DOI: 10.48305/jims.v41.i744.1030

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و یکم/شماره‌ی ۷۴۴/هفته‌ی چهارم دی ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۵ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۰ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۱۰/۲۸

تأثیر اسانس و عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه روی انقباضات قلب و عروق ایزوله‌ی رات

حسن صدرائی[۱]، بهاره ارضی[۲]، افسانه یگدانه[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi*)، دارویی گیاهی با خواص ضداسپاسم و ضدالتهاب است. در مطالعات فارماکولوژی، عصاره‌ی زرین گیاه از بروز التهاب و فیبروز ریوی جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، عصاره‌ی زرین گیاه، اثر رفع انقباضی روی مجاری تنفسی هم دارد، ولی تاکنون اثرات قلبی- عروقی آن بررسی نشده است. هدف این مطالعه، بررسی اثر اسانس و عصاره‌ی زرین گیاه روی انقباضات بافت ایزوله شده آئورت و قلب رات در شرایط in vitro می‌باشد.

روش‌ها: اسانس به روش تقطیر و عصاره‌ی هیدروالکلی به روش ماسیراسیون تهیه گردید. رات‌های ویستار نر به روش اختناق با CO_2 کشته شدند. قلب و شریان آئورت بدقت جدا شده و در حمام بافت حاوی محلول فیزیولوژیک اشباع شده با اکسیژن قرار داده شد و انقباضات آن‌ها با دستگاه فیزیوگراف ثبت گردید. اثر غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره‌ی زرین گیاه روی انقباضات قلب و آئورت جداگانه بررسی و با گروه شاهد مقایسه شد.

یافته‌ها: اسانس زرین گیاه، اثر مهاری روی انقباضات میوکارد قلبی و شریان آئورت از خود نشان داد. در حالیکه عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه در غلظت‌هایی که انقباضات عضلات صاف روده را کاملاً مهار کرد، تأثیری روی انقباضات میوکارد قلبی یا آئورت نداشت. در غلظت‌های بالای ۲۰۰ µg/ml عصاره زرین گیاه اثر اینوتروپیک مثبت روی قلب داشت ولی انقباضات آئورت را مهار کرد.

نتیجه‌گیری: اسانس زرین گیاه اثر وازدیلاتوری قویتری نسبت به عصاره، روی شریان آئورت داشت. برخلاف عصاره‌ی هیدروالکلی که اثر اینوتروپیک مثبت داشت، اسانس زرین گیاه اثر اینوتروپیک منفی روی انقباضات قلب دارد.

واژگان کلیدی: زرین گیاه؛ عصاره‌گیری گیاهی؛ ضداسپاسم؛ انقباض عروق؛ اثر اینوتروپیک

ارجاع: صدرائی حسن، ارضی بهاره، یگدانه افسانه. **تأثیر اسانس و عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه روی انقباضات قلب و عروق ایزوله‌ی رات.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۴۴): ۱۰۳۸-۱۰۳۰

مقدمه

قلب، یک پمپ عضلانی است که مسؤول رساندن خون به کلیه‌ی اندام‌های بدن از طریق عروق خونی است. عضلات قلبی، عملکرد میوژنیک (Myogenic) دارند، به عبارت دیگر انقباضات قلبی از خود سلول‌های میوکارد منشأ می‌گیرند (۱). با این وجود، انقباضات میوکاردی تحت کنترل سیستم عصبی اتونومیک نیز هست. مرکز وازوموتور در ساقه‌ی مغز از طریق سیستم عصبی اتونومیک، فعالیت قلبی- عروقی را مطابق با نیاز بدن تنظیم می‌کنند (۲). سیستم اتونومیک همچنین از طریق ترشح آدرنالین در خون، موجب افزایش برونده قلب می‌شود. عضلات صاف عروق خونی به صورت حلقوی قرار دارند و آدرنالین با تحریک α_1-آدرنوسپتورها موجب انقباض آن‌ها و افزایش فشارخون می‌شود (۲). افزایش یون کلسیم درون سلولی عامل اصلی برانگیختن مکانیسم انقباضی در میوکارد و عضلات صاف عروق است. افزایش یون کلسیم سیتوپلاسمی می‌تواند بدلیل ریلیز یون کلسیم از ذخائر داخل سلولی باشد و یا به دنبال فعال شدن کانال‌های کلسیمی غشایی، کلسیم از خارج وارد سلول می‌شود (۳).کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ، نقش محوری در تولید ایمپالس قلبی و انقباضات خوبخودی میوکارد دارند (٤). α_1-آدرنوسپتورهای موجود روی عروق خونی در ارتباط با آنزیم فسفولیپاز-C هستند. آدرنالین موجب افزایش فعالیت این آنزیم و تولید اینوزیتول تری‌فسفات (IP3)

۱- دانشیار، گروه فارماکولوژی و توکسیکولوژی، دانشکده داروسازی و علوم داروئی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی و علوم داروئی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی و علوم داروئی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: حسن صدرائی: دانشیار، گروه فارماکولوژی و توکسیکولوژی، دانشکده داروسازی و علوم داروئی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: sadraei@pharm.mui.ac.ir

می‌شود. اینوزیتول تری‌فسفات عامل اصلی ریلیز کلسیم از سارکوپلاسمیک رتیکلوم است (۵). داروهای آنتی‌اسپاسم به طور مستقیم یا غیرمستقیم این فرایندهای انقباضی را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi*)، متعلق به خانواده‌ی نعنائیان و یک گونه منحصربه فرد ایران با اثرات آنتی‌اسپاسم است (۶، ۷). در طب سنتی، مردم کاربردهای متعددی برای این گیاه قائل هستند، ولی کاربرد آن در طب عوام برای التیام زخم، نفس تنگی و درمان روماتیسم رایج‌تر بوده است (۸، ۹).

مطالعات علمی که در سال‌های اخیر روی زرین گیاه انجام شده است، نه تنها اثرات ضدالتهاب و ایمونومدولاتوری این گیاه را تأیید کرده (۹–۱۳)، بلکه نشان داده است که این گیاه اثرات آنتی‌اسپاسم روی عضلات صاف از جمله ایلئوم، رحم، تراشه و مثانه دارد (۱۴–۲۰). مطالعات پیش بالینی انجام شده دلالت بر اثرات آنتی‌اسپاسم عصاره‌ی زرین گیاه روی عضلات صاف دارد، ولی لزوماً اثرات آنتی‌اسپاسم روی همه‌ی عضلات صاف یکسان نیست، ولی از آن‌جا که اثر ضدالتهابی عصاره‌ی زرین گیاه در جلوگیری از علائم آسم هم نقش دارد، عصاره‌ی زرین گیاه می‌تواند با دوز کمتری مشکل تنفسی بیماران آسمی را برطرف کند. با این حال، اثرات آنتی‌اسپاسم روی عضلات صاف این سؤال را مطرح می‌کند که عصاره‌ی زرین گیاه روی عروق خونی چه میزان اثر وازودیلاتوری دارد. ثانیاً باید معلوم شود که عصاره‌ی زرین گیاه، بالقوه تأثیری روی قدرت انقباضی میوکارد قلبی دارد یا خیر؟ با توجه به اینکه اثرات عصاره‌ی زرین گیاه تاکنون روی عروق خونی و میوکارد قلبی مستقیماً بررسی نشده است، هدف از این مطالعه، بررسی اثر اسانس و عصاره‌ی هیدروالکلی تهیه شده از زرین گیاه روی انقباضات ایجاد شده در عروق خونی و قلب ایزوله است، تا معلوم شود اثرات قلبی–عروقی آن‌ها چگونه می‌باشد.

روش‌ها

اندام هوایی زرین گیاه در فصل گل‌دهی از مزرعه‌ی شرکت کشت پرتیکان (واقع شاهان کوه روستای ایوانک فریدون‌شهر) جمع‌آوری و در سایه خشک و آسیاب گردید. اسانس به روش تقطیر در آب (hydrodistilation) استخراج شد (۲۱). عصاره‌ی هیدروالکلی با روش ماسیراسیون تهیه گردید (۲۲). پودر حاصله با اتانول ۷۰ درصد خیس و مرطوب و بعد از ۲ ساعت در داخل پرکولاتور ریخته، فشرده و مخزن با اتانول ۷۰ درصد به نسبت ۱ به ۸ پر شد (از پوشانده شدن تمامی گیاه در طول مدت ماسیراسیون اطمینان حاصل گردید). پس از سه روز خیساندن، با باز کردن شیر مخزن، عصاره‌ی حاصله تخلیه شده و مخزن مجدداً با اتانول پر شد. فرایند عصاره‌گیری سه بار تکرار و عصاره‌ی هیدروالکلی حاصله توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه تغلیظ گردید.

مواد و محلول‌ها: محلول فیزیولوژیک (Modified Krebs) استفاده شده برای ثبت انقباضات قلب و عروق از حل کردن این مواد NaCl (۱۱۸ mM)، KCl (۴/۷ mM)، $CaCl_2$ (۲/۵۲ mM)، $MgSO_4$ (۱/۶۴ mM)، $NaHCO_3$ (۲۴/۸۸mM)، KH_2PO_4 (۱/۱۸ mM) و گلوکز (۵/۵۵ mM) در آب مقطر تهیه شد. ترکیبات محلول تشریح عبارتند از: NaCl (۱۱۸ mM)، KCl (۴/۷ mM)، HEPES (۴/۲ mM)، $MgSO_4$ (۱/۶۴ mM)، $NaHCO_3$ (۲۴/۸۸ mM)، KH_2PO_4 (۱/۱۸ mM)، گلوکز (۵/۵۵ mM). در صورت لزوم pH محلول‌ها با افزودن هیدروکسید سدیم در حد ۷/۴ تنظیم شد. کلیه مواد شیمیایی متعلق به شرکت مرک (Merck) است.

اسانس و عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه به صورت استوک ۸۰ mg/ml در حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) تهیه گردید. استوک نیفدیپین با غلظت ۱۰۰ mg/ml و استوک پرازوسین با غلظت ۱۰ mg/ml در DMSO تهیه و با آب مقطر رقیق شد. پودر پرازوسین اهدایی از طرف شرکت دارویی امین برای امور تحقیقاتی بود. نیفدیپین از شرکت سیگما و آدرنالین (آمپول ۱ mg/ml، داروپخش) از داروخانه خریداری گردید.

بررسی اثرات قلبی- عروقی عصاره و اسانس زرین گیاه (in vitro): در این روش فعالیت فارماکولوژی اسانس و عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه، مستقیماً روی انقباضات عضله‌ی قلب و آئورت رات تعیین گردید. برای این منظور دستگاه فیزیوگراف (Harvard Oscillograph Apparatus, England) کالیبره و تحت یک و نیم گرم وزن برای ثبت انقباضات بافت آماده گردید. صبح روز آزمایش، یک رات به محفظه‌ی دی‌اکسید کربن منتقل و به روش اختناق با گاز دی‌اکسید کربن کشته شد و سریعاً بافت قلب و شریان آئورت (و ایلئوم) جدا گردیدند و به محلول تشریح اکسیژن‌دهی شده منتقل شدند. هر بافت جداگانه در حمام بافت (Palmer organ bath, England) به یک ترانسدیوسر ایزوتونیک متصل و انقباضات آن توسط دستگاه فیزیوگراف ثبت گردید. برای بررسی اثر فارماکولوژی، داروها مستقیماً به محلول فیزیولوژیک داخل حمام بافت اضافه شدند. پس از ثبت انقباضات اولیه اثر غلظت‌های مختلف عصاره، اسانس، حامل و یا داروی استاندارد (کنترل مثبت) بررسی شدند. غلظت‌های مورد استفاده برای اسانس و عصاره‌ی زرین گیاه بر اساس مطالعات قبلی روی عضلات صاف از غلظت ۲۰ µg/ml شروع شد، ولی مطابق آزمایشات پیلوت اصلاح گردید. اثرات دارو و عصاره روی قلب به صورت تجمعی (Cumulative) و روی آئورت به صورت غیرتجمعی (Non-cumulative) بررسی گردید.

سنجش نیروی انقباضی میوکارد قلبی: هدف کلی فرایند این بخش جداسازی میوکارد قلبی برای مطالعه اثر دارو روی قدرت انقباضی عضله قلب بود. انجام این تحقیق مستلزم ایزوله کردن قلب همراه با پرهیز از ایسکمی و انتقال به حمام بافت حاوی محلول فیزیولوژیک برای ثبت انقباضات میوکارد است. برای این منظور پس از کشتن رات، موش به پشت روی سینی جراحی خوابانده شده و پس از باز کردن شکم و تخلیه‌ی محتویات شکمی، با استفاده از یک قیچی تیز، دو طرف قفسه سینه و دیافراگم شکافته شد. سپس قلب به آرامی میان دو انگشت گرفته شد و از عروق خونی جدا گردید. قلب در حال طپش به ظرف حاوی محلول تشریح خنک و اشباع شده با اکسیژن منتقل شد. بعد از ایزوله کردن قلب و اطمینان از تخلیه‌ی خون، یک کلیپس بافتی کوچک به قاعده‌ی قلب و کلیپس دیگری به محل خروج آئورت متصل شد. کلیپس قاعده، توسط نخ به قلاب بافت محکم بسته شد و پس از انتقال قلب به حمام بافت، نخ کلیپس فوقانی به ترانسدیوسر فیزیوگراف برای ثبت انقباضات میوکاردی متصل گردید. دمای حمام بافت از قبل روی ۲۵ درجه سلسیوس تنظیم و حمام بافت بطور دائم با کاربوژن (۵ درصد دی‌اکسید کردن در اکسیژن) گازدهی گردید. در وهله‌ی بعد، پس از شستشوی مکرر عضله با محلول تازه فیزیولوژیک انقباضات خودبخودی قلب به مدت حداقل ۵ دقیقه ثبت گردید. در نهایت با افزودن عصاره و اسانس به حمام بافت اثرات فارماکولوژیک داروها روی نیروی انقباضی میوکارد بطنی بررسی و ثبت گردید.

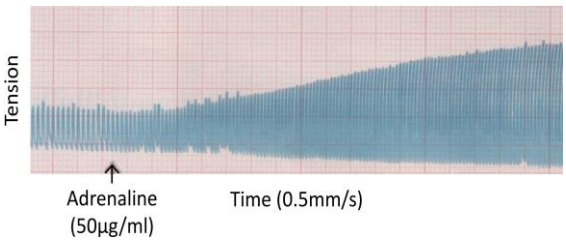
سنجش تونسیته عضلات صاف شریان آئورت: هدف این فرایند، سنجش اثر عصاره و اسانس زرین گیاه روی تونیسیته‌ی عضلات صاف عروق خونی می‌باشد. برای این منظور ابتدا حمام بافت با محلول فیزیولوژیک پر گردید و در دمای ۳۷ درجه مداوم با کاربوژن گازدهی شد. برای تهیه شریان آئورت، دو طرف شکم رات تا قفسه سینه شکافته شد و پس از تخلیه محتویات شکمی، آئورت پائین رونده که در مجاورت ستون فقرات قرار دارد، نمایان گردید. آئورت از پائین به بالا به موازات ستون فقرات از بافت‌های همبند جدا شده و تا حد دیافراگم جدا گردید و در محلول تشریح قرار داده شد. بافت همبند و چربی‌های متصل به آن به دقت بریده شده تا آئورت کاملاً تمیز گردد. برای ثبت انقباضات عضلات صاف شریان آئورت، بافت به صورت مارپیچی (Spiral preparation) آماده شد. به همین منظور آئورت به یک میله‌ی فلزی نازک غلاف گردید و با قیچی جراحی عروق، به صورت مورب برش داده شد تا به صورت لوپ مارپیچی آماده گردید. به دو سر بافت کلیپس مخصوص بافت زده شد و یک سر با نخ به قلاب بافت و سر دیگر آن به ترانسدیوسر ایزوتونیک متصل شد. بعد از شستشوی مکرر بافت ظرف نیم ساعت، آزمایش viability توسط آدرنالین روی بافت انجام گردید. پس از یک دقیقه تماس آدرنالین با بافت آئورت، حمام بافت سه مرتبه شستشو داده شد. به همین ترتیب اثر آدرنالین با فواصل ۱۰ دقیقه‌ای تعیین گردید. پس از ثبت انقباضات یکسان آدرنالین، انقباض عضلات صاف شریان آئورت در حضور دارو یا عصاره‌ی مورد مطالعه سنجیده شد.

بررسی اثر عصاره روی بافت ایلئوم: هدف این فرایند، مقایسه‌ی اثربخشی عصاره‌ی تهیه شده‌ی زرین گیاه با مطالعات قبلی روی انقباضات ایجاد شده در بافت ایلئوم بود. برای این منظور اثر مهاری عصاره‌ی هیدروالکی زرین گیاه روی انقباض تونیک ایجاد شده توسط کلرید پتاسیم (80mM) روی عضلات صاف روده بررسی شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها (روش‌های آماری): ارتفاع انقباضات ثبت شده برای هر بافت به دقت اندازه‌گیری و درصد آن نسبت به انقباض اولیه محاسبه گردید. منحنی غلظت-پاسخ ترسیم و در صورت امکان مقدار IC_{50} (غلظتی از دارو که ۵۰ درصد حداکثر اثر مهاری را ایجاد کرده است) برای هر بافت تعیین گردید. هر آزمایش بر روی ٦ بافت مجزا انجام شد و نتایج به صورت (میانگین ± انحراف معیار) بیان شد. برای مقایسه‌ی گروه‌ها از آزمون آماری ANOVA و Student's t-test استفاده شد. رسم منحنی‌ها و آنالیز آماری توسط نرم‌افزار کامپیوتری SigmaPlot انجام شد.

یافته‌ها

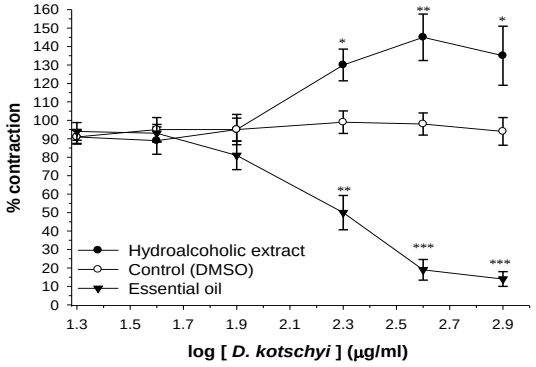
قلب ایزوله شده‌ی رات در حمام بافت حاوی محلول کربس، طپش خوبه‌خودی داشت و انقباضات یکنواختی از آن ثبت گردید. افزودن آدرنالین (۵۰ µg/ml) به حمام بافت، موجب افزایش دامنه این انقباضات شد (شکل ۱).



شکل ۱. اثر اینوتروپیک مثبت آدرنالین روی انقباضات خودبخودی میوکارد قلبی

اسانس زرین گیاه به صورت وابسته به غلظت انقباضات میوکار قلبی را کاهش داد (IC_{50} =۱۹۷ ± ٤٢ µg/ml). اثر مهاری اسانس با غلظت ۲۰۰ µg/ml و بالاتر نسبت به گروه شاهد دریافت‌کننده حامل معنی‌دار بود (نمودار ۲). در بالاترین غلظت استفاده شده اثر اینوتروپیک منفی اسانس به قدری شدید بود که انقباضات میوکاردی

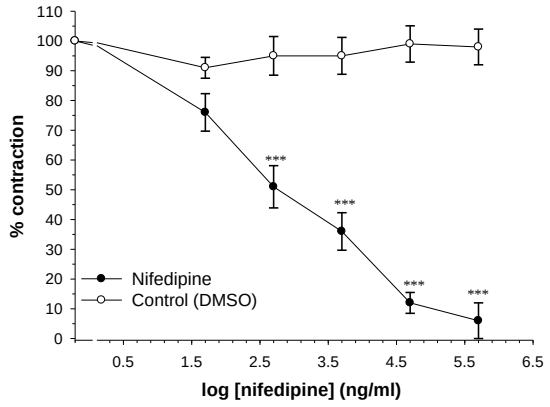
را متوقف کرد. عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه در غلظت‌های کمتر از ۱۰۰ µg/ml تأثیری روی دامنه انقباضات میوکارد قلبی نداشت، ولی با غلظت ۲۰۰ µg/ml و بالاتر افزایش معنی‌داری روی انقباضات میوکارد بطنی مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲. اثر اسانس و عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه روی انقباضات خودبخودی قلب ایزوله رات

دامنه‌ی انقباضات بر اساس ارتفاع ثبت شده سنجیده و اثر اسانس و عصاره به صورت درصد انقباض اولیه قبل از افزودن دارو بیان شده است. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است (n = ٦). نوسانات مشاهده شده در گروه شاهد که معادل حجمی حامل (DMSO) را دریافت کرده بودند از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (ANOVA). ستاره‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار بین اسانس یا عصاره در مقایسه با گروه شاهد دریافت‌کننده‌ی حامل است (Student's t-test; $^{**}P < ۰/۰۱$; $^{***}P < ۰/۰۰۱$).

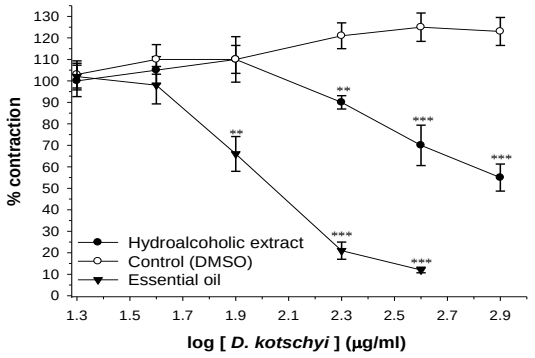
معادل حجمی حامل اسانس و عصاره‌ی زرین گیاه (DMSO) در طول دوره‌ی آزمایش، تغییری در انقباضات میوکارد قلبی بوجود نیاورد (شکل ۲). داروی استاندارد نیفدپین به صورت وابسته به غلظت (۰/۵–۵۰۰ ng/ml) انقباضات میوکارد قلبی را مهار کرد (IC_{50} = ۲/۹ ± ۱/۱ µg/ml) (شکل ۳) بطوری که در غلظت‌های بالا، انقباضات میوکارد قلبی کاملاً متوقف شد. شریان آئورت در حمام بافت هیچ گونه انقباض خوبخودی نداشت. افزودن آدرنالین (۵۰ µg/ml) به حمام بافت، یک انقباض فازیک در بافت ایجاد کرد که ظرف یک دقیقه زمان تماس به اوج رسید. بدنبال شستشوی بافت با محلول فیزیولوژیک، تونیسته بافت ظرف دو دقیقه به حالت اول بازگشت. اسانس زرین گیاه به صورت وابسته به غلظت پاسخ انقباضی آدرنالین را مهار کرد (شکل ٤). اثر مهاری اسانس با غلظت ۸۰ µg/ml در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار بود (IC_{50} = ۱۱۰ ± ۱۵ ng/ml). عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه در غلظت بالاتری نسبت به اسانس اثر مهاری روی انقباضات شریان آئورت داشت. اثر مهاری معنی‌دار با غلظت ۲۰۰ µg/ml عصاره‌ی هیدروالکلی در حمام بافت مشاهده گردید.



شکل ۳. اثر نیفدپین روی انقباضات خودبخودی قلب ایزوله رات

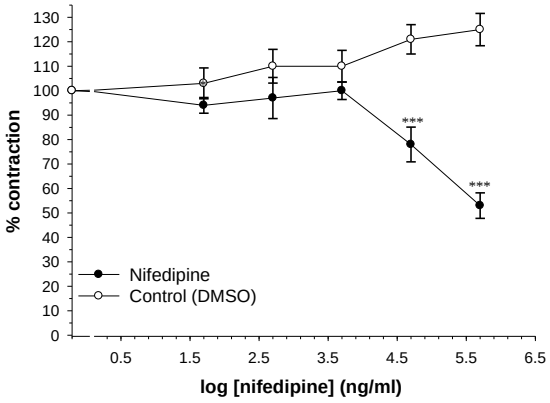
دامنه‌ی انقباضات بر اساس ارتفاع ثبت شده سنجیده و اثر نیفدپین به صورت درصد انقباض اولیه قبل از افزودن دارو بیان شده است. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است (n = ٦). نوسانات مشاهده شده در گروه شاهد که معادل حجمی حامل (DMSO) را دریافت کرده بودند از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (ANOVA). ستاره‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار بین نیفدپین در مقایسه با گروه شاهد دریافت‌کننده‌ی حامل است (Student's t-test; $^{***}P < ۰/۰۰۱$).

همچنین، با غلظت ۸۰۰ µg/ml عصاره‌ی هیدروالکلی در حمام بافت، کماکان ۵۵ درصد پاسخ اولیه باقی بود. بدلیل محدودیت حل‌شوندگی عصاره امکان استفاده از غلظت‌های بالاتر ممکن نبود. همانند عصاره هیدروالکلی زرین گیاه، نیفدپین در غلظت‌هایی که قدرت انقباضی میوکارد را سرکوب کرد (۰/۵–۵۰۰ ng/ml)، بطور نسبی انقباضات ناشی از آدرنالین را مهار کرد (شکل ۵).



شکل ٤. اثر اسانس و عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه روی انقباضات عضله‌ی صاف شریان آئورت رات

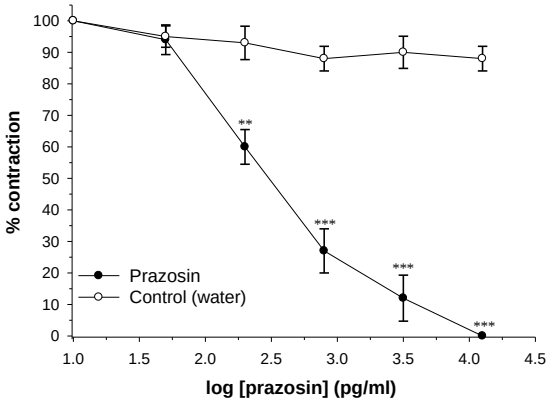
دامنه‌ی انقباضات بر اساس ارتفاع ثبت شده سنجیده و اثر اسانس و عصاره به صورت درصد انقباض اولیه قبل از افزودن دارو بیان شده است. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است (n = ٦). نوسانات مشاهده شده در گروه شاهد که معادل حجمی حامل (DMSO) را دریافت کرده بودند از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (ANOVA). ستاره‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار بین اسانس یا عصاره در مقایسه با گروه شاهد است (Student's t-test; $^{**}P < ۰/۰۱$; $^{***}P < ۰/۰۰۱$).



شکل ۵. اثر نیفدپین روی انقباضات آدرنالین در بافت شریان آئورت ایزولهی رات

دامنهی انقباضات بر اساس ارتفاع ثبت شده سنجیده و اثر نیفدپین به صورت درصد انقباض اولیه قبل از افزودن دارو بیان شده است. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است (n = ٦). نوسانات مشاهده شده در گروه شاهد که معادل حجمی حامل (DMSO) را دریافت کرده بودند از لحاظ آماری معنیدار نبود (ANOVA). ستارهها بیانگر تفاوت معنیدار بین نیفدپین در مقایسه با گروه شاهد دریافتکنندهی حامل است (Student's t-test; $^{***}P < ۰/۰۰۱$).

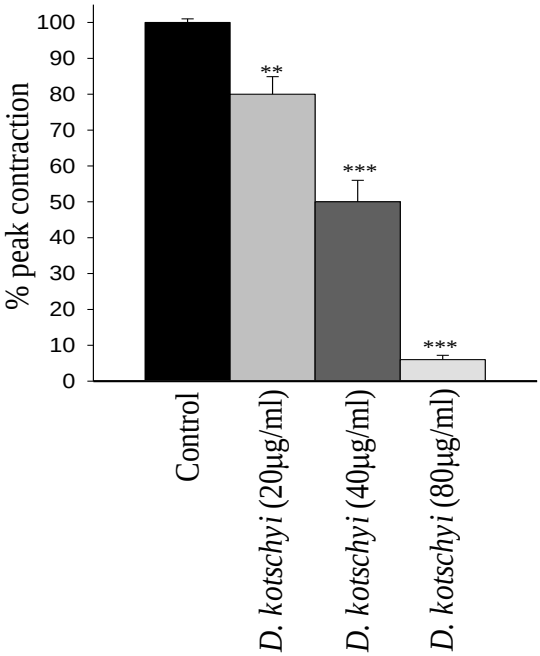
همانطور که انتظار میرفت پرازوسین به صورت وابسته به غلظت اثرات انقباضی آدرنالین را مهار کرد (IC_{50} =۰/۳ ± ۰/۰٦ ng/ml). با حضور غلظت ۳/۲ ng/ml در حمام بافت انقباضات ناشی از آدرنالین بطور کامل مهار شد (شکل ٦).



شکل ٦. اثر پرازوسین روی انقباضات آدرنالین در بافت شریان آئورت ایزولهی رات

دامنهی انقباضات بر اساس ارتفاع ثبت شده سنجیده و اثر پرازوسین به صورت درصد انقباض اولیه قبل از افزودن دارو بیان شده است. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است (n = ٦). نوسانات مشاهده شده در گروه شاهد که معادل حجمی حامل را دریافت کرده بودند از لحاظ آماری معنیدار نبود (ANOVA). ستارهها بیانگر تفاوت معنیدار بین پرازوسین در مقایسه با گروه شاهد دریافتکنندهی حامل است (Student's t-test; $^{**}P < ۰/۰۱$; $^{***}P < ۰/۰۰۱$).

عصارهی هیدروالکلی زرین با غلظتهای ۲۰ µg/ml، ٤۰ µg/ml و ۸۰ µg/ml انقباضات ایجاد شده توسط (۸۰ mM) KCl در ایلئوم رات را مهار کرد که تأییدکنندهی اثرات گزارش شده عصارهی زرین گیاه است. با غلظت ۱٦۰ µg/ml عصاره در حمام بافت انقباضات ایلئوم کاملاً مهار شد. این غلظتهای عصارهی زرین گیاه روی انقباضات شریان آئورت و میوکارد قلبی در مقایسه با گروه شاهد تأثیر معنیداری نداشتند (شکل ۷).



شکل ۷. اثر عصارهی هیدروالکلی زرین گیاه (*D. kotschyi*) روی انقباضات KCl (80mM) در بافت ایلئوم ایزولهی رات

دامنهی انقباضات بر اساس ارتفاع ثبت شده سنجیده و اثر عصاره به صورت درصد انقباض اولیه قبل از افزودن دارو آورده شده. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است (n = ٦). ستارهها بیانگر تفاوت معنیدار بین عصاره در مقایسه با گروه شاهد است (Student's t-test; $^{**}P < ۰/۰۱$; $^{***}P < ۰/۰۰۱$).

بحث

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات قلبی- عروقی عصاره و اسانس زرین گیاه میباشد، تا معلوم شود که آیا مصرف زرین گیاه بالقوه میتواند تأثیری روی قدرت انقباضی قلب و یا انقباضات عروق خونی داشته باشد. میوکارد قلبی، عملکرد میوژنیک دارد (۱)، به همین دلیل قلب ایزوله در حمام بافت انقباضات خودبخودی منظمی داشت. آدرنالین با تحریک بتا-آدرنوسپتورها موجب قدرت انقباضی میوکارد قلبی میشود (شکل ۱). درحالیکه آدرنالین با تحریک α_1-آدرنوسپتورها موجب انقباض عروق خونی میشود (۵). انقباض

حاصله از افزودن آدرنالین به حمام بافت نیز به دلیل تحریک α_1-آدرنوسپتورهای موجود روی عضلات صاف آئورت است. پرازوسین یک آنتاگونیست انتخابی α_1-آدرنوسپتور است و با بلوکه کردن این رسپتور انقباضات ناشی از آدرنالین را مهار می‌کند (۲۳). از طرف دیگر، نیفدیپین یک بلوکه‌کننده کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ (L-type) است و از این طریق انقباضات میوکارد قلبی و عضلات صاف عروق را مهار می‌کند (۲٤). از آن‌جا که انقباض ناشی از آدرنالین روی عروق خونی عمدتاً وابسته به ریلیز کلسیم داخل سلولی است، در مقایسه با میوکارد بطنی اثر مهاری نیفدیپین کمتر نمایان بود.

بررسی اثر اسانس زرین گیاه روی قلب ایزوله رات نشان داد که اسانس زرین گیاه، اثر اینوتروپیک منفی دارد و موجب کاهش قدرت انقباضی میوکارد قلبی می‌شود. بنابراین، اسانس زرین گیاه، بالقوه می‌تواند موجب نارسایی قلبی گردد. کاهش برون‌ده قلب و اثر وازودیلاتوری اسانس می‌تواند کاهش فشارخون را نیز بدنبال داشته باشد. اسانس‌ها نوعاً اثر مهاری روی انقباضات عضلات صاف دارند و شواهدی وجود دارد که همانند بی‌حس کننده‌های موضعی عمل می‌کنند و با بلوکه کردن کانال‌های یونی فعالیت عضلانی را تضعیف می‌کنند (۲۵). از طرف دیگر عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه نه تنها فعالیت انقباضی قلب را کم نکرد، بلکه در غلظت‌های بالاتر، اثر اینوتروپیک مثبت هم داشت و قدرت انقباضی میوکارد بطنی را افزایش داد. اسانس‌ها نوعاً ترکیبات فرار هستند و احتمال زیادی وجودی دارد که طی فرایند روتاری، اسانس موجود در عصاره‌ی هیدروالکلی به همراه آب و الکل تبخیر شده باشد. اگر کماکان اسانسی هم در عصاره‌ی هیدروالکلی باقی مانده باشد، سایر ترکیبات موجود در عصاره‌ی هیدروالکلی که اثر اینوتروپیک مثبت دارند، اثر آن را خنثی کرده‌اند. عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه در غلظت‌هایی که نیروی انقباضی میوکارد بطنی را افزایش داد، اثر مهاری روی انقباض ناشی از آدرنالین روی عضله‌ی صاف آئورت داشت. تفاوت غلظت مهاری اسانس و عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه روی انقباض آئورت نیز می‌تواند بیانگر این مطلب باشد که اسانس چندانی در عصاره‌ی هیدروالکلی باقی نمانده است. مشابه بودن غلظت‌های عصاره‌ی هیدروالکلی که اثر اینوتروپیک مثبت دارد، با غلظت‌های که انقباض عروق را مهار می‌کند، می‌تواند دلالت بر مکانیسم عمل مشابهی باشد.

عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه، اثر رفع انقباضی برجسته‌ای روی سایر عضلات صاف از خود نشان داده است (۱٤-۲۰). مقایسه‌ی غلظت‌های مهاری عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه روی عضلات صاف ایلئوم، به خوبی بیانگر این مطلب است که پوتنسی عصاره‌ی زرین گیاه تهیه شده با مطالعات قبلی مطابقت داشت (۱٤، ۱۵، ۱۷). لذا پس از اطمینان از اثربخشی عصاره، اثر آن روی انقباضات عضله‌ی قلب و آئورت ایزوله شده مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعات قبلی، عصاره‌ی زرین گیاه، انقباضات ایجاد شده با اسپاسموژن‌های مختلف در عضلات صاف بافت ایلئوم، مثانه، رحم و تراشه را مهار کرد (۱٤، ۱۵، ۱۹، ۲۰).

مهار انقباضات ناشی از محرک‌های مختلف می‌تواند دلالت بر این داشته باشد که مکانیسم عمل رفع انقباضی عصاره‌ی هیدروالکلی آخرین مرحله‌ی فرایند انقباضی را در بر دارد. یکی از مکانیسم‌هایی که می‌تواند این گونه اثر مهاری را توجیه کند، افزایش میزان موجود پیامبر ثانویه cAMP است. در عضلات صاف، افزایش غلظت یون کلسیم باعث فعال شدن نوعی آنزیم کیناز (myosin light chain kinase) می‌شود که زنجیر سبک‌تر میوزین را فسفوریله می‌کند. این عمل میوزین را از فیلامنت اکتین جدا کرده و فرایند انقباضی رخ می‌دهد. میوزین فسفاتاز آنزیم دیگری است که این فرایند را معکوس کرده و به انقباض خاتمه می‌دهد (۲٦). پیامبر ثانویه cAMP تنظیم‌کننده‌ی فعالیت این دو آنزیم است (۲۷). برخی داروها از طریق افزایش موجودی cAMP سیتوپلاسمی، اثر رفع انقباضی خود را روی عضلات صاف اعمال می‌کنند. برای مثال مهارکننده‌های آنزیم فسفودیاستراز اثر رفع انقباضی روی عضلات صاف دارند. آنزیم فسفودیاستراز مسئول تجزیه cAMP و cGMP درون سلولی است (۲۷). عصاره‌ی زرین گیاه هم اثر مهاری قوی‌تری در مقایسه با تئوفیلین روی تراشه‌ی ایزوله خرگوش از خود نشان داده است (۱۹). علاوه بر این، افزایش سطح cAMP سلولی می‌تواند اثر اینوتروپیک مثبت عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه روی میوکارد قلبی را نیز توجیه کند. مهارکننده‌های انتخابی فسفودیاستراز-III (مثل Milrinone و Amrinone) به دلیل افزایش میزان cAMP سیتوپلاسمی اثر اینوتروپیک مثبت دارند (۲۸). به هرحال، در مورد مکانیسم عمل عصاره‌ی زرین گیاه نمی‌توان بطور قطعی اظهار نظر کرد، زیرا زرین گیاه غنی از ترکیبات فعال است و این امکان وجود دارد که اثرات مشاهده شده مربوط به ترکیبات متفاوتی باشد. برای اطمینان از ایمنی قلبی- عروقی عصاره‌ی هیدروالکلی لازم است اثر عصاره روی فشارخون و ضربان قلب حیوان زنده نیز بررسی شود.

نتیجه گیری

بررسی اثر عصاره و اسانس زرین گیاه روی انقباضات میوکارد قلبی و شریان آئورت بیانگر این مطلب است که اسانس زرین گیاه اثر وازودیلاتوری روی شریان خونی دارد و در عین حال انقباضات قلب را سرکوب می‌کند. در حالیکه عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه نه تنها اثر اینوتروپیک منفی روی انقباضات میوکارد نداشت بلکه در غلظت‌های

بالاتر، قدرت انقباضی عضلات قلب را تقویت هم کرد. بنابراین، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه در مقادیری که اثر رفع انقباضی روی سایر عضلات صاف دارد، اثر رفع انقباضی روی عضله‌ی میوکارد ندارد، ولی اسانس زرین گیاه بالقوه می‌تواند مشکل نارسایی قلبی را به دنبال داشته باشد. مضافاً اینکه اثر وازودیلاتوری زرین گیاه عمدتاً مربوط به ترکیبات موجود در اسانس آن است.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج ازطرح تحقیقاتی / پایان نامه مقطع دکتری عمومی رشته‌ی داروسازی می‌باشد که در دانشگاه دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به تصویب رسیده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی به انجام رسیده است. بدینوسیله از زحمات آن معاونت تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Kuhtz-Buschbeck JP, Schaefer J, Wilder N, Wolze WT. The origin of the heartbeat and theories of muscle contraction. Physiological concepts and conflicts in the 19th century. Prog Biophys Mol Biol 2021; 159: 3-9.
2. Gordan R, Gwathmey JK, Xie LH. Autonomic and endocrine control of cardiovascular function. World J Cardiol 2015; 7(4): 204-14.
3. Kuo IY, Ehrlich BE. Signaling in muscle contraction. Cold Spring Harb Perspect Biol 2015; 7(2): a006023.
4. Kushner J, Ferrer X, Marx SO. Roles and regulation of voltage-gated calcium channels in arrhythmias. J Innov Card Rhythm Manag 2019; 10(10): 3874-80.
5. Mujica PE, González FG. Interaction between IP3 receptors and BK channels in arterial smooth muscle: non-canonical IP3 signaling at work. J Gen Physiol 2011; 137(5): 473-7.
6. Rechinger K. Flora iranica. Akademische Druck-U Verlagsanstalt: Graz-Austria; 1982. p. 218-30.
7. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed S, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. Iran J Pharm Res 2005; 4(2): 63-79.
8. Ghahreman A. Flore de iranica en couleur naturelle, faculty of science. University of Tehran. 1987;432.
9. Kalantar K, Gholijani N, Mousaei N, Yazdani M, Amirghofran Z. Investigation of Dracocephalum kotschyi plant extract on the effective inflammatory transcription factors and mediators in activated macrophages. Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem 2018; 17(1): 39-49.
10. Faham N, Javidnia K, Bahmani M, Amirghofran Z. Calycopterin, an immunoinhibitory compound from the extract of Dracocephalum kotschyi. Phytother Res 2008; 22(9): 1154-8.
11. Minaiyan M, Sadraei H, Yousefi I, Sajjadi SE, Talebi A. Evaluation of the effect of hydroalcoholic and flavonoid-enriched extracts of Dracocephalum kotschyi on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. Res Pharm Sci 2021; 16(2): 141-52.
12. Sadraei H, Asghari G, Khanabadi M, Minaiyan M. Anti-inflammatory effect of apigenin and hydroalcoholic extract of Dracocephalum kotschyi on acetic acid-induced colitis in rats. Res Pharm Sci 2017; 12(4): 322-9.
13. Hosseini-Sharifabad A, Sadraei H, Hashemnia M, Sajjadi SE, Mirdamadi Z. Effect of hydroalcoholic and aqueous extracts of Dracocephalum kotschyi on bleomycin induced pulmonary fibrosis. J Herbmed Pharmacol 2021; 10(2): 209-17.
14. Sadraei H, Asghari G, Kasiri F. Antispasmodic effect of Dracocephalum kotschyi hydroalcoholic extract on rat ileum contraction. Res Pharm Sci 2015; 10(5): 446-52.
15. Sadraei H, Asghari G, Alinejad M. Comparison of antispasmodic effect of hydroalcoholic extract of Dracocephalum kotschyi Boiss. in rat uterus and ileum. Res Pharm Sci 2016; 11(4): 284-92.
16. Sadraei H, Asghari G, Shahverdi F. Antidiarrhoeal assessment of hydroalcoholic and hexane extracts of Dracocephalum kotschyi Boiss. and apigenin in mice. Res Pharm Sci 2016; 11(3): 200-9.
17. Sadraei H, Ghanadian M, Asghari G, Sekhavati N. Antispasmodic activity of apigenin and luteolin, two components of Dracocephalum kotschyi extract, on rat ileum contractions. J Herbmed Pharmacol 2018; 7(2): 100-5.
18. Sadraei H, Ghanadian SM, Moazeni S. Inhibitory effect of hydroalcoholic and flavonoids extracts of Dracocephalum kotschyi, and its components luteolin, apigenin and apigenin-4'-galactoside on intestinal transit in mice. J Herbmed Pharmacol 2019; 8(1): 8-13.
19. Sadraei H, Ghanadian SM, Asghari G, Gavahian A. Bronchodilator effect of apigenin and luteolin, two components of Dracocephalum kotschyi on isolated rabbit trachea. J Herbmed Pharmacol 2019; 8(4): 281-6.
20. Sadraei H, Sajjadi SE, Tarafdar A. Antispasmodic effect of hydroalcoholic and flavonoids extracts of Dracocephalum kotschyi on rabbit bladder. J Herbmed Pharmacol 2020; 9(2): 145-52.
21. Samuelsson G. Drugs of natural origin: A textbook of pharmacognosy. Stockholm: Sweden: Apotekarsocieteten; 1999. p. 48-9.
22. Singh J. Maceration, percolation and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants. Lucknow, India: Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants (CIMAP); 2008. p. 32-5.
23. Cohen ML, Wiley KS, Slater IH. In vitro relaxation of arteries and veins by prazosin: Alpha-adrenergic blockade with no direct vasodilation. Blood Vessels 1979; 16(3): 144-54.
24. Zakhari S. Mechanism of action of calcium antagonists on myocardial and smooth muscle membranes. Drugs Exp Clin Res 1986; 12(9-10): 817-29.

25. Tsuchiya H. Anesthetic agents of plant origin: a review of phytochemicals with anesthetic activity. Molecules 2017; 22(8): 1369.
26. Wynne BM, Chiao CW, Webb RC. Vascular smooth muscle cell signaling mechanisms for contraction to angiotensin II and endothelin-1. J Am Soc Hypertens 2009; 3(2): 84-95.
27. Lincoln TM, Cornwell TL. Towards an understanding of the mechanism of action of cyclic AMP and cyclic GMP in smooth muscle relaxation. Blood Vessels 1991; 28(1-3): 129-37.
28. Feneck R. Phosphodiesterase inhibitors and the cardiovascular system. Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain 2007; 7(6): 203-7.

DOI: *10.48305/jims.v41.i744.1030*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 41, No. 744, 4th Week, January 2024**

Received: 27.09.2023 Accepted: 10.01.2024 Published: 18.01.2024

The Effect of Essential Oil and Hydroalcoholic Extract of *Dracocephalum Kotschyi* on Isolated Heart and Blood Vessel Contractions

Hassan Sadraei[1], Bahareh Arzi[2], Afsaneh Yegdaneh[3]

Original Article

Abstract

Background: *Dracocephalum kotschyi* is an herbal medicine with spasmolytic and anti-inflammatory properties. Pharmacological studies have indicated that *D. kotschyi* extract prevents pulmonary inflammation and fibrosis. In addition, *D. kotschyi* extract had bronchodilatory action. However, so far, its cardiovascular effect has not been investigated. The present study aimed to assess the effect of *D. kotschyi* extract and its essential oil on isolated heart and aortic contractions in vitro.

Methods: Essential oil and hydroalcoholic extract were prepared with hydrodistillation and, maceration respectively. Male Wistar rats were killed with CO_2 asphyxiation. The heart and aortic artery were carefully dissected and placed in an organ bath filled with a physiological solution saturated with oxygen, and their contractions were recorded on a physiograph apparatus. Effects of various concentrations of the *D. kotschyi* extract and essential oil were investigated on the heart and aortic contractions separately and compared with the control group.

Findings: The essential oil of *D. kotschyi* had an inhibitory effect on both myocadiac and aortic contractions. While the *D. kotschyi* extract in concentration that completely inhibited contraction of the ileum did not affect myocardial contractions. At concentrations above 200µg/ml, *D. kotschyi* extract had a positive inotropic effect on the cardiac muscle, however, at these concentrations it inhibited aortic artery contraction.

Conclusion: The *D. kotschyi* essential oil had a more potent vasodilatory effect than the extract on the aortic artery contractions. However, unlike *D. kotschyi* hydroalcoholic extract which had positive inotropic action, the essential oil had negative inotropic action on myocardial contraction.

Keywords: *Dracocephalum kotschyi;* Plant extraction; Spasmolytic; Vasospasm, Inotropic action

Citation: Sadraei H, Arzi B, Yegdaneh A. **The Effect of Essential Oil and Hydroalcoholic Extract of *Dracocephalum Kotschyi* on Isolated Heart and Blood Vessel Contractions.** J Isfahan Med Sch 2024; 41(744): 1030-8.

1- Associate Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Pharmacy Student, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hassan Sadraei, Associate Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: sadraei@pharm.mui.ac.ir