

بررسی برون تنی عصاره‌ی هیدروالکلی سیر وحشی (*Allium ampeloprasum*) بر فعالیت حرکتی ایلئوم موش صحرایی

مهرنوش صدیقی هفشجانی^۱، مصیب نوری احمدآبادی^۲، دکتر حمید نصری^۳، ملوک هادی^۴،
دکتر محمود رفیعیان کوپائی^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: در این تحقیق، اثر ضد انقباضی عصاره‌ی هیدروالکلی برگ گیاه تره‌ی کوهی بر انقباضات ایلئوم موش‌های صحرایی نژاد ویستار و مکانیسم محتمل بر آن بررسی شد.

روش‌ها: در این تحقیق مداخله‌ای تعداد ۴۸ سر موش صحرایی، از نژاد ویستار به طور تصادفی به شش گروه هشت‌تایی به شرح زیر تقسیم شدند: شاهد، دریافت‌کننده‌ی غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی تره‌ی کوهی، دریافت‌کننده‌ی L-NAME (L-NG-nitroarginine methyl ester) و عصاره، نالوکسان و عصاره، پروپرانولول و عصاره و گروه دریافت‌کننده‌ی غلظت‌های تجمعی کلورور کلسیم. در روز آزمایش، ایلئوم موش‌ها جدا و انقباضات آن در حمام بافت تحت یک گرم کشش با اضافه کردن کلورور پتاسیم (۶۰ mM) به روش ایزوتونیک ثبت شد. جهت بررسی مکانیسم اثر عصاره، بافت با پروپرانولول، نالوکسان و یا L-NAME انکوبه شد و درصد تغییرات نیروی انقباضی بر روی کاغذ ثبت و محاسبه گردید. همچنین جهت نقش کانال‌های کلسیم در فعالیت حرکتی بافت، ایلئوم تحت تأثیر غلظت‌های تجمعی کلورور کلسیم قرار داده شد.

یافته‌ها: عصاره‌ی تجمعی تره‌ی کوهی (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت وابسته به غلظت انقباضات ایلئوم به وسیله‌ی کلورور پتاسیم را کاهش داد ($P < 0/0001$). پروپرانولول اثر مهارى عصاره بر انقباضات ناشی از کلورور پتاسیم را به صورت معنی‌داری کاهش داد ($P < 0/0010$). اما، L-NAME و نالوکسان سبب کاهش اثر مهارى عصاره بر ایلئوم نشدند. همچنین کلسیم سبب انقباض بافت دپولاریزه شده توسط کلورور پتاسیم شد و این اثر انقباضی توسط غلظت‌های تجمعی عصاره به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/0010$).

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی هیدروالکلی برگ تره‌ی کوهی توانست با اثر بر گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک و کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ، بر فعالیت حرکتی ایلئوم موش صحرایی اثر بگذارد و با توجه به نتیجه‌ی اثر، ممکن است بتوان از آن در درمان ناراحتی‌های گوارش استفاده کرد.

واژگان کلیدی: عصاره‌ی تره‌ی کوهی، پروپرانولول، ایلئوم، موش صحرایی

ارجاع: مهرنوش صدیقی هفشجانی، مصیب نوری احمدآبادی، حمید نصری، هادی ملوک، رفیعیان کوپائی محمود. بررسی برون تنی عصاره‌ی هیدروالکلی سیر وحشی (*Allium ampeloprasum*) بر فعالیت حرکتی ایلئوم موش صحرایی و بیان مکانیسم محتمل. مجله

دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۶۸): ۲۲۳۸-۲۲۴۹

۱- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- استاد، گروه نفرولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- کارشناس ارشد، گروه آمار، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۵- استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

مقدمه

در سال‌های اخیر، استفاده از گیاهان دارویی به شدت افزایش یافته است (۴-۱) که اغلب ناشی از اعتقاد مردم به بی‌عارضه بودن آن‌ها است (۵-۲). تحقیقات اخیر نیز نتایج امیدوار کننده‌ای از این گیاهان به خصوص از خانواده‌ی آلیوم در درمان بیماری‌های مختلف داشته‌اند (۱۱-۵). از جمله‌ی این گیاهان، تره‌ی کوهی است که در طب سنتی خواص درمانی زیادی برای آن گزارش شده است (۱۲). گیاه تره‌ی کوهی یا سیر وحشی با نام علمی *Allium ampeloprasum* یکی از گیاهان خوراکی خودروبی است که متعلق به خانواده‌ی لاله (Lilaceae) می‌باشد (۱۳). تره‌ی کوهی دارای اثرات مشابه ولی ملایم‌تر نسبت به سیر است (۱۲). این گیاه در شهرستان‌های همدان، شیراز، سنندج، کامیاران، قم و اراک وجود دارد. از برگ و ساقه‌های جوان گیاه می‌توان به عنوان چاشنی همراه غذا و تهیه‌ی دارو استفاده کرد (۱۳).

ترکیبات گیاه تره‌ی کوهی شامل مقدار زیادی از سولفوکسیدهای سیستئینی، ساپونین‌ها و تانین‌ها و ترکیبات دی سولفید می‌باشد (۱۴). مواد مؤثره‌ی آن دارای خاصیت محافظت کنندگی در برابر آسیب القاء شده بر اثر عوامل آسیب رسان، پایین آورنده‌ی کلسترول سرم و گشاد کننده‌ی عروق می‌باشد (۱۵-۱۴).

گیاه تره‌ی کوهی دارای خواص ضد آسم، آنتی‌سپتیک، دیورز، گشاد کننده‌ی عروق خونی، اکسپکتورانت، تونیک و محرک است (۱۶). می‌توان این گیاه و گیاهان مشابه را به عنوان عامل ضد دیابتی در نظر گرفت (۲۳-۱۷). همچنین گیاه دارای اثرات سودمند بر سطح چربی‌ها و گلوکز سرم است.

ترکیبات دارای سولفور در گروه دی سولفیدها که به مقدار زیاد در گیاهان هم‌جنس سیر نظیر تره‌ی کوهی یافت می‌شوند، می‌توانند از طریق افزایش مصرف محیطی گلوکز، مهار جذب روده‌ای گلوکز و تشدید ترشح انسولین از سلول‌های باقی مانده‌ی بتا در جزایر لانگرهانس موجب کاهش گلوکز در مدل تجربی دیابت گردند (۲۷-۲۳).

توجه به نقش استرس اکسیداتیو و تغییرات آنزیمی، در بروز برخی تغییرات بیوشیمیایی و بافتی نامطلوب ناشی از دیابت نوع ۱ مؤثر است (۲۸). ترکیبات سولفوکسیدهای سیستئینی می‌توانند علت خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه باشند. خاصیت آنتی اکسیدانی این گروه از مواد از طریق افزایش سطح آنزیم‌های مربوط به سیستم آنتی اکسیدانت شامل سوپر اکسید دیس موتاز به انجام می‌رسد (۲۸-۲۵). این گیاه دارای اثر ضد درد می‌باشد (۲۹). تره‌ی کوهی از نظر برخی مواد مؤثره، مشابه سیر می‌باشد که اثرات سودمند بر سطح گلوکز و چربی‌های سرم اعمال می‌نماید (۳۲-۳۰)؛ اما تحقیقی مربوط به خواص گیاه بر روده صورت نگرفته است.

عوامل متعددی، با اثر بر مکانیسم سلولی عضله، فعالیت حرکتی عضله‌ی صاف را تغییر می‌دهند. عواملی که به افزایش شدید غلظت پتاسیم خارج سلولی و دپولاریزاسیون غشا، باز شدن کانال‌های آهسته‌ی سدیمی-کلسیمی و ورود کلسیم به سلول، دفسفریله شدن میوزین فسفاتاز و پمپ شدن کلسیم درون رتیلولوم سارکوپلاسمیک و در نهایت افزایش کلسیم سیتوسولی شوند، سبب انقباض عضله‌ی صاف می‌شوند. همچنین عواملی که به واسطه‌ی آن‌ها کلسیم سیتوزولی کاهش و فعالیت میوزین فسفاتاز

جهت به دست آوردن عصاره‌ی گیاه تره‌ی کوهی استفاده شد (۳۸-۴۱). بعد از خشک و پودر کردن برگ‌های گیاه، ۱۰۰ گرم پودر با اتانول ۷۰ درصد خیس شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. سپس محلول به دست آمده به وسیله‌ی قیف بوختر صاف شد و در دمای 35°C با استفاده از دستگاه روتاری، عمل تقطیر حلال انجام گرفت. محلول غلیظ شده در انکوباتور با دمای حداکثر 40°C قرار گرفت تا الکل موجود در محلول به طور کامل خارج شود. پودر به دست آمده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد (۴۲-۴۳). از ۵۰۰ g گیاه پودر شده‌ی تره‌ی کوهی در نهایت ۲۵ g پودر به دست آمد.

آماده‌سازی ایلئوم و روش انجام کار

در روز آزمایش با رعایت اصول اخلاقی، موش با کلروفورم بیهوش شد و از انتهای ایلئوم آن (به جز ۲ cm آخر) یک قطعه به طول ۲ cm جدا شد و داخل آن به آرامی با محلول تایرود شسته شد و در حمام بافت (۵۰ ml) بین دو قلاب استیل ضد زنگ به صورت عمودی با دمای محلول (37°C) و pH برابر ۷/۴ قرار گرفت. کشش اولیه به بافت ۱ گرم بود و محلول تایرود حمام دارای ترکیب زیر (بر حسب میلی‌مولار) بود:

NaCl (۱۳۶)، KCl (۵)، CaCl_2 (۲۰)، NaHCO_3 (۱۱/۹)، MgCl_2 (۰/۹۸)، NaH_2PO_4 (۰/۳۶) و گلوکز (۵/۵۵).

دوره‌ی سازگاری و به تعادل رسیدن بافت، ۶۰ دقیقه همراه با جریان دایم حباب هوا به داخل حمام بود که طی آن هر ۱۵ دقیقه محلول حمام تعویض می‌شد. بعد از سازگاری، ایلئوم را توسط کلرور

افزایش یابد سبب اثر مهارى بر فعالیت حرکتی عضله صاف می شوند (۳۳-۳۴).

از آن جایی که در تحقیقات قبلی اثر شل شدگی عروقی این گیاه (۱۵) و اثر گیاه والک از این خانواده (لاله) بر فعالیت انقباضی آنورت با خاصیت کاهش پاسخ انقباضی سیستم عروقی ایزوله‌ی موش صحرایی گزارش شده است (۳۵)، این تحقیق با هدف بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی تره‌ی کوهی بر فعالیت انقباضی ایلئوم و مکانیسم محتمل بر اثر مربوط، از طریق کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ، گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک و اوپیوئیدی و نیز نقش گیاه در سنتز نیتریک اکساید سنتتاز انجام گردید.

روش‌ها

حیوانات

در این تحقیق مداخله‌ای، ۴۸ سر موش صحرایی از نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۱۵۰-۲۰۰ g از مرکز تحقیقات و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تهیه و در شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و در دمای $24-20^{\circ}\text{C}$ نگهداری شدند. موش‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند، اما شب قبل از آزمایش به دلیل راحتی کار و خالی بودن بافت از غذا محروم شدند (۳۶-۳۷).

مواد مورد استفاده:

پروپرانول، (L-NG-nitroarginine methyl ester) L-NAME از شرکت Sigma (آمریکا) و نالوکسان از شرکت تولید دارو (ایران) و کلیه‌ی نمک‌های مصرفی از شرکت Merck (آلمان) تهیه شدند.

روش عصاره‌گیری

در این مطالعه، از روش ماسراسیون (Macerate)

گزارش شد. از آزمون آماری Analysis of variance (ANOVA) جهت مقایسه‌ی غلظت‌های مختلف عصاره و از Student-t جهت مقایسه‌ی دو گروه با یکدیگر استفاده شد. $P < 0/0500$ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در تمام مراحل انجام آزمایش، اضافه کردن کلرور پتاسیم به حمام بافت، سبب انقباض ناشی از کلرور پتاسیم بر ایلئوم شد و پس از مدت کوتاهی، انقباض به کفه رسید که در این نقطه، درصد انقباض ایلئوم محاسبه گردید. بعد از رسیدن بافت به حالت کفه با اضافه کردن سالین، غلظت‌های تجمعی عصاره، آنتاگونیست گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک، اوپیوئیدی، نقش نیتریک اکساید و دخالت کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ بر میانگین تغییر انقباض بافت ثبت و محاسبه گردید.

مقایسه‌ی غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی هیدروالکلی تریه‌ی کوهی بر انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم در ایلئوم موش صحرائی

غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی هیدروالکلی تریه‌ی کوهی (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) انقباض ایلئوم موش صحرائی ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) را در مقایسه با گروه سالین کاهش داد و نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها بود ($n = 8$, $P < 0/0001$) (شکل ۱). اثر مهاری عصاره بر ایلئوم نیز وابسته به دوز و نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها بود ($n = 8$, $P < 0/0500$).

غلظت‌های تجمعی عصاره (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg) انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM)

پتاسیم (۶۰ mM) منقبض و هنگامی که انقباض به حالت کفه رسید، غلظت‌های تجمعی عصاره (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (۸) به حمام بافت اضافه می‌شد (۴۱). اهرم ترانس‌دیوسر ایزوتونیک (Harvard, UK) فعالیت مکانیکی بافت را به دستگاه ثبات (Universal Harvard Osillograph) منتقل می‌کرد و اثر مربوط روی کاغذ ثبت می‌شد. سپس درصد تغییر نیروی انقباضی نسبت به حالت کفه محاسبه می‌شد.

به منظور بررسی مکانیسم اثر عصاره بر بافت، پس از انکوبه کردن بافت (۳۰ دقیقه) پروپرانولول با غلظت $1 \mu\text{M}$ ، نالوکسان با غلظت $1 \mu\text{M}$ (۳۰) و L-NAME (۲۰ دقیقه)، در غلظت $100 \mu\text{M}$ ، به ترتیب به منظور بررسی اثر بر گیرنده‌های بتا آدرنرژیک، اوپیوئیدی و نقش نیتریک اکساید بررسی شد (۴۳-۴۴).

جهت بررسی نقش کلسیم خارج سلولی در عملکرد عصاره، ابتدا بافت در محلول تیروید فاقد کلسیم و دارای غلظت زیاد کلروپتاسیم (۶۰ mM) قرار داده شد. سپس کلرور کلسیم به صورت تجمعی (۲-۸ mM) به حمام اضافه و انقباض ایلئوم در پاسخ به غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم بررسی گردید. پس از ۵ دقیقه انکوبه شدن و حضور عصاره با غلظت‌های تجمعی، مراحل ثبت انجام گردید.

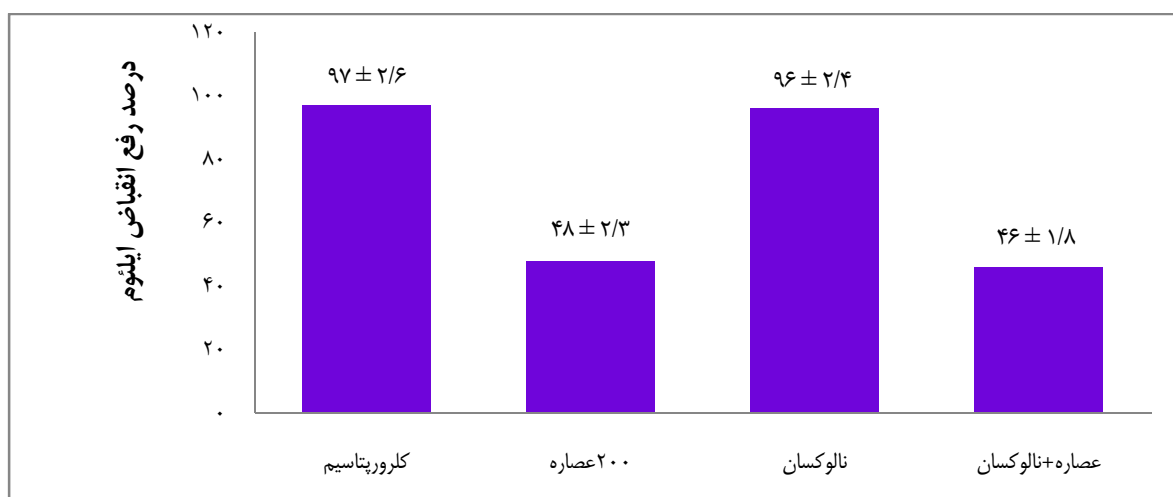
روش‌های آماری

اطلاعات به دست آمده پس از ثبت در کامپیوتر با نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. تغییرات نیروی انقباضی ناشی از عصاره و آنتاگونیست‌ها، نسبت به عصاره به صورت میانگین \pm انحراف معیار محاسبه و

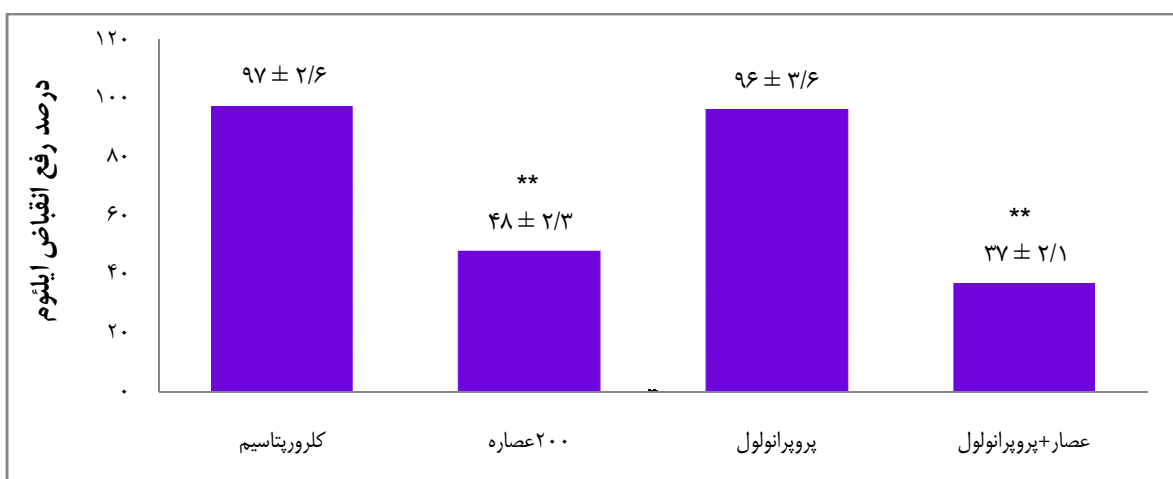
تحریک این گیرنده‌ها سبب عملکرد مهارى شده باشد. بنابراین، اثر عصاره بر این گیرنده‌ها یک بار در غیاب و یک بار بعد از ۳۰ دقیقه حضور پروپرانولول با فاصله‌ی زمانی ۱۵ دقیقه همراه با شستشوی بافت مقایسه شد. نتایج نشان داد که عصاره سبب مهار انقباض کلرور پتاسیم می‌گردد ($n = 8, P < 0/0001$). پروپرانولول نیز سبب کاهش معنی‌دار اثر مهارى انقباض ناشی از عصاره شد ($n = 8, P < 0/0010$) (شکل ۲).

را در مقایسه با گروه سالیین کاهش داد ($n = 8, P < 0/0001$). این اثر مهارى توسط عصاره، وابسته به دوز است و نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین هر یک از غلظت‌های عصاره است ($n = 8, P < 0/0500$).

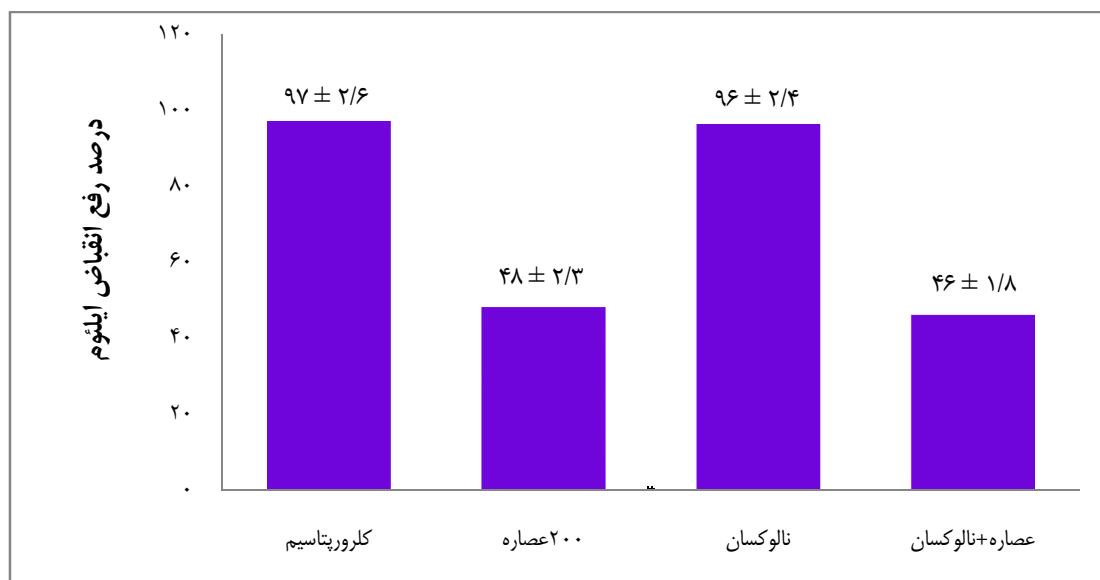
مقایسه‌ی اثر حضور آنتاگونیست گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک (پروپرانولول) بر عملکرد مهارى عصاره
تحریک گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک سبب شل شدن روده‌ی کوچک می‌شود. احتمال دارد عصاره از طریق



شکل ۱. اثر غلظت‌های تجمعی عصاره‌ی تری کوهی ($100, 200, 400 \text{ mg/kg}$) بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (60 mM) و سالیین



شکل ۲. مقایسه‌ی اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهارى عصاره (200 mg/kg) و پروپرانولول ($1 \mu\text{M}$) بر گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در ایلئوم ($n = 8, P < 0/0010$)



شکل ۳. مقایسه‌ی اثر انقباضی کلرورپتاسیم و اثر مهاری عصاره (۲۰۰ mg/kg) و نالوکسان (۱ μM) بر گیرنده‌های اویپوئیدی در ایلئوم (P < ۰/۰۰۰۱, n = ۸)

مقایسه‌ی اثر حضور آنتاگونیست سنتز نیتریک

اکساید (L-NAME) بر عملکرد مهاری عصاره

احتمال دارد تحریک سنتز NO سبب کاهش عملکرد انقباضی عصاره شده باشد. L-NAME نیز مهار کننده‌ی آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز می‌باشد. بنابراین، اثر عصاره بر این گیرنده‌ها یک بار در غیاب و یک بار بعد از ۲۰ دقیقه حضور L-NAME بر بافت مقایسه شد. فاصله‌ی زمانی مرحله‌ی ۱۵ دقیقه همراه با شستشوی بافت بود. عصاره، انقباض ناشی از کلرورپتاسیم را مهار کرد (P = ۰/۰۰۰۱, n = ۸)؛ اما اختلاف معنی‌داری بین اثر مهاری عصاره در حضور و غیاب L-NAME وجود نداشت (شکل ۴).

اثر عصاره‌ی هیدروالکلی برگ تره‌ی کوهی بر

انقباض ناشی از کلرورپتاسیم در ایلئوم دپولاریزه

شده توسط کلرورپتاسیم

شکل ۵ نشان می‌دهد که ایلئوم دپولاریزه شده‌ی موش صحرایی در محلول تایرود با کلرورپتاسیم بالا (mM)

مقایسه‌ی اثر حضور آنتاگونیست گیرنده‌های

اویپوئیدی (نالوکسان) بر عملکرد مهاری عصاره

با توجه به این که تحریک گیرنده‌های اویپوئیدی سبب کاهش حرکات روده‌ای می‌گردد. احتمال دارد مواد مؤثر این عصاره بر گیرنده‌ها اثر بگذارد و سبب شل شدن عضله گردد. بنابراین اثر مهاری عصاره بر این گیرنده‌ها یک بار در غیاب و یک بار بعد از ۳۰ دقیقه حضور نالوکسان ۱ μM و با فاصله‌ی زمانی ۱۵ دقیقه همراه با شستشوی بافت مقایسه شد. نتایج نشان داد که عصاره، اثر انقباضی کلرورپتاسیم را به صورت معنی‌دار کاهش داده است؛ اما اختلاف معنی‌داری بین اثر مهاری عصاره در حضور و غیاب نالوکسان وجود ندارد.

عصاره سبب مهار انقباض کلرورپتاسیم شد

(P = ۰/۰۰۰۱, n = ۸)؛ اما اختلاف معنی‌داری بین

اثر مهاری عصاره در حضور و غیاب نالوکسان وجود

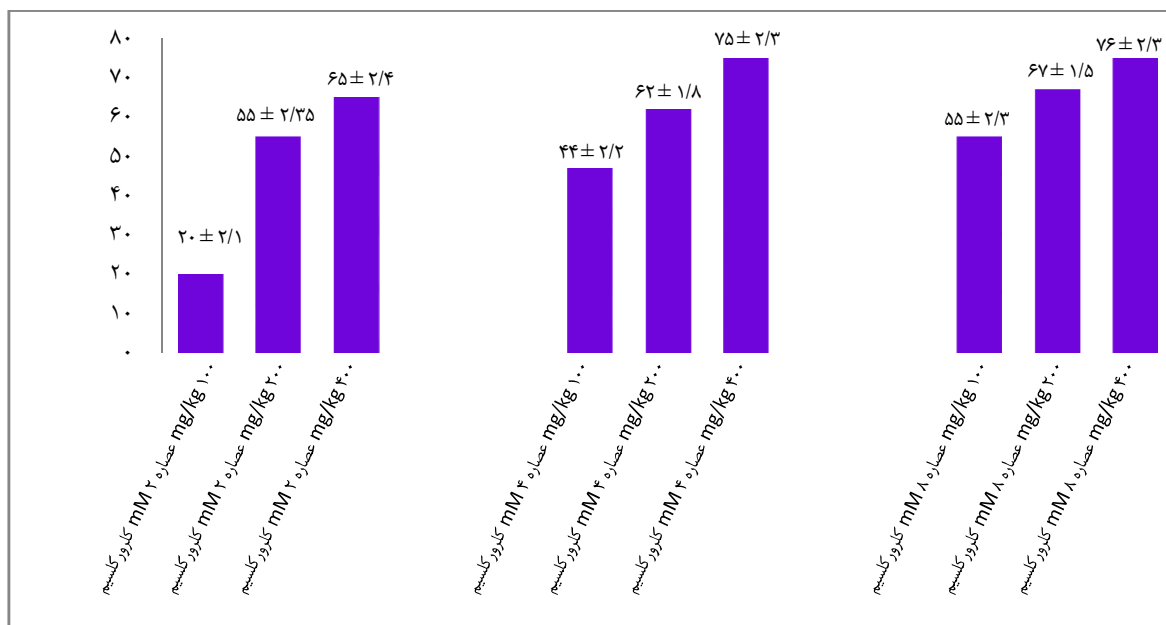
نداشت (شکل ۳).

۳ دقیقه غلظت‌های مختلف عصاره (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/kg) ناشی از کلرور کلسیم در ایلئوم شد و این اثر انقباضی کلسیم در غیاب و در حضور عصاره، اختلاف معنی‌داری با هم داشت ($P < 0.0010$, $n = 8$).

۶۰) اما فاقد کلسیم، در حضور غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم به صورت وابسته به غلظت (۲، ۴، ۸ و ۱۵ mM) منقبض شده است ($P < 0.0001$, $n = 8$). بعد از شستشوی بافت با محلول تایرود بدون کلسیم و ۱۵ دقیقه استراحت بافت، تکرار همین مراحل در حضور



شکل ۴. مقایسه‌ی اثر انقباضی کلرور پتاسیم و اثر مهاری عصاره در غلظت ۲۰۰ mg/kg و L-NAME (۱۰۰ μM) مهار کننده‌ی سنتز آنزیم نیتریک اکساید در ایلئوم ($P < 0.0001$, $n = 8$)



شکل ۵. مقایسه‌ی اثر انقباض ایلئوم ناشی از غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم (۲-۸ mM) در بافت دپولاریزه توسط کلرور پتاسیم (۶۰ mM) ($P < 0.0001$).

بحث

در این تحقیق عصاره‌ی تری کوهی توانست انقباضات ناشی از کلرور پتاسیم (۲۵ دقیقه) را کاهش دهد، اما قبل از اضافه نمودن عصاره، بافت در تمام دوره‌ی آزمایش همچنان در حال انقباض باقی می‌ماند و بعد از اضافه شدن عصاره، شل شد که ناشی از اثر عصاره روی بافت بوده است نه خستگی عضلانی (۴۵).

از آن جا که عامل اصلی انقباض عضله‌ی صاف، وجود یون‌های کلسیم می‌باشد. یون‌های کلسیم می‌توانند از طریق کانال‌های کلسیمی فعال شوند، وارد سلول شوند و سبب انقباض عضله‌ی صاف گردند. باز شدن این کانال‌ها تغییر زیادی در پتانسیل استراحت غشا ایجاد نمی‌کند؛ زیرا مقدار کافی از یون‌های پتاسیم به طور همزمان جهت حفظ یک پتانسیل غشای طبیعی به خارج از سلول حرکت می‌کند. روند انقباض نیز تا زمانی که این کانال‌های کلسیمی باز هستند، ادامه می‌یابد (۴۶). همچنین کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ مانند کانال‌های نوع L که در ایلئوم دیده می‌شوند، بنابراین انقباض عضله‌ی صاف ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم، می‌تواند به خاطر این کانال‌ها باشد (۴۷). این احتمال نیز وجود دارد که مواد مؤثره در عصاره‌ی تری کوهی با اثر بر مکانیسم سلول‌های عضله‌ی صاف ایلئوم، مانع افزایش کلسیم درون سلول و شل شدن عضله شده باشند.

در مورد بیان مکانیسم احتمالی دلیل شل شدگی عضله، باید یادآور شد که فعال شدن گیرنده‌های اوبیوئیدی سبب شل شدن ایلئوم می‌گردند؛ اما در این جا بلوکه کردن این گیرنده‌ها با داروی نالوکسان نشان دهنده‌ی ناتوانی نالوکسان در کاهش عملکرد مهاره عصاره، مؤید عدم دخالت این گیرنده‌ها می‌باشد

(۴۸). فعال شدن گیرنده‌های بتاآدرنرژیک نیز موجب مهار فعالیت انقباضی ایلئوم می‌گردد (۴۹).

گیرنده‌های بتاآدرنرژیک با فعال کردن پروتئین کینازهای وابسته به cAMP (Cyclic adenosine monophosphate) و انتقال فعال کلسیم به درون شبکه‌ی سارکوپلاسمی، موجب مهار فعالیت انقباضی ایلئوم می‌گردند. انکوبه کردن قطعه‌ی ایلئوم با آنتاگونیست گیرنده‌های بتاآدرنرژیک توسط پروپرانولول، عملکرد شل کننده‌ی عصاره بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم را کاهش داد که می‌تواند نشان دهنده‌ی آن باشد که ماده و یا موادی از عصاره، قدرت فعال کنندگی گیرنده‌های بتاآدرنرژیک را داشته‌اند و سبب کاهش اثر عصاره شده‌اند.

همچنین یکی از مهم‌ترین عوامل آزاد شونده از آندوتلیوم، نیتریک اکساید (NO یا Nitric oxide) است. به وسیله‌ی آنزیم نیتریک اکساید، سنتاز از ال- آرژنین ساخته می‌شود (۵۲-۵۰). افزایش سنتز NO از طریق افزایش cGMP (Cyclic guanosine monophosphate) سبب شل شدن ایلئوم می‌گردد (۵۶-۵۳)؛ اما ناتوانی L-NAME در کاهش عملکرد مهاره عصاره، مؤید عدم دخالت و نیز عدم مشارکت سنتز نیتریک اکساید در عملکرد مهاره عصاره می‌باشند.

در مورد اضافه نمودن غلظت‌های تجمعی کلرور کلسیم به بافت، در محلول تیروید بدون کلسیم با پتاسیم زیاد، بافت فقط دپولاریزه شد و چون کلسیمی در محیط نبود، اثر انقباضی مشاهده نشد. با اضافه شدن کلسیم به محیط و با توجه به وجود کانال‌های کلسیم نوع L و اثبات وجود آن‌ها در عضله‌ی صاف روده با ورود کلسیم به داخل سلول از طریق این

بتآدرنژیک انجام می‌گیرد که البته جدا کردن تک‌تک ترکیبات و بررسی جداگانه‌ی تأثیر هر یک بر روی این کانال‌ها نیازمند تحقیق جداگانه‌ای است.

نتیجه‌گیری

عصاره‌ی هیدروالکلی برگ تره‌ی کوهی می‌تواند با اثر روی کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ و گیرنده‌های بتآدرنژیک بر فعالیت حرکتی ایلئوم موش صحرایی اثر بگذارد و با توجه به نتیجه‌ی اثر، ممکن است بتوان از آن در درمان ناراحتی‌های گوارش استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۱۳۹۰ است که با بودجه‌ی معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده است. بدین وسیله از آن معاونت محترم و سایر افرادی که در اجرای مطالعه همکاری داشتند، قدردانی می‌گردد.

کانال‌ها، عضله به صورت وابسته به دوز منقبض شد. سپس در حضور عصاره، اثر مهاری بر انقباض ایجاد شد که نشان دهنده‌ی تأثیر عصاره بر کانال‌های کلسیم و ایجاد عملکرد مهاری عصاره است.

گیاهان خانواده‌ی سیر دارای یک مهار کننده‌ی قوی آنزیم آلدوز ردوکتاز به نام Isoliquiritigenin هستند که این ترکیب می‌تواند از کاهش ایجاد پروستاگلاندین I₂ که دارای اثرات گشاد کننده‌ی عروقی است، توسط آئورت در شرایط دیابتی جلوگیری کند و توجه کننده‌ی کاهش اثرات انقباضی آئورت سینه‌ای باشد (۵۷-۵۸).

می‌توان احتمال داد که عملکرد مهاری عصاره‌ی حاضر نیز نتیجه‌ی ترکیب ایزولیکوئیریتیجینین یا پیوند به نسبت پایدار ماده یا مواد مؤثره‌ی عصاره‌ی گیاه مانند فلاونوئیدها و ساپونین‌ها با کانال‌های کلسیم باشد (۶۱-۵۹، ۲)؛ یعنی اثر عمده‌ی عصاره‌ی حاضر از طریق غیر فعال کردن کانال‌های کلسیمی و قسمتی نیز از تأثیر ترکیبات عصاره با دخالت گیرنده‌های

References

1. Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants and the human needs. *J HerbMed Pharmacol* 2012; 1(1): 1-2.
2. Asgari A. Herbal medicines and kidney; friends or foes? *J Nephroarmacol* 2014; 3(1): 5-6.
3. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. *J Nephrothol* 2013; 2(2): 152-3.
4. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Herbal medicine and diabetic kidney disease. *J Nephroarmacol* 2013; 2(1): 1-2.
5. Shirzad H, Nasri H. Toxicity and safety of medicinal plants. *J Herbmed Pharmacol* 2013; 2(2): 1-2.
6. Behradmanesh S, Derees F, Rafieian-Kopaei M. Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients. *J Ren Inj Prev* 2013; 2(2): 51-4.
7. Asadi SY, Parsaei P, Karimi M, Rafieian-Kopaei M. Effect of ethanolic extract of Green tea (*Camellia sinensis*) on intra-abdominal adhesions in rats. *J Zanjan Univ Med Sci* 2013; 21(86): 86-96. [In Persian].
8. Kazemi S, Asgary S, Moshtaghan J, Rafieian M, Adelnia A, Shamsi F. Liver-protective effects of hydroalcoholic extract of *Allium hirtifolium* boiss. In rats with alloxan-induced diabetes mellitus. *ARYA Atheroscler* 2010; 6(1): 11-5.
9. Hajivandi A, Amiri M. World Kidney Day 2014: Kidney disease and elderly. *J Parathyroid Dis* 2014; 2(1):3-4.
10. Ardalan MR, Rafieian-Kopaei M. Is the safety of herbal medicines for kidneys under question? *J Nephroarmacol* 2013; 2(2): 5-6.
11. Bahmani M, Vakili-Saatloo N, Gholami-Ahangaran M, Karamati SA, Khalil-Banihabib E, Hajigholizadeh Gh, et al. A comparison study on the anti-leech effects of onion (*Allium cepa*

- L) and ginger (*Zingiber officinale*) with levamisole and triclabendazole. *J HerbMed Pharmacol* 2013; 2(1): 1-3.
12. Eidi M, Soleimani F, Ebrahimi S. Hypolipidemic Effects of *Allium porrum* L. Leaves in Healthy and Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Journal of Medicinal Plants* 2007; 6(24): 8-13.
 13. Mozafrian V. Culture of plant names. Tehran, Iran: Farhang Moaser Publication; 2003. p. 27. [In Persian].
 14. Nguansangiam S, Angsubhakorn S, Bhamarapravati S, Suksamrarn A. Effects of elephant garlic volatile oil (*Allium ampeloprasum*) and T-2 toxin on murine skin. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003; 34(4): 899-905.
 15. Morita T, Ushiroguchi T, Hayashi N, Matsuura H, Itakura Y, Fuwa T. Steroidal saponins from elephant garlic, bulbs of *Allium ampeloprasum* L. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1988; 36(9): 3480-6.
 16. Bown D. Encyclopedia of Herbs and Their Uses. New York, NY: Reader's Digest Association p. 20-31; 1995.
 17. Khalaji S, Eidi M, Eidi A, Shahmohammadi P, Arab M. Hyperalgesia effect of leaf *Allium ampeloprasum* extract attenuates (*Allium ampeloprasum* l. subsp. *Iranicum*) in normal and diabetic mice. *Iranian Journal of Biological Sciences* 2009; 4(1): 9-14. [In Persian].
 18. Kadkhodae M, Sedaghat Z. Novel renoprotection methods by local and remote conditioning. *J Ren Inj Prev* 2014; 3(2): 37-8.
 19. Tavafi M. Complexity of diabetic nephropathy pathogenesis and design of investigations. *J Ren Inj Prev* 2013; 2(1): 59-62.
 20. Augusti KT. Therapeutic values of onion (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.). *Indian J Exp Biol* 1996; 34(7): 634-40.
 21. Ardalan MR, Rafeian-Kopaie M. Antioxidant supplementation in hypertension. *J Ren Inj Prev* 2014; 3(2): 39-40.
 22. Nasri H, Behradmanesh S, Ahmadi A, Baradaran A, Nasri P, Rafeian-Kopaei M. Association of serum lipids with level of blood pressure in type 2 diabetic patients. *J Ren Inj Prev* 2014; 3(2): 43-6.
 23. Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 2006; 13(9-10): 624-9.
 24. Tamadon MR, Baradaran A, Rafeian-Kopaei M. Antioxidant and kidney protection; differential impacts of single and whole natural antioxidants. *J Ren Inj Prev* 2014; 3(2): 41-2.
 25. Nasri H, Ahmadi A, Baradaran A, Nasri P, Hajian S, Pour-Arian A, et al. A biochemical study on ameliorative effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract against contrast media induced acute kidney injury. *J Ren Inj Prev* 2014; 3(1): 47-9.
 26. Liu CT, Hse H, Lii CK, Chen PS, Sheen LY. Effects of garlic oil and diallyl trisulfide on glycemic control in diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 516(2): 165-73.
 27. Mardani S, Nasri H, Hajian S, Ahmadi A, Kazemi R, Rafeian-Kopaei M. Impact of *Momordica charantia* extract on kidney function and structure in mice. *J Nephropathol* 2014; 3(1): 35-40.
 28. Nasri H, Rafeian-Kopaei M. Metformin improves diabetic kidney disease. *J Nephropharmacol* 2012; 1(1): 1-2.
 29. Roghani M, Aghaie M. The effect of *Allium ampeloprasum* on nociceptive response intensity in diabetic rats. *J Gorgan Uni Med Sci* 2007; 9(3): 10-4. [In Persian].
 30. Kumari K, Augusti KT. Antidiabetic and antioxidant effects of S-methyl cysteine sulfoxide isolated from onions (*Allium cepa* Linn) as compared to standard drugs in alloxan diabetic rats. *Indian J Exp Biol* 2002; 40(9): 1005-9.
 31. Kumari K, Mathew BC, Augusti KT. Antidiabetic and hypolipidemic effects of S-methyl cysteine sulfoxide isolated from *Allium cepa* Linn. *Indian J Biochem Biophys* 1995; 32(1): 49-54.
 32. Fritsch RM, Keusgen M. Occurrence and taxonomic significance of cysteine sulphoxides in the genus *Allium* L. (*Alliaceae*). *Phytochemistry* 2006; 67(11): 1127-35.
 33. Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288(4): C769-C783.
 34. Ratz RH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Role of Ca^{2+} and MLK in regulation of smooth muscle. *Am J Physiol* 2005; 248: 2769-83.
 35. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Ogbi K. Survey the Effect of Feeding of *Allium Latifolium* on Contractile Reactivity of Aorta of Diabetic Rats. *J Guilan Univ Med Sci* 2008; 17(65): 1-6. [In Persian].
 36. Bahmani M, Vakili-Saatloo N, Maghsoudi R, Momtaz H, Saki K, Kazemi-Ghoshchi B, et al. A comparative study on the effect of ethanol extract of wild *Scrophularia deserti* and streptomycin on *Brucella melitensis*. *J HerbMed Pharmacol* 2013; 2(1): 17-20.

37. Nasri H, Sahinfard N, Rafieian M, Rafieian S, Shirzad M, Rafieian-Kopaei M. Effects of *Allium sativum* on liver enzymes and atherosclerotic risk factors. *J HerbMed Pharmacol* 2013; 2(2): 23-8.
38. Shirzad H, Taji F, Rafieian-Kopaei M. Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. *J Med Food* 2011; 14(9): 969-74.
39. Ansari R, Shahinfard N, Namjou A, Rafieian M, Shirzad H, Rafieian-Kopaei M. Ameliorative property of *Teucrium polium* on second degree burn. *J HerbMed Pharmacol* 2013; 2(1): 9-11.
40. Asgary S, Kelishadi R, Rafieian-Kopaei M, Najafi S, Najafi M, Sahebkar A. Investigation of the lipid-modifying and antiinflammatory effects of *Cornus mas* L. supplementation on dyslipidemic children and adolescents. *Pediatr Cardiol* 2013; 34(7): 1729-35.
41. Sedighi M, Rafieian-Kopaei M, Noori-Ahmadabadi M. Effect of *Allium ampeloprasum* on ileum function: Involvement of beta-adrenergic receptors and voltage dependent calcium channels. *Life Sci J* 2012; 9(4): 1660-6.
42. Nasri H, Behradmanesh S, Ahmadi A, Rafieian-Kopaei M. Impact of oral vitamin D (cholecalciferol) replacement therapy on blood pressure in type 2 diabetes patients; a randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial. *J Nephrothol* 2014; 3(1): 29-33.
43. Sedighi M, Rafieian-Kopaei M, Noori-Ahmadabadi M. *Kelussia odoratissima* Mozaffarian inhibits ileum contractions through voltage dependent and beta adrenergic receptors. *Life Sci J* 2012; 9(4): 1033-8.
44. Rafieian-Kopaei M, Sewell RD. Newer antidepressants: analgesia and relative monoamine reuptake inhibitor potency. *Pharmaceutical Journal* 1994; 46(Suppl): 1088.
45. Bolton TB. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev* 1979; 59(3): 606-718.
46. Guyton AC, Hall JE. *Medical physiology*. 10th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 2000.
47. El Bardai S, Lyoussi B, Wiblo M, Morel N. Comparative study of the antihypertensive activity of *Marrubium vulgare* and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens* 2004; 26(6): 465-74.
48. Gray AC, White PJ, Coupar IM. Characterisation of opioid receptors involved in modulating circular and longitudinal muscle contraction in the rat ileum. *Br J Pharmacol* 2005; 144(5): 687-94.
49. van Der V, Rademaker B, Bast A. A beta adrenoceptor with atypical characteristics is involved in the relaxation of the rat small intestine. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 255(1): 218-26.
50. Bates DO, Hillman NJ, Williams B, Neal CR, Pocock TM. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. *J Anat* 2002; 200(6): 581-97.
51. Nayer A, Ortega LM. Catastrophic antiphospholipid syndrome: a clinical review. *J Nephrothol* 2014; 3(1): 9-17.
52. Mubarak M, Nasri H. What nephrologists need to know about antiphospholipid syndrome-associated nephropathy: Is it time for formulating a classification for renal morphologic lesions? *J Nephrothol* 2014; 3(1): 4-8.
53. Kanada A, Hata F, Suthamratpong N, Maehara T, Ishii T, Takeuchi T, et al. Key roles of nitric oxide and cyclic GMP in nonadrenergic and noncholinergic inhibition in rat ileum. *Eur J Pharmacol* 1992; 216(2): 287-92.
54. Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Vitamin D therapy in diabetic kidney disease. *J Nephrothol* 2014; 3(1): 3-4.
55. Nasri H. Antiphospholipid syndrome-associated nephropathy: current concepts. *J Ren Inj Prev* 2012; 2(1): 1-2.
56. Baradaran A. Antiphospholipid syndrome-associated nephropathy; a nephropathy needs classification. *J Nephrothol* 2012; 1(1): 9-11.
57. Carotenuto A, De Feo V, Fattorusso E, Lanzotti V, Magno S, Cicala C. The flavonoids of *Allium ursinum*. *Phytochemistry* 1996; 41(2): 531-6.
58. Heidarian E, Rafieian-Kopaei M, Ashrafi K. The Effect of hydroalcoholic extract of *allium latifolium* on the liver phosphatidate phosphatase and serum lipid profile in hyperlipidemic rats. *J Babol Univ Med Sci* 2013; 15(4): 37-46. [In Persian].
59. Parsaei P, Karimi M, Asadi SY, Rafieian-Kopaei M. Bioactive components and preventive effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on post-laparotomy intra-abdominal adhesion in rats. *Int J Surg*. 2013; 11(9): 811-5.
60. Tavafi M. Diabetic nephropathy and antioxidants. *J Nephrothol* 2013; 2(1): 20-7.
61. Asadi SY, Parsaei P, Karimi M, Ezzati S, Zamiri A, Mohammadzadeh F, Rafieian-Kopaei M. Effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on healing process of surgical wounds in rat. *Int J Surg* 2013; 11(4): 332-7.

In-Vitro Evaluation of Hydroalcoholic Extract of *Allium Ampeloprasum* on Rat Ileum Contractions

Masoumeh Sedighi-Hafshejani MSc¹, Mosayyeb Noori-Ahmadabadi²,
Hamid Nasri MD³, Molok HadiMSc⁴, Mahmoud Rafieian-Kopaei PhD⁵

Original Article

Abstract

Background: Ampeloprasum is traditionally used for gastrointestinal disorders. In this experimental study, the effect of ethanolic extract of *Allium ampeloprasum* was investigated on the rat ileum contractions. The mechanisms were also evaluated.

Methods: In this experimental study, 48 male Wistar rats were randomly designated into six equal groups, including control and cumulative concentrations of *Allium ampeloprasum*, propranolol, naloxone, L-name, and CaCl₂. In the day of the experiment, the ileum was dissected and its contractions were recorded in Tyrode solution in an organ bath. To evaluate the mechanisms involved, propranolol, naloxone, or L-name was incubated and the percent of changes in contractions were recorded.

Findings: The extract of *Allium ampeloprasum* dose-dependently reduced the contractions induced by KCl (60 mM) ($P < 0.0001$); propranolol reversed this effect ($P < 0.0010$), but L-name and naloxone were not effective. CaCl₂ increased the contractions ($P < 0.0010$) and the extract reversed this effect.

Conclusion: *Allium ampeloprasum* leaves can affect the ileum contractions through beta adrenoreceptors and voltage-dependent calcium channels and might be used in gastrointestinal disorders.

Keywords: *Allium ampeloprasum*, Ileum, Beta-blockers

Citation: Sedighi-Hafshejani M, Noori-Ahmadabadi M, Nasri H, Hadi M, Rafieian-Kopaei M. **In-Vitro Evaluation of Hydroalcoholic Extract of *Allium Ampeloprasum* on Rat Ileum Contractions.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(268): 2238-49

1- Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

2- Student of Medicine, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

3- Professor, Department of Nephrology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Department of Statistics, School of Health, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

5- Professor, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: Mahmoud Rafieian-Kopaei PhD, Email: rafieian@yahoo.com