

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

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

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

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

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

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

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

Abstract

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

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

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

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

Keywords: *Anethum graveolens*, smooth muscle, airway

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

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

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

چکیده

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

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

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

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

واژه‌های کلیدی: شوید، عضله صاف، مجاری هوایی

مقدمه

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

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

E-mail: mahmood.abedinzade@gmail.com

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

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

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

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

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

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

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

مواد و روش‌ها

روش تهیه عصاره

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

حیوانات مورد آزمایش

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

روش انجام کار

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

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

آنالیز آماری

برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS 22 و آزمون Anova و توکی با سطح معنی داری $p < 0/05$ استفاده شد.

یافته‌ها و بحث

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

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

جدول شماره ۱: تاثیر دوزهای مختلف عصاره شوید بر انقباض عضله صاف نای موش صحرائی نر

گروه	درصد تغییرات قدرت انقباضی از ۱۰۰ (میانگین \pm انحراف استاندارد)
کنترل منفی	1 ± 99.133
کنترل مثبت	$1/5 \pm 63.59$
۰/۱ گرم عصاره	$1/5 \pm 99.133$
۱ گرم الیتر عصاره	$95/67 \pm 3$
۵ گرم الیتر عصاره	$73/3 \pm 3$

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

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

سپاسگزاری

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

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

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

References

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

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