BRIEF REPORT

Evaluation of Anti Hypoxic Activities of Pomegranate (Punica Granatum) Seeds and Peels in Mice

Farideh Kamalifar[1],
Mohammad Hossein Hosseinzadeh[2],
Mohammad Eghbali[2],
Mohammad Ali Ebrahimzadeh[3]

[1] Medical Student, Ramsar Campus, Mazandaran University of Medical Sciences, Ramsar, Iran
[2] PharmD, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 5, 2023 ; Accepted February 24, 2024)

Abstract

Background and purpose: Hypoxia, a decrease in available oxygen reaching the tissues, may cause a variety of physiological abnormalities. It is linked to the pathology of stroke, cardiovascular disease, and acute mountain sickness. Hypoxia occurs especially in heart diseases, ischemia, and heart attack, and finally causing death. Hypoxia causes oxidative stress involving the production of reactive oxygen species (ROS). Compounds with antioxidant activity can scavenge ROS and can exhibit anti-hypoxic properties. Pomegranate *(Punica granatum)* is a well-known fruit with very good anti-ischemic and antioxidant activities. Little is known about the protective effects of pomegranate against hypoxia-induced lethality. Several medicinal plants have accepted anti-hypoxic activities. In the present study, the protective effect of this fruit against hypoxia-induced lethality in mice was determined by three different experimental models.

Materials and methods: Protective effects of methanolic extract of Pomegranate's seed and peel against hypoxia-induced lethality in mice were evaluated by three experimental models of hypoxia, i.e. asphyctic, haemic, and circulatory models. The latencies for death for mice were recorded. All the experimental procedures were conducted by the NIH guidelines of the Laboratory Animal Care and Use. The Institutional Animal Ethical Committee of Mazandaran University of Medical Sciences also approved the experimental protocol. In the asphyctic hypoxic model, phenytoin (50 mg/kg, i.p.) and in the next two tests, propranolol (20 and 30 mg/kg, i.p.) were used as the positive control. In all tests, Normal saline (0.5 ml, i.p.) was used as the negative control. One-way analysis of variance (ANOVA) was performed followed by the Newman-Keuls multiple comparisons test was used to determine the differences in means. All p values less than 5% were considered as significant.

Results: Extracts showed good anti-hypoxic activities in some tested models in mice. In the hemic model, Peel extract at 250 mg/kg significantly prolonged mice survival time for about 4.8 minutes ($P<0.001$). At this dose, it showed the same activity of propranolol 20 mg/kg which was used as positive control. In the circulatory antihypoxic model, peel extract at 250 mg/kg, significantly increased the survival time by about 5.4 minutes ($P<0.0001$). At this dose, the extract showed the same activity as propranolol 30 mg/kg ($P>0.05$). In the asphyctic anti hypoxic model, seed extract at 250 mg/kg prolonged the survival time for 2.4 minutes in the control group. But this increase was not statistically significant ($P>0.05$). Peel extract at 62.5 mg/kg prolonged the survival time for 4.2 minutes in the control group, but this increase was also not statistically significant ($P>0.05$). Peel extract showed good activity in an asphyctic model where at 125 mg/kg. It increased the survival time of mice about 2 times ($P<0.0001$). At this dose, extract showed higher activity than phenytoin 50 mg/kg. The survival time for the group that received phenytoin was 29.60 ± 2.51 minutes which was statistically significant than that of the control group ($P<0.001$).

Conclusion: Extracts showed very good protective effects against hypoxia in some tested models. In particular, the effects in the asphyctic model of hypoxia were high. Peel extract was stronger than seed extract. Phenolic compounds may be responsible for the anti-hypoxic activities of these extracts.

Keywords: hypoxia, asphyctic hypoxia; circulatory hypoxia; haemic hypoxia; Pomegranate, *Punica granatum.*

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 33 (230): 138-145 (Persian).

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

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-11-06]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره ۲۳۰ اسفند سال ۱۴۰۲ (۱۴۵-۱۳۸)

ارزیابی فعالیت آنتی‌هیپوکسی دانه و پوست انار در موش سوری

فریده کمالی فر[۱]
محمد حسین حسین زاده[۲]
محمد اقبالی[۲]
محمد علی ابراهیم زاده[۳]

چکیده

سابقه و هدف: هیپوکسی، کاهش اکسیژن موجود در بافت‌های بدن، می‌تواند باعث ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی متعدد شود. هیپوکسی با پاتولوژی سکته مغزی، بیماری قلبی عروقی و بیماری کوه گرفتگی مرتبط است. هیپوکسی به خصوص در حملات قلبی و ایسکمی رخ داده و در نهایت به مرگ منجر می‌شود. هیپوکسی موجب استرس اکسیدتیو و تولید ذرات فعال اکسیژن می‌گردد. ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌توانند این ذرات را حذف کرده و فعالیت آنتی‌هیپوکسی نشان دهند. انار میوه مشهوری است که فعالیت آنتی‌ایسکمی و آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی دارد. تا امروز اطلاعات کمی در خصوص اثرات محافظتی انار در برابر کشندگی ناشی از هیپوکسی وجود دارد. برخی از گیاهان دارویی، اثرات پذیرفته شده‌ای در هیپوکسی دارند. این مطالعه با هدف تعیین اثر محافظتی میوه انار در مقابل مرگ و میر ناشی از هیپوکسی در موش سوری با سه مدل تجربی مختلف، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: اثر محافظتی عصاره متانلی دانه و پوست میوه‌ی انار در مقابل مرگ و میر ناشی از هیپوکسی در موش سوری با سه مدل هیپوکسی خفگی، خونی و جریان خونی بررسی شد. زمان زنده ماندن موش‌ها اندازه‌گیری شد. تمام مراحل آزمایشی مطابق با دستورالعمل‌های موسسه ملی بهداشت (NIH) در خصوص مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران نیز پروتکل آزمایشی را تایید کرد. در تست هیپوکسی خفگی، فنی توئین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی) و در دو تست بعدی پروپرانولول (۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم برکیلوگرم، داخل صفاقی) به عنوان کنترل مثبت به‌کار رفتند. در تمامی تست‌ها، نرمال سالین به عنوان کنترل منفی به کار گرفته شد. آنالیز واریانس یک سویه (آنووا) و متعاقب آن نیومن کولز به منظور تعیین اختلاف بین میانگین‌ها استفاده شد. مقادیر P کم‌تر از ۵ درصد معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: عصاره‌ها در برخی مدل‌های تست شده ضد هیپوکسی، فعالیت خوبی در موش‌ها از خود نشان دادند. در مدل خونی عصاره پوست در دوز ۲۵۰ mg/kg، زمان مرگ را موش‌ها حدود ۴/۸ دقیقه افزایش داد(P<۰/۰۰۱). در این دوز اثری مشابه پروپرانولول ۲۰ mg/kg داشت که به عنوان کنترل مثبت به کار رفت. عصاره پوست در دوز ۲۵۰mg/kg در مدل گردش خونی، زمان مرگ را در موش‌ها ۵/۴ دقیقه افزایش داد (P<۰/۰۰۰۱). در این دوز اثری مشابه پروپرانولول ۳۰ mg/kg از خود نشان داد (P>۰/۰۵). در مدل خفگی، عصاره دانه در دوز ۲۵۰mg/kg، به میزان ۲/۴ دقیقه موجب افزایش زمان بقاء در موش‌ها شد؛ اما این افزایش از نظر آمار معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). عصاره پوست در دوز ۶۲/۵mg/kg، زمان مرگ را ۴/۲ دقیقه افزایش داد؛ اما این افزایش نیز از نظر آماری معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵). عصاره پوست اثر خوبی در مدل خفگی نشان داد. در دوز ۱۲۵ mg/kg، زمان بقاء را حدودا ۲ برابر نمود (P<۰/۰۰۰۱). در این دوز عصاره اثری قوی‌تر از فنی‌توئین ایجاد کرد (P<۰/۰۵). زمان زنده ماندن در گروه‌های دریافت‌کننده فنی‌توئین ۲/۵۱±۲۹/۶۰ دقیقه بود که تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشت (P<۰/۰۰۱).

استنتاج: عصاره فعالیت محافظتی خوبی در برخی مدل‌ها از خود نشان داد. تاثیر عصاره به ویژه در مدل خفگی بالا بود. عصاره پوست قوی‌تر از عصاره دانه بود. محتوای ترکیبات فنلی می‌تواند پاسخگوی اثرات ضد هیپوکسی مشاهده شده عصاره‌ها باشد.

واژه های کلیدی: هیپوکسی، هیپوکسی خفگی، هیپوکسی خونی، هیپوکسی جریان خون، انار

مولف مسئول: محمدعلی ابراهیم‌زاده- ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: zadeh20@yahoo.com
۱. دانشجوی پزشکی، پردیس رامسر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، رامسر، ایران
۲. دکتر داروساز، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۸/۱۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۲/۸/۲۸ تاریخ تصویب : ۱۴۰۲/۱۲/۵

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-11-06]

مقدمه

به‌نظر می‌رسد سریع‌ترین راه برای مدیریت چالش‌های دارویی و بهداشتی در کشورهای در حال توسعه استفاده از گیاهان دارویی باشد. این گیاهان حاوی ترکیباتی هستند که پتانسیل‌های دارویی به آن‌ها می‌بخشد. ازجمله این ترکیبات، پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها هستند که خواص فارماکولوژیکی گسترده‌ای از جمله ضد سرطانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی دارند. بنابراین، تحقیقات بر روی توسعه این ترکیبات فعال زیستی قوی متمرکز شده است. فیتوکیمیکال‌ها در واقع به عوامل درمانی نوظهور تبدیل شده‌اند(۱). هیپوکسی معضل بزرگی است که در بسیاری از بیماری‌ها بروز می‌کند. کمبود اکسیژن بافتی در بیماری‌های قلبی عروقی مانند سکته، خونریزی، ایسکمی، تولد نوزاد نارس، در بیماری کوه گرفتگی و در برخی تومورهای سرطانی بروز می‌کند. بروز هیپوکسی می‌تواند به مرگ منجر شود. نظر به این که داروهای بسیار محدودی در بازار دارویی در حل مشکل هیپوکسی وجود دارد، هر گونه تلاش در جهت یافتن ترکیبات انتی هیپوکسی که باعث تخفیف و کاهش عوارض یا مرگ و میر ناشی از آن شود، مفید و ضروری به نظر می‌رسد(۲). در برخی سویه‌های مولد کووید-۱۹ نیز هیپوکسی رخ می‌دهد؛ بر همین اساس استراتژی مبتنی بر استفاده از انتی هیپوکسی‌ها در درمان کووید-۱۹ طرح شده است. فعالیت بالای آنتی هیپوکسی دگزامتازون به عنوان یکی از مکانیسم‌های پیشنهادی عملکرد این دارو در کووید-۱۹ گزارش شد(۳).

خانواده پونیکاسه دارای یک جنس Punica و دو گونه است که گونه مشهور آن انار *P. granatum* است. انار به دلیل خواص دارویی فراوان به عنوان یک میوه شگفت انگیز شناخته شده است(۴). پوست انار به‌عنوان یک دور ریز کشاورزی، دست کم گرفته می‌شود، اگرچه با کاربردهای بومی و خاصیت قابض است. پوست انار به دلیل کاربردهای متعدد آن به عنوان عامل احیاءکننده در ساخت نانوذرات نقره به‌صورت دوستدار محیط زیست عمل می‌کند. هم‌چنین برای خوراک دام و استخراج رنگ‌های طبیعی استفاده می‌شود. خواص درمانی بالقوه پوست انار گسترده بوده و شامل درمان و پیشگیری از سرطان، بیماری قلبی عروقی، محافظ کبدی، دیابت، ضد چربی، در مشکلات دندانی و اختلال نعوظ، محافظت در برابر اشعه ماوراء بنفش، ضد التهاب، ضد میکروبی و کاربردهای دیگر شامل ایسکمی مغز نوزاد، بیماری آلزایمر، آرتریت، زخم‌های پوستی و چاقی است(۶-۴). انار پتانسیل ضد ویروسی و ضد کووید-۱۹ نیز دارد(۷).

اثر محافظتی عصاره انار در مقابل ایسکمی در مغز موش نوزاد، جراحت ایسکمی- ری پرفیوژن مغزی در موش صحرایی، جراحت ایسکمی- ری پرفیوژن در کلیه موش صحرایی و جراحت ایسکمی- ری پرفیوژن در تخمدان موش صحرایی گزارش شده است(۱۱-۸). اخیرا تحقیقی به کمک فارماکولوژی شبکه (Network pharmacology)، داکینگ مولکولی و اعتبارسنجی تجربی (experimental validation) با هدف بررسی این‌که آیا پوست انار ممکن است داروی مناسبی برای بیماری کوه گرفتکی باشد، انجام شده است. این مطالعه به شکل برون‌تنی کاهش آسیب هایپوکسیک بر سلول‌های H9c2 توسط عصاره پوست انار نشان داد. بنابراین نتیجه گرفته شد که عصاره پوست انار در بیماری کوه گرفتگی ناشی از کمبود اکسیژن در ارتفاعات موثر است(۱۲).

نظر به اثرات قلبی عروقی، فعالیت انتی اکسیدانی خوب و اثر ضد ایسکمی انار، تصمیم گرفته شد تا در غالب یک غربالگری، در ادامه کار به سوی کشف ترکیبات طبیعی و گیاهان موثر در کووید-۱۹، فعالیت آنتی‌هیپوکسی دانه و پوست انار در سه روش خونی، گردش خونی و خفگی مورد بررسی قرار گیرد(۱۳).

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی با کد اخلاق IR.MAZUMS.3.REC.1402.17263، میوه‌های رسیده انار از شهرستان بهشهر (مازندران) خریداری و توسط

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-11-06]

دکترای سیستماتیک گیاهی (آقای دکتر بهمن اسلامی) تایید شد. میوه‌ها پوست‌گیری شده و از دانه‌ها جدا شدند. پس از خشک‌شدن در آون (دمای ۴۵ درجه برای ۳ روز) به‌صورت جداگانه، هر یک به پودر ریز (۲-۳ میلی‌متر) تبدیل شدند. از دانه‌ها و پوست این گیاه، عصاره متانلی با روش خیساندن تهیه شد. بدین‌منظور ۵۰ گرم از هر پودر به‌طور جداگانه با ۲۵۰ میلی‌لیتر متانل مخلوط شده و ۳ روز به همین حالت در دمای محیط رها شد. در پایان روز سوم، مجموعه صاف شده و متانل حاصل در دمای ۳۵ درجه در دستگاه روتاری تحت خلا حذف گردید. عصاره‌های حاصل در یخچال نگهداری شد و در هنگام استفاده در نرمال سالین حل و به غلظت (دوز) مورد نظر رسانده شد(۱۴). از موش‌های سوری نر با وزن ۲۱-۲۵ گرم که از انیستیتو پاستور آمل تهیه شده بود، استفاده گردید. گروه‌های مورد مطالعه که هر گروه شامل ۵ سر موش سوری بود، درقفس‌های مجزا تحت وضعیت کنترل شده درجه حرارت (بین ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و روشنایی (دوره‌ای ۱۲ ساعت روشن ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شد. پلت غذا و آب جهت تغذیه به‌صورت آزادانه در دسترس آن‌ها قرار گرفت. رعایت اصول اخلاقی به تایید کمیته اخلاق رسید. در هر تست دوز ۶۲/۵ mg/kg از هر عصاره در نرمال سالین استفاده شد و سپس حسب پاسخ، دوز بعدی انتخاب شد(۱۵). در هر تست سه دوز به کار رفت. در مدل هیپوکسی خفگی، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی(i.p.) عصاره‌ها، حیوان در یک محفظه شیشه‌ای دربسته به حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر قرار گرفت. به منظور جلوگیری از مرگ به علت ایجاد اسیدوز، یک بسته کوچک آهک در هر ظرف قرار داده شد. در مدل هیپوکسی خونی، نیتریت سدیم ۳۶۰ mg/kg، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق i.p. دوزهای مورد نظر از هر عصاره و در مدل هیپوکسی وابسته به گردش خون، سدیم فلورید ۱۵۰ mg/kg (هر دو در نرمال سالین) تزریق گردید. اثر ضدهیپوکسی به‌صورت "میزان زمان زنده بودن موش" گزارش شد. در تمامی تست‌ها، نرمال سالین به‌عنوان کنترل منفی، در هیپوکسی خفگی، فنی‌توئین و در دو مدل دیگر، پروپرانولول به‌عنوان کنترل مثبت به کار رفت.

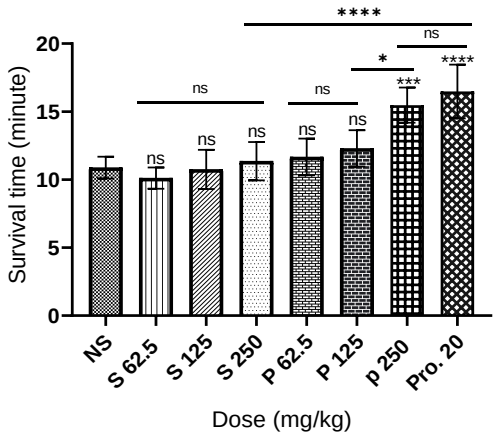
تعیین محتوای تام فنولی و فلاونوئید

محتوای تام فنولی از طریق متد فولین سیو کالتیو انجام شد(۱۶). ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین سیو و ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم مخلوط و جذب نمونه پس از ۲ ساعت در ۷۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. میزان محتوای تام فلاونوئید هر عصاره از طریق رنگ سنجی ارزیابی شد(۱۷). ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید و ۰/۱ میلی‌لیتر از پتاسیم استات و در ۲/۸ میلی‌لیتر آب مخلوط و جذب آن پس از ۳۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. اطلاعات به صورت Mean±SD گزارش شد. آنالیز واریانس یک سویه و متعاقب آن نیومن کولز برای مقایسه میانگین‌ها به‌کار رفت. برای انجام برنامه‌های آماری از گراف پد پریزم ۸ استفاده شد.

یافته‌ها و بحث

عصاره متانلی دانه و پوست انار اثر چندانی در تست آنتی‌هیپوکسی خونی از خود نشان ندادند. عصاره پوست در دوز ۱۲۵ mg/kg موجب افزایش حدود ۱/۴ دقیقه‌ای زمان زنده ماندن موش‌ها شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). اما همین عصاره در بالاترین دوز تست شده، ۲۵۰ mg/kg فعالیت خوبی از خود نشان داد و زمان مرگ را از ۱۰/۸۸±۰/۸۱ دقیقه برای گروه کنترل به ۱۵/۴۸±۱/۲۹ دقیقه افزایش داد. این افزایش ۴/۶ دقیقه‌ای از نظر آماری معنی‌دار بود(P<۰/۰۰۱). پروپرانولول در دوز ۲۰ mg/kg به‌طور معنی‌داری زمان مرگ را ۵/۴۰ دقیقه افزایش داد (P<۰/۰۰۰۱). عصاره پوست انار در دوز ۲۵۰ mg/kg اثر یکسانی با پروپرانولول از خود نشان داد(P>۰/۰۵)(نمودار شماره ۱). تاثیر عصاره‌ها در دوزهای ۶۲/۵ و ۱۲۵ mg/kg با هم مشابه بود اما تاثیر عصاره پوست انار در ۲۵۰ به مراتب بالاتر از عصاره دانه بود(P<۰/۰۱).

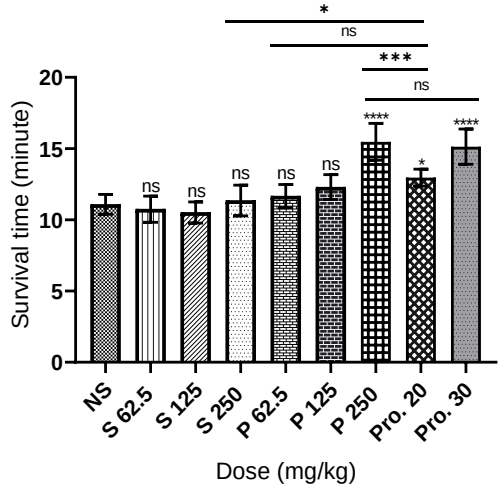
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-11-06]



نمودار شماره ۱: مقایسه فعالیت آنتی هایپوکسی عصاره متانلی دانه و پوست انار در هیپوکسی خونی در موش سوری نر، * نسبت به گروه کنترل منفی، (P<۰/۰۰۰۱)****، (P<۰/۰۰۱)***، (P<۰/۰۵)*، (P<۰/۰۵):ns

در این مدل، تزریق سدیم نیتریت موجب تبدیل هموگلوبین به مت‌هموگلوبین‌شده و درنتیجه اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها دچار می‌شود. پروپرانولول موجب بهبود فعالیت تنفسی میتوکندریایی شده و از عضله قلب در برابر اثرات هیپوکسی و ایسکمی محافظت می‌کند(۱۸). در نتایج به‌دست آمده از تحقیقات قبلی، عصاره سرخ ولیک در دوز ۴۰۰ mg/kg حدود یک دقیقه به‌طور معنی‌داری زمان بقا را در موش افزایش داد(P<۰/۰۵)(۱۹). اندام هوایی فرولا پرسیکا در ۶۲/۵ mg/kg موجب افزایش ۲ دقیقه در زمان بقاء موش‌ها شد (P<۰/۰۵) و در دوز ۱۲۵ mg/kg اثری مشابه پروپرانولول از خود نشان داد(۲۰). عصاره برگ و میوه پلم به ترتیب با دوز ۱۲۵ و ۶۲/۵ mg/kg نسبت به گروه کنترل فعالیت قابل توجهی از خود نشان دادند و زمان مرگ را به تأخیر انداختند؛ اما عصاره برگ مورد حتی با دوز ۱۲۵ mg/kg اثری نداشت(۱۵).

عصاره متانلی دانه و پوست انار اثر خوبی در تست هیپوکسی گردش خونی از خود نشان ندادند. تنها عصاره پوست در دوز ۱۲۵ mg/kg موجب افزایش حدود ۱/۲ دقیقه‌ای زمان زنده ماندن موش‌ها شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود(P>۰/۰۵). اما همین عصاره در بالاترین دوز تست شده، ۲۵۰ mg/kg فعالیت بسیار خوبی از خود نشان داد و زمان مرگ را از ۱۱/۰۸±۰/۷۰ دقیقه برای گروه کنترل به ۱۵/۴۸±۱/۲۹ دقیقه افزایش داد. این افزایش از نظر آماری کاملا معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۰۱). پروپرانولول در دوز ۲۰ mg/kg موجب افزایش ۱/۹ دقیقه‌ای در زمان مرگ در موش‌ها شد(P<۰/۰۵). عصاره دانه انار حتی در بالاترین دوز تست شده یعنی ۲۵۰mg/kg، نتوانست زمان بقاء را به این زمان برساند و از پروپرانولول ضعیف‌تر بود (P<۰/۰۵)؛ اما عصاره پوست انار در دوز ۶۲/۵ mg/kg اثری معادل پروپرانولول در دوز ۲۰ mg/kg از خود نشان داد(P>۰/۰۵). پروپرانولول در دوز ۳۰ mg/kg موجب افزایش ۴ دقیقه‌ای در زمان زنده ماندن موش‌ها شد (P<۰/۰۰۰۱). عصاره پوست انار در دوز ۲۵۰mg/kg، اثری معادل پروپرانولول ۳۰ mg/kg از خود نشان داد (P>۰/۰۵)(نمودار شماره ۲). تاثیر عصاره‌های دانه و پوست انار در دوزهای ۶۲/۵ و ۱۲۵ mg/kg در هیپوکسی گردش خونی با هم مشابه بود(P>۰/۰۵)؛ اما تاثیر عصاره پوست انار در ۲۵۰ به مراتب بالاتر از عصاره دانه بود (P<۰/۰۰۰۱).

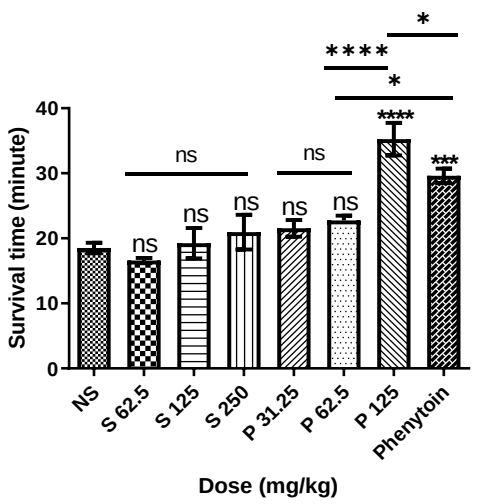


نمودار شماره ۲: مقایسه فعالیت آنتی هیپوکسی عصاره دانه و پوست انار در هایپوکسی گردش خون در موش سوری نر، * نسبت به گروه کنترل منفی (P<۰/۰۰۰۱)****، (P<۰/۰۰۱)***، (P<۰/۰۵)*، (P<۰/۰۵):ns

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-11-06]

در این تست فلورید سدیم باعث لیز شدن هموگلوبین و درنتیجه کاهش ظرفیت حمل اکسیژن می‌گردد. در نتیجه سلول‌ها به‌دلیل عدم دریافت اکسیژن کافی از خون، دچار هیپوکسی و مرگ می‌گردند(۱۸). در نتایج به‌دست آمده در تحقیقات قبلی، عصاره گل سیر در دوز ۶۲/۵ mg/kg تأثیری نداشت(P>۰/۰۵)؛ اما در دوز ۱۲۵ mg/kg زمان زنده ماندن را افزایش داد (P<۰/۰۵)(۲۱). عصاره گل خطمی در دوز ۶۲/۵ mg/kg موثر بود و زمان بقا را کنترل افزایش داد. در دوز ۱۲۵ mg/kg زمان زنده ماندن را حدود ۳ دقیقه افزایش داد(P<۰/۰۱)؛ اما کمی ضعیف‌تر از پروپرانولول بود(P<۰/۰۱)(۲۲). عصاره برگ پلم فعالیت محافظتی خوبی از خود نشان داد؛ اما عصاره میوه حتی در دوز ۲۵۰ mg/kg هیچ فعالیتی نشان نداد(۱۵).

عصاره متانلی دانه و پوست انار اثر خوبی در تست خفگی از خود نشان نداد. اگرچه عصاره دانه در دوز ۲۵۰mg/kg، به میزان ۲/۴ دقیقه موجب افزایش زمان بقاء در موش‌ها شد؛ اما این افزایش از نظر آمار معنی‌دار نبود(P>۰/۰۵). عصاره پوست در دوز ۶۲/۵ mg/kg، زمان مرگ را از ۱/۷۹±۱۸/۵۱ دقیقه برای گروه کنترل به ۱/۲۷±۲۲/۷۶ دقیقه افزایش داد. اما این افزایش ۴/۲ دقیقه‌ای از نظر آماری معنی‌دار نبود(P<۰/۰۵). این عصاره در دوز ۱۲۵ mg/kg این زمان بسیار طولانی‌تر گردید و زمان بقاء موش‌ها را تقریبا دو برابر نمود و به ۵/۵۶±۳۵/۲۵ دقیقه رساند. این افزایش در زمان زنده ماندن از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۰۱). در این مدل، فنی‌توئین در دوز ۵۰ mg/kg به‌عنوان کنترل مثبت به‌کار رفت. زنده ماندن در گروه‌های دریافت‌کننده فنی‌توئین ۲/۵۱±۲۹/۶۰ دقیقه بود که تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشت(P<۰/۰۰۱). تنها عصاره پوست در بالاترین دوز تست شده خود، ۱۲۵ mg/kg توانست اثری قوی‌تر از فنی‌توئین ایجاد کند(P<۰/۰۵)(نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳: مقایسه فعالیت آنتی‌هیپوکسی عصاره دانه و پوست انار درهیپوکسی خفگی در موش سوری نر، * نسبت به گروه کنترل منفی (P<۰/۰۰۰۱)****، (P<۰/۰۰۱)***، (P<۰/۰۵)*، (P<۰/۰۵):ns

در مدل هیپوکسی خفگی، فنی‌توئین میزان مصرف اکسیژن، فعالیت سلولی و مصرف ATP را کم‌تر و مقاومت سلولی را در برابر ایجاد هیپوکسی بیش‌تر می‌کند(۱۸). در نتایج به‌دست آمده از تحقیقات قبلی، عصاره گل خطمی در دوز ۶۲/۵ mg/kg موثر بود و زمان مرگ را نسبت به گروه کنترل منفی افزایش داد. عصاره در ۱۲۵ mg/kg اثری معادل فنی‌توئین از خود نشان داد. در دوز ۲۵۰mg/kg قوی‌تر از فنی‌توئین بود(۲۲). عصاره گل سیر در دوز ۱۲۵ mg/kg اثری معادل فنی‌توئین (P>۰/۰۵) و در دوز ۲۵۰ mg/kg اثری به مراتب قوی‌تر از آن ایجاد نمود (P<۰/۰۰۱)(۲۱). عصاره‌های برگ و میوه پلم در دوزهای تست شده فعالیتی از خود نشان ندادند؛ اما عصاره برگ مورد در دوز ۱۲۵ mg/kg اثر مشابه فنی‌توئین داشت(۱۵). عصاره گیاه تره نیز در دوز ۲۵۰ mg/kg به‌طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه کنترل زمان مرگ را به تعویق انداخت(P<۰/۰۰۱)(۲۳).

محتوای تام فنلی پوست و دانه به‌ترتیب ۴/۷۸±۲۰۵/۸۱ و GAE ۲/۵۶±۸۴/۶۵ در گرم عصاره و محتوای تام فلاونوئیدی به‌ترتیب ۱/۷۳±۲۸/۱۵ و QE ۰/۹۲±۱۶/۲۰ در گرم عصاره به‌دست آمد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-11-06]

لازم به ذکر است که در انجام این کار بهتر بود حداقل یکی از فاکتورهای اصلی نشان‌دهنده هایپوکسی مانند ارزیابی مقدار اشباع اکسیژن یا سطح خونی فاکتور القاشده با هایپوکسی سنجیده و گزارش شود. اما عملا بودجه لازم و زمان کافی برای انجام این آزمایشات وجود نداشت. این موضوع به‌عنوان محدودیت کار ذکر می‌گردد و پیشنهاد می‌شود، سایر محققان این موارد را مد نظر قرار دهند.

در مجموع عصاره فعالیت محافظتی خوبی در برخی مدل‌ها از خود نشان داد. تاثیر عصاره به ویژه در مدل خفگی بالا بود. تاثیر عصاره پوست قوی‌تر از عصاره دانه بود که می‌تواند به علت وجود بیش‌تر محتوای تام فنلی و فلاوئیدی در آن باشد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌های دانشجویی به شماره (کد طرح ۱۷۲۶۳) می‌باشد که بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت پردیس رامسر تشکر می‌گردد (IR.MAZUMS.3.REC.1402.17263).

References

1. Ekalu A, DamaHabilab J. Flavonoids as the emerging therapeutic agents: A review of their bioactivity,chemoprevention and chemotherapy approach. J Med Herb 2019; 9(4): 209-220.
2. Yazdani S, Mohammadyan M, Hosseinzadeh M.H, Ebrahimzadeh M.A. Evaluation of antihypoxic activity of Kojic acid in mice. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences SJKU 2023; 27(6): 1-12 (Persian).
3. 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 2021; 75(6): e13943.
4. Middha SK, Usha T, Pande V. A review on antihyperglycemic and antihepatoprotective activity of eco-friendly Punica granatum peel waste. Evid Based Complement Alternat Med 2013; 2013: 656172.
5. Jurenka J. Therapeutic applications of pomegranate (Punica granatumL.): a review. Altern Med Rev 2008; 13(2): 128-144.
6. Viuda-Martos M, Fern´andez-L´opez J, Perez-Alvarez JA. Pomegranate and itsmany functional components as related to human health: a review," Compr Rev Food Sci Food Saf 2010; 9(2): 635-654.
7. Maphetu N, Unuofin JO, Masuku NP, Olisah C, Lebelo SL. Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of Punica granatum L. (pomegranate) plant extracts: A review. Biomed Pharmacother 2022; 153: 113256.
8. West T, Atzeva M, Holtzman DM. Pomegranate polyphenols and resveratrol protect the neonatal brain against hypoxic-ischemic injury. Dev Neurosci 2007; 29(4-5): 363-372.
9. Ahmed MA, El Morsy EM, Ahmed AA. Pomegranate extract protects against cerebral ischemia/reperfusion injury and preserves brain DNA integrity in rats. Life Sci 2014; 110(2): 61-69.
10. Sancaktutar AA, Bodakci MN, Hatipoglu NK, Soylemez H, Basarılı K, Turkcu G. The protective effects of pomegranate extracts against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. Urol Ann 2014; 6(1): 46-50.
11. Yayla M, Cetin D, Adali Y, Kilicle PA, Toktay E. Potential therapeutic effect of pomegranate seed oil on ovarian ischemia/ reperfusion injury in rats. Iran J Basic Med Sci 2018; 21(12): 1262 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-11-06]

12. Yeerjiang A, Maimaitiyiming D, Yang T, Fang L, Aihemaitituoheti A, Aimaiti M, et al. Pomegranate Peel in the Amelioration of High-Altitude Disease: A Network Pharmacology and Molecular Docking Study of Underlying Mechanisms. J Food Biochem 2023; 2023: 7186747.
13. Razani Z, Dastani M, Kazerani HR. Cardioprotective effects of pomegranate (Punica granatum) juice in patients with ischemic heart disease. Phytother Res 2017; 31(11): 1731-1738.
14. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Eslami B. Free radical scavenging ability of methanolic extract of Hyoscyamus squarrosus leaves. Pharmacologyonline 2009; 2: 796-802.
15. Kaveh K, Mohamadyan M, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic activities of Sambucus ebulus leaf and fruit and Myrtus communis leaf in mice. J Mazandaran Uni Med Sci 2019; 29(176): 61-73 (Persian).
16. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Eslami B. Antioxidant activity of aqueous extract of Pyrus boissieriana fruit. Pharmacologyonline 2009; 1: 1318-1323.
17. Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Bahramian F. In vitro antioxidant activity of Phytolacca americana berries. Pharmacologyonline 2009; 1(2009): 81-88.
18. Yazdani S, Mohammadyan M, Hosseinzadeh MH, Ebrahimzadeh MA. Evaluation of antihypoxic activity of Kojic acid in mice. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences SJKU 2023; 27(6): 1-12 (Persian).
19. 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 Pharmaceut Sci 2018; 54(2): e17363.
20. Ataee R, Hasani H, Mohammadyan M, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic activities of aerial parts and roots of Ferula persica in Mice. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 2020; 30(189): 126-132 (Persian).
21. Shahbazee M, Mohammadyan M, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic activities of Allium sativum Flower in Mice. J Mazandaran Uni Med Sci 2019; 29(175): 145-149 (Persian).
22. Hosseinzadeh M.H, Ebrahimzadeh MA. Antihypoxic activities of Hibiscus rosa-sinensis in Mice. J Mazandaran Uni Med Sci 2020; 30(186): 133-140 (Persian).
23. Shahnazi R, Mehrdadfar F, Ebrahimzadeh MA. Impact of extraction methods on total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antihypoxic properties of Allium ampeloprasum in Mice. J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 27(158): 27-44 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-11-06]