنده ماندن را به ترتیب تا $19/23 \pm 1/94$ و $22/18 \pm 0/33$ دقیقه افزایش دهند ($P < 0/001$) (۳۵، ۳۴). هم‌چنین گزارش‌هایی از اثرگذاری تعدادی از گیاهان همچون عصاره هیدروالکلی *Arenaria kansuensis* در دوز ۶۰۰ mg/kg، عصاره متانولی گل آذین زولنگ در دوز ۶۰۰ mg/kg، عصاره هیدروالکلی گل‌های *Eriobotrya japonica* در دوز ۵۰۰ mg/kg، عصاره متانولی گل گردو و گل سیر در دوز ۱۲۵ mg/kg و عصاره آبی اندام هوایی *Hypericum scabrum* در دوز ۳۱/۲۵ mg/kg به چاپ رسیده است (۳۶-۳۹، ۲۹، ۳). در مدل هایپوکسی گردش خون، عصاره حتی در ۶۲/۵ mg/kg موجب افزایش زمان زنده ماندن در موش‌ها به میزان ۲/۱ دقیقه شد که مشابه تاثیر پروپرانولول بود. تاثیر عصاره در دوز ۱۲۵ mg/kg بهتر از پروپرانولول و در دوز ۲۵۰ mg/kg بسیار قوی‌تر از آن بود ($P < 0/0001$). سدیم فلوراید در هایپوکسی وابسته به گردش خون باعث لیز شدن هموگلوبین و در نتیجه کاهش ظرفیت حمل اکسیژن می‌گردد (۳). در مطالعات پیشین، فراکسیون پلی فنول میوه سیاه ولیک و سرخ ولیک در دوز ۱۰۰ mg/kg توانستند به ترتیب زمان زنده ماندن موش‌های آزمایشگاهی را از $9/29 \pm 0/95$ دقیقه در گروه کنترل به $38/67 \pm 9/81$ و $26/44 \pm 8/32$ دقیقه افزایش دهند که بسیار قابل توجه بود ($P < 0/001$) (۸). هم‌چنین فراکسیون پلی فنولی گل آذین زولنگ در دوز ۴۰۰ mg/kg ($P < 0/001$)، عصاره متانولی اندام هوایی گیاه گزنه در دوز ۳۰۰ mg/kg ($P < 0/001$)، عصاره اتانولی برگ *Aloysia citrodora* در دوز ۲۵۰ mg/kg و عصاره متانولی برگ گیاه پلم در دوز ۶۲/۵ mg/kg اثرات قابل توجهی از خود نشان دادند (۳۰، ۲۸، ۳). در گزارش اخیر، عصاره گیاه ختمی در دوز ۱۲۵ mg/kg زمان بقا را نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی داری حدود ۴ دقیقه افزایش داد (۴۰).

عصاره اتانولی کل گیاه *C. pluricaulis* یک اثر

References

1. Nabavi SF, Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Jafari N, Yazdanpanah S. Biological activities of freshwater algae, *Spirogyra singularis* Nordstedt. *J Aquat Food Prod Technol* 2013; 22(1): 58-65.
2. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Eslami B. Free radical scavenging ability of methanolic extract of *Hyoscyamus squarrosus* leaves. *Pharmacologyonline* 2009; 2: 796-802.
3. 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.
4. Ostrovskaya RU. Differences in the mechanism of antihypoxic action of benzodiazepine receptor agonists and muscimol. *Biull Eksp Biol Med* 2008; 98(10): 436-439.
5. 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.
6. 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.
7. Ebrahimzadeh M, Bahramian F. Antioxidant activity of *Crataegus pentaegyna* subsp. *elburensis* fruits extracts. *Pak J Biol Sci* 2009; 12(5): 413-419.
8. Ebrahimzadeh MA, Khalili M, Jafari N, Zareh G, Farzin D, Amin G. Antihypoxic activities of *Crataegus pentaegyna* and *Crataegus microphylla* fruits-an in vivo assay. *Braz J Pharm Sci* 2018; 54(2): e17363.
9. Salehi B, Krochmal-Marczak B, Skiba D, Patra JK, Das SK, Das G, et al. *Convolvulus* plant—A comprehensive review from phytochemical composition to pharmacy. *Phytother Res* 2020; 34(2): 315-328.
10. Sethiya NK, Mishra S. Review on ethnomedicinal uses and phyto-pharmacology of memory boosting herb *Convolvulus pluricaulis* Choisy. *Australian J Med Herbalism* 2010; 22(1): 19-25.
11. Rachitha P, Krupashree K, Jayashree GV, Kandikattu HK, Amruta N, Gopalan N, et al. Chemical composition, antioxidant potential, macromolecule damage and neuroprotective activity of *Convolvulus pluricaulis*. *J Tradit Complement Med* 2018; 8(4): 483-496.
12. Egamberdieva D, Jabborova D. Medicinal plants of Uzbekistan and their traditional uses. In: *Vegetation of Central Asia and Environs*. Springer Nature Switzerland AG; 2018. p. 211-237.
13. Al-Snafi AE. The chemical constituents and pharmacological effects of *Convolvulus arvensis* and *Convolvulus scammonia*-A review. *IOSR J Pharm* 2016; 6 (6): 64-75.
14. Okhunov II, Mirzaev Yu R, Bobakulov KhM, Abdullaev ND, Aripova SF. Constituents of *Convolvulus fruticosus* and pharmacological activity of the main alkaloid cuscohygrine. *Chem Nat Compd* 2016; 52: 558-559.
15. Abu-Shandi KH, Al-Soufi H, Sawalqa M. A Quick GC/MS Method correlated with LC/MS/MS for the identification of medicinal natural products in *Convolvulus arvensis*: an injury healing plant. *Eurasian J Anal Chem* 2015; 10(3): 137-149.
16. Shirzadi-Ahodashi M, Mizwari ZM, Hashemi Z, Rajabalipour S, Ghoreishi SM, Mortazavi-Derazkola S, Ebrahimzadeh MA.

- Discovery of high antibacterial and catalytic activities of biosynthesized silver nanoparticles using *C. fruticosus* (CF-AgNPs) against multi-drug resistant clinical strains and hazardous pollutants. *Environ Technol Innov* 2021; 23: 101607.
17. Ebrahimzadeh MA, Naghizadeh A, Mohammadi-Aghdam S, Khojasteh H, Ghoreishi SM, Mortazavi-Derazkola S. Enhanced catalytic and antibacterial efficiency of biosynthesized *Convolvulus fruticosus* extract capped gold nanoparticles (CFE@ AuNPs). *J Photochem Photobiol B: Biology* 2020; 209: 111949.
 18. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Eslami B. Antioxidant activity of aqueous extract of *Pyrus boissieriana* fruit. *Pharmacologyonline* 2009; 1: 1318-1323.
 19. Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Bahramian F. In vitro antioxidant activity of *Phytolacca americana* berries. *Pharmacologyonline* 2009; 1: 81-88.
 20. Verma S, Sinha R, Kumar P, Amin F, Jain J, Tanwar S. Study of *Convolvulus pluricaulis* for antioxidant and anticonvulsant activity. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem* 2012; 12(1): 55-59.
 21. Thakral J, Borar S, Kalia AN. Antioxidant potential fractionation from methanol extract of aerial parts of *Convolvulus arvensis* Linn, (Convolvulaceae). *Int J Pharm Sci Drug Res* 2010; 2(3): 219-223.
 22. Azman NAM, Gallego MG, Juliá L, Fajari L and Almajano MP. The effect of *Convolvulus arvensis* dried extract as a potential antioxidant in food models. *Antioxidants* 2015; 4(1): 170-184.
 23. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM, Pourmorad F. Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. *Afr J Biotechnol* 2010; 9(32): 5212-5217.
 24. Barani A, Motafeghi F, Eghbali M, Mansourian D, Mirzaalilou S, Dadollahi Sarab P, Ebrahimzadeh MA. Evaluation of antihypoxic activities of *Feijoa sellowiana*, *Nepeta pogonosperma* and *Cucumis melo* in mice. *J Mazandaran Uni Med Sci* 2023; 33(226): 14-27 (Persian).
 25. Kaur M, Prakash A, Kalia AN. Neuroprotective potential of antioxidant potent fractions from *Convolvulus pluricaulis* Choisy. in 3-nitropropionic acid challenged rats. *Nutr Neurosci* 2016; 19(2): 70-78.
 26. Cavezzi A, Troiani E, Corrao S. COVID-19: hemoglobin, iron, and hypoxia beyond inflammation. A narrative review. *Clin Pract* 2020; 10(2): 24-30.
 27. Mohsenpour H, Pesce M, Patruno A, Bahrami A, Pour PM, Farzaei MH. A review of plant extracts and plant-derived natural compounds in the prevention/treatment of neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Int J Mol Sci* 2021; 22(2): 833.
 28. Kaveh K, Mohammadyan 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).
 29. Shahbazee M, Mohammadyan M, Ali Ebrahimzadeh M. Antihypoxic activities of *Allium sativum* flower in mice. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 29(175): 145-149 (Persian).
 30. Hosseinzadeh MH, Ebrahimzadeh MA. Protective effects of ethanolic extract of Lemon Beebrush (*Aloysia citrodora*) leaf against hypoxia-induced lethality in mice. *Tabari Biomed Stu Res* 2019; 1(4): 1-7 (Persian).
 31. Ataee R, Hasani H, Mohammadyan M, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic activities of aerial parts and roots of *Ferula persica* in

- Mice. J Mazandaran Uni Med Sci 2020; 30(189): 126-132 (Persian).
32. Nayler WG, Yepez CE, Fassold E, Ferrari R. Prolonged protective effect of propranolol on hypoxic heart muscle. Am J Cardiol 1978; 42(2): 217-225.
33. Ebrahimzadeh M, Nabavi S, Nabavi S, Mahmoudi M, Eslami B, Dehpour A. Biological and pharmacological effects of Delphinium elbursense. Afr J Biotechnol 2010; 9(34): 5542-5549.
34. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM, Eslami B. Antihypoxic and antioxidant activity of Hibiscus esculentus seeds. Grasas Y Aceites 2010; 61(1): 30-36.
35. Cui Y, Tao Y, Jiang L, Shen N, Wang S, Wen H, et al. Antihypoxic activities of constituents from Arenaria kansuensis. Phytomedicine 2018; 38: 175-182.
36. Nabavi SF, Nabavi SM, Moghaddam AH, Hellio C, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic, nephroprotective and antioxidant properties of hydro-alcoholic extract of loquat flowers. Progress in Nutrition 2015; 17(3): 255-261.
37. Nabavi SF, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Mahmoudi M, Rad SK. Biological activities of Juglans regia flowers. Rev Bras Farmacogn 2011; 21(3): 465-470.
38. Eslami B, Nabavi S, Nabavi S, Ebrahimzadeh M, Mahmoudi M. Pharmacological activities of Hypericum scabrum L. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2011; 15(5): 532-537.
39. Hosseinzadeh MH, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic activities of Hibiscus rosa sinensis in Mice. J Mazandaran Uni Med Sci 2020; 30(186): 133-140 (Persian).
40. Nahata A, Patil UK, Dixit VK. Anxiolytic activity of Evolvulus alsinoides and Convolvulus pluricaulis in rodents. Pharm Biol 2009; 47(5): 444-451.
41. Masoomzadeh F, Khan BA, Alshahrani SM, Alqahtani A, Ebrahimzadeh MA, Khalili M. Protective effects of rutin and chlorogenic acid against antihypoxic conditions in mice. Pak J Pharm Sci 2021; 34(5): 1679-1683.
42. Barani A, Rezaee H, Diney K, Ebrahimzadeh MA. Evaluation of antihypoxic activities of naringin and naringenin in asphyxia, haemic and circulatory hypoxia models in mice. J Mazandaran Uni Med Sci 2024; 34(232): 204-212 (Persian).
43. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Bahramian F, Bekhradnia AR. Antioxidant and free radical scavenging activity of H. officinalis L. var. angustifolius, V. odorata, B. hyrcana and C. speciosum. Pak J Pharm Sci 2010; 23(1): 29-34.
44. Malekan M, Ebrahimzadeh MA, Sheida F. The role of Hypoxia-Inducible Factor-1alpha and its signaling in melanoma. Biomed Pharmacother 2021; 141: 111873.