# اثر عصاره آبی میوه فلفل سیاه (*Piper nigrum*) بر فعالیت انقباضی رحم موش صحرایی غیر حامله

*[1]دکتر محمد کاظم غریب ناصری، [2]هدا یحیاوی

## چکیده


### هدف

میوه فلفل سیاه (*Piper nigrum*) یکی از مواد تشکیل دهنده مهم و عمده ادویه خوراکی است و پیپرین فراوانترین ماده تشکیل دهنده آن است که ترشحات روده باریک و ترشحات صفراوی را افزایش داده ولی تخلیه معده و سرعت حرکت محتویات روده را در موش صحرایی و موش سوری کاهش می دهد. در طب سنتی دم کرده فلفل سیاه را جهت تسکین دردهای قاعدگی مصرف می کنند ولی تاکنون در این مورد تحقیق علمی انجام نشده است. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباضات رحم موش غیر حامله و تعیین مکانیسم های دخیل در این اثر می باشد.

### مواد و روش کار

عصاره آبی میوه فلفل سیاه در آب مقطر جوش تهیه شد و حلال محلول صاف شده تبخیر و پودر عصاره به دست آمد. رحم موشهای صحرایی (Wistar) بالغ غیر حامله جدا شد و در حمام بافت حاوی محلول دیژالون با جریان دائم هوا و تحت ۱ گرم کشش اولیه قرار داده شد و انقباضات آن به روش ایزومتریک ثبت شد.

### نتایج

غلظتهای تجمعی (۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ mg/ml) عصاره آبی میوه فلفل سیاه، انقباض رحم ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰ mM) و اکسی توسین (۱۰ mU/ml) را به صورت وابسته به غلظت کاهش داد ($p<۰/۰۰۰۱$). عملکرد مهاری عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم در حضور فنتولامین (۱ µM)، نالوکسون (۱ µM) و L-NAME (۱۰۰ µM) کاهش نیافت ولی در حضور پروپرانولول (۱ µM) این اثر مهاری کاهش یافت ($p<۰/۰۱$ تا $p<۰/۰۰۰۱$). در محلول دیژالون فاقد کلسیم و غلظت زیاد کلرورپتاسیم (۶۰mM)، عصاره (۰/۰۳۱۲، ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ mg/ml) انقباض ناشی از غلظتهای تجمعی کلرور کلسیم (۰/۱ تا ۰/۵ mM) را در رحم دپولاریزه شده به صورت وابسته به غلظت کاهش داد.

### نتیجه گیری

به نظر می رسد عملکرد مهاری عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض رحم با دخالت کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ انجام می شود. همچنین گیرنده های بتا-آدرنرژیک در این اثر دخالت دارند ولی گیرنده های آلفا-آدرنرژیک و اوپیوئیدها و نیز سنتز نیتریک اکساید در آن نقشی ندارند. نتایج تحقیق می تواند مصرف سنتی فلفل سیاه در تسکین دردهای قاعدگی را تایید کند.


**کلمات کلیدی:** میوه فلفل سیاه (*Piper nigrum*)، رحم، موش صحرایی، اثر ضد انقباضی.

۱- دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۶۱۱-۳۳۳۰۰۷۴ ، نمابر: ۰۶۱۱-۳۳۳۲۰۳۶، gharibnaseri_m@yahoo.com

۲- دانشجوی رشته مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز



Archive of SID

www.SID.ir

## مقدمه

فلفل سیاه گیاهی از خانواده پیپراسه (Piperaceae) است که دارای ساقه نیمه چوبی و ریشه ساقه خیز بوده و به کمک این ریشه های نابجا به درختان مجاور، به منظور زندگی همزیستی یا انگلی، به آنها اتصال پیدا می کند (۱). برگهای آن منفرد بیضوی و نوک تیز و گلهای آن مجتمع و به صورت سنبله به نام شاتون است (۱). میوه های آن کوچک و کروی به تعداد ۲۰ تا ۳۰ عدد بر روی محور گل آذین به وجود آمده که پس از رسیدن کامل به صورت خوشه ای از ساقه جدا می شوند. منشا فلفل کشور هندوستان بوده ولی امروزه در نواحی مختلف و مساعد از جمله هند، چین و کامبوج کشت آن گسترش یافته است. فلفل تحریک کننده و عطسه آور بوده و معمولاً به مقدار کم و به عنوان چاشنی اغذیه به کار می رود (۱). یکی از ترکیبات فلفل سیاه ماده پیپرین (piperine) است که ترکیبی آلکالوئیدی بوده و موجب طعم تند و سوزاننده فلفل می گردد (۱). پیپرین در موش سوری جنس ماده با جلوگیری از لانه گزینی سبب عقیم شدن این حیوان می شود ولی این خاصیت نتیجه اثرات ضد استروژنی و ضد پروژسترونی نمی باشد (۲). فلفل سیاه ترشح اسید در معده موش صحرایی را افزایش داده ولی این اثر کمتر از فلفل قرمز می باشد (۳) و پیپرین آن نیز همین اثر را دارد (۴) با این وجود پیپرین افزایش ترشحات روده باریک ناشی از روغن کرچک را در موش سوری کاهش می دهد (۵). علاوه بر این، پیپرین تخلیه معده و سرعت حرکت محتویات در دستگاه گوارش موش صحرایی و موش سوری مهار می کند (۶). فلفل سیاه ترشحات صفراوی را نیز افزایش می دهد (۷). همچنین ادویه مصرفی در رژیم غذایی که حاوی فلفل سیاه می باشد ضمن افزایش حجم صفرا و افزایش اسیدهای صفراوی موجب افزایش فعالیت آنزیمهای پانکراسی در موش صحرایی نیز می شود (۸). فلفل سیاه خاصیت آنتی اکسیدانی داشته (۹ و ۱۰) و اثرات استرس اکسیداتیو ناشی از رژیم پرچرب را در موش صحرایی کاهش می دهد و این اثر را در شرایط in vitro نیز نشان می دهد (۱۱). پیپرین دوره خواب و بیهوشی ناشی از فنوباربیتون را افزایش داده و به نظر می رسد این ماده از طریق مهار فعالیت آنزیم میکروزومال کبدی سبب افزایش دوره اثر فنوباربیتون می شود (۱۲). عصاره آبی فلفل سیاه و پیپرین، رشد سلولهای ملانوسیت موش سوری را تا ۳۰۰ برابر افزایش داده (۱۳) و خاصیت ضد التهابی دارد (۱۴). از دیگر خواص فلفل سیاه اثر ضد میکروبی (۱۵) و ضد موتاسیون آن است (۱۶). گزارش شده است که تزریق داخل صفاقی پیپرین در موش صحرایی دارای $LD_{50}$ برابر ۵۱۴ mg/kg می باشد (۱۷). علی رغم مطالبی که در بالا اشاره شد در مورد اثرات عصاره فلفل سیاه بر عضله صاف به طور کل، و عضله صاف رحم به طور خاص گزارشی ارائه نشده است. در طب سنتی، عقیده بر این است که دم کرده میوه فلفل سیاه موجب تسکین دردهای دوره ماهانه در خانمها می شود اما در این مورد سند علمی معتبری وجود ندارد. با توجه به این باور در بین بعضی از مردم و نیز این نکته که یکی از عوامل بروز دردهای قاعدگی انقباضات رحم می باشد (۱۸)، لذا هدف اصلی از اجرای این تحقیق، بررسی پایه ای در مورد اثر عصاره آبی فلفل سیاه بر انقباضات رحم جدا شده موش صحرایی ناشی از چند محرک شناخته شده با دو مکانیسم مختلف (از طریق غیر گیرنده مانند کلروریتاسیم و از طریق گیرنده مانند اکسی توسین) و نیز مطالعه مکانیسم دخیل در این امر می باشد.

## مواد و روش کار

**روش عصاره گیری:** دانه فلفل سیاه تازه از عطاری های معتبر شهر اهواز خریداری و پس از شناسایی توسط دکتر حیدری از گروه باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین اهواز، با آسیاب برقی پودر شد. عصاره گیری با روش دم کردن که منطبق با مصرف سنتی گیاه در این منطقه می‌باشد انجام شد. به این منظور ۱۰ گرم پودر فلفل سیاه به ۲۰۰ ml آب مقطر جوش اضافه شد و ضمن به هم زدن مخلوط، حرارت دادن به مدت ۱۵ دقیقه به آرامی ادامه یافت. سپس مخلوط در ظرف درپوش دار در دمای اتاق نگهداری شد تا سرد شود. مخلوط از پارچه توری عبور داده شد و محلول صاف شده به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ (۳۵۰۰rpm) شد. محلول بالایی، روی سطح شیشه گسترده شد تا در دمای اتاق، حلال تبخیر گردید و پودر عصاره با نسبت استخراج ۱۳٪ به دست آمد که تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.



Archive of SID

www.SID.ir

**حیوانات و آماده سازی بافت:** موشهای صحرایی ماده بالغ باکره جوان از نژاد Wistar (۲۴۰ تا ۳۲۰ گرم، ۳/۴± ۲۶۷) تهیه شده از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز در دمای ۲۰ تا ۲۴ °C و سیکل روشنایی ـ تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند در حالی که دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موشها با زدن ضربه به پشت گردن کشته شده و پس از باز کردن شکم، از بخش نزدیک به سرویکس شاخهای رحم، قطعه‌ای به طول حدود ۱۰ تا ۱۵ mm جدا نموده و بلافاصله با محلول سرد و اکسیژنه دیژالون شسته شد و سپس درون حمام بافت (۱۰ml) و بین دو قلاب استیل زنگ نزن قرار داده شد. قلاب تحتانی در ته حمام بافت ثابت بود و دیگری به وسیله نخ به ترانسدیوسر ایزومتریک (UF1 Harvard Transducer, UK) متصل شد. پاسخ انقباضی به وسیله دستگاه ثبات (Universal Harvard Osilloghraph, UK) بر روی کاغذ ثبت می‌شد. ترکیب محلول دیژالون ( ۲۹ °C ، pH ۷/۴) بر حسب mM شامل NaCl (۱۵۴)، KCl (۵/۶)، $CaCl_2$ (۰/۳)، $NaHCO_3$ (۱/۷)، $MgCl_2$ (۱/۴) و گلوکز (۵/۵۵) بود (۱۹) و جریان دائم حبابهای کوچک هوا از ته حمام برقرار بود. میزان کشش اولیه ۱ گرم و مدت دوره سازگاری ۶۰ دقیقه بود که طی این مدت، هر ۱۵ دقیقه محلول حمام بافت تعویض می‌شد. پس از سپری شدن دوره سازگاری، بافت به وسیله کلرورپتاسیم با غلظت ۶۰mM (۲۰ و ۲۱) منقبض شد و سپس در حالت کفه انقباض، غلظتهای مختلف عصاره به صورت تجمعی(۰/۱۲۵ تا ۲ mg/ml) به حمام بافت اضافه شد. اضافه کردن هر غلظت عصاره مشروط به رسیدن انقباض بافت به حالت کفه جدید بود. جهت بررسی دخالت گیرنده های آلفا و بتا- آدرنرژیک و اوپیوئیدی، ابتدا تاثیر مهاری غلظتهای مختلف عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم ثبت شد و بعد از شستشوی مکرر بافت، در حضور آنتاگونیستهای غیر انتخابی آلفا و بتا- آدرنرژیک و اوپیوئیدی، به ترتیب فنتولامین ۱ µM (۲۲) و پروپرانول ۱ µM (۲۳) و نالوکسون ۱µM (۲۴) به مدت ۳۰ دقیقه همان مراحل تکرار شد. جهت بررسی نقش احتمالی نیتریک اکساید پروتکل بالا در حضور ۲۰ دقیقه ماده L-NAME با غلظت ۱۰۰ µM (۲۵ و ۲۶) تکرار شد. به منظور بررسی نقش کانالهای کلسیم در عملکرد عصاره، ابتدا در محلول دیژالون فاقد کلسیم و دارای غلظت ۶۰ mM کلرورپتاسیم (۲۷ و ۲۸)، غلظتهای تجمعی کلرور کلسیم (۰/۱ ، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ mM) اضافه شد و منحنی پاسخ انقباضی ناشی از کلرورکلسیم ثبت شد. سپس همین مراحل در حضور غلظتهای عصاره (۰/۰۳۱۲، ۰/۰۶۲۵ ، ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ mg/ml) تکرار شد. در گروه موشهایی که با اکسی توسین مورد آزمایش قرار گرفتند، ۲۴ ساعت قبل از آزمایش، استرادیول والرات به میزان ۵ mg/kg (۱۹) به صورت زیر جلدی تزریق شد. در این گروه به دلیل بروز انقباضات ریتمیک رحم در حضور اکسی توسین و تداخل اثر مهار کنندگی عصاره با این انقباضات، ابتدا انقباض ناشی از اکسی توسین با غلظت ۱۰ mU/ml (۲۹ و ۳۰) ثبت می شد و بعد از شستشوی مکرر و ۱۵ دقیقه استراحت مراحل قبلی پس از ۳ دقیقه حضور یکی از غلظتهای عصاره (۰/۱۲۵ تا ۲ mg/ml) تکرار می شد.

تعداد موشهای استفاده شده در هر پروتکل، بین ۷ تا ۱۰ سر بوده که در متن نتایج و نیز در زیرنویس نمودارها به صورت (n) مشخص شده است. غلظتهای ذکر شده در متن، غلظت نهایی مواد درون حمام بافت می باشد و هر بافت فقط مورد تاثیر یکی از مواد مهار کننده و یا آنتاگونیست قرار می گرفت. کلیه نمکهای محلول دیژالون محصول شرکت مرک (آلمان) و پروپرانولول، L-NAME از شرکت سیگما (آمریکا)، فنتولامین از شرکت Novartis (آمریکا)، نالوکسون از شرکت تولیددارو (ایران)، اکسی توسین از شرکت مینو (ایران) و استرادیول والرات از شرکت ابوریحان (ایران) تهیه شدند.

**روشهای آماری:** انقباض بافت در پاسخ به هر یک از محرکها به تنهایی و در غیاب عصاره، به عنوان ۱۰۰٪ پاسخ تلقی شد و نیروی انقباضی در حضور غلظتهای مختلف عصاره به صورت درصد اندازه گیری و نتایج هر گروه به صورت mean ± SEM محاسبه شد. نتایج با استفاده از آزمونهای t-test (مقایسه دو میانگین) و ANOVA (رابطه غلظت و پاسخ) مقایسه شده و p کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان تفاوت معنی دار تلقی شد.



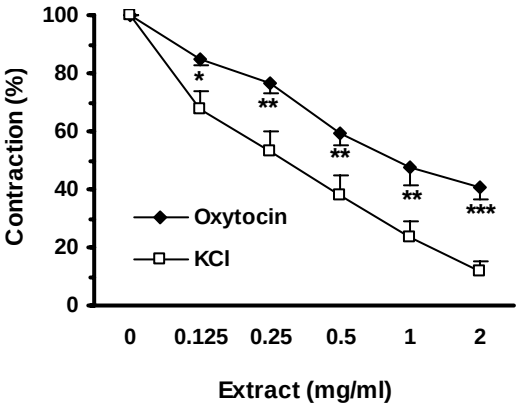
Archive of SID

www.SID.ir

## نتایج

### اثر عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم و اکسی توسین در رحم موش صحرایی

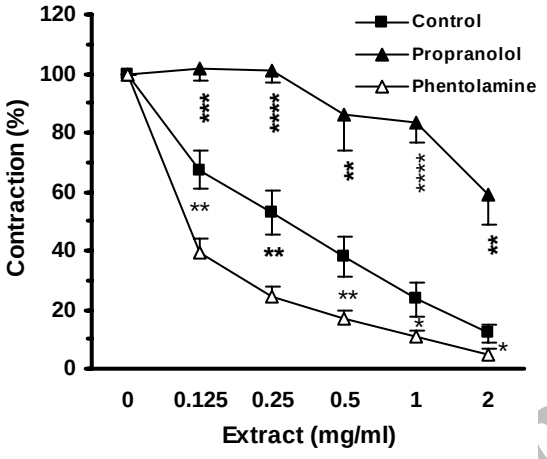
نمودار ۱ نشان می دهد که غلظتهای تجمعی عصاره آبی میوه فلفل سیاه (۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ mg/ml) انقباض رحم موش صحرایی ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) و اکسی توسین (۱۰ mU/ml) را به صورت وابسته به غلظت و معنی دار کاهش داده است (در هر دو $p<۰/۰۰۰۱$، تعداد به ترتیب ۱۰ و ۷). مقایسه اثر مهاری عصاره بر انقباض این دو عامل محرک نشان می دهد که اثر مهاری تمام غلظتهای عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم قوی تر بوده است ($p<۰/۰۵$ تا $p<۰/۰۰۱$).




نمودار ۱: مقایسه اثر ضد انقباضی غلظتهای مختلف عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰ mM) و اکسی توسین (۱۰ mU/ml) در رحم موش صحرایی. (n به ترتیب ۱۰ و ۸، $p<۰/۰۵$*، $p<۰/۰۱$** و $p<۰/۰۰۱$***).

### اثر عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض رحم ناشی از کلرور پتاسیم در حضور فنتولامین و یا پروپرانولول

غلظتهای تجمعی عصاره آبی میوه فلفل سیاه (۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ mg/ml) انقباض رحم ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰ mM) را در حضور فنتولامین نیز کاهش داد ($p<۰/۰۰۰۱$، n=۷). نمودار ۲ نشان می دهد که نه فقط حضور فنتولامین موجب کاهش اثر مهاری عصاره نشده بلکه در تمام غلظتهای عصاره، موجب تقویت این اثر نیز شده است. این نمودار همچنین نشان می دهد که حضور غلظت ۱ µM پروپرانولول (n=۸) به مدت ۳۰ دقیقه اثر مهاری غلظتهای تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰ mM) را در رحم موش صحرایی کاهش نداد، مقایسه اثرات مهاری عصاره در غیاب و در حضور پروپرانولول نشان می دهد تفاوت معنی داری ($p<۰/۰۱$ تا $p<۰/۰۰۰۱$) بین این دو حالت برای تمام غلظتهای عصاره وجود دارد. لازم به ذکر است هر بافت فقط مورد تاثیر یکی از این دو آنتاگونیست قرار گرفته است.



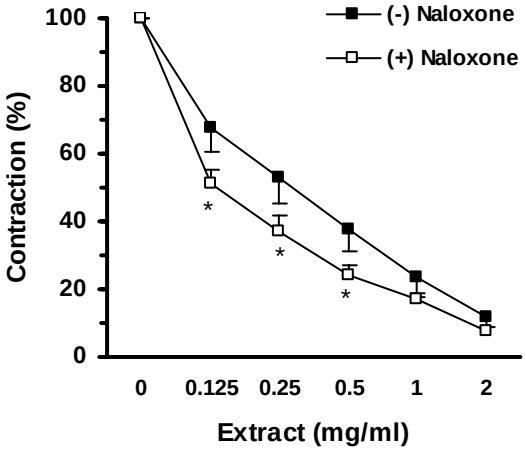

نمودار ۲: مقایسه اثر ضد انقباضی غلظتهای مختلف عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) در غیاب و پس از ۳۰ دقیقه حضور غلظتهای µM ۱ از آنتاگونیستهای آلفا- آدرنرژیک (فنتولامین) و بتا- آدرنرژیک (پروپرانولول). مقایسه اثر حضور آنتاگونیستها با نتایج کنترل (بدون حضور آنتاگونیستها) انجام شده (n به ترتیب ۱۰، ۸ و ۸ و $p<۰/۰۵$*، $p<۰/۰۱$**، $p<۰/۰۰۱$*** و $p<۰/۰۰۰۱$****).

### عملکرد مهاری عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض رحم ناشی از کلرور پتاسیم در حضور نالوکسون

حضور نالوکسون به عنوان آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده های اوپیوئیدی با غلظت µM ۱ به مدت ۳۰ دقیقه اثر مهاری غلظتهای تجمعی (۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ mg/ml) عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض رحم ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰ mM) را کاهش نداد. بلکه موجب تقویت این اثر مهاری شد. همان طوری که در نمودار ۳ مشاهده می شود، در غلظتهای ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ mg/ml این افزایش اثرات مهاری معنی دار هستند ($p<۰/۰۵$ و n=۷).



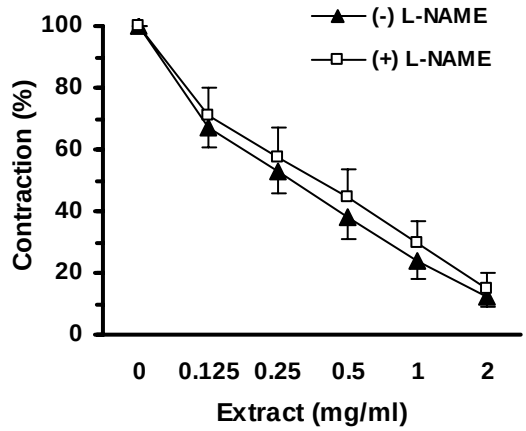
Archive of SID
www.SID.ir




نمودار ۳: مقایسه اثر ضد انقباضی عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) در غیاب و پس از ۳۰ دقیقه حضور نالوکسون (۱ μM). همان طوری که مشاهده می شود حضور نالوکسون موجب تقویت اثر ضد انقباضی عصاره در سه غلظت ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ mg/ml گردیده است (n به ترتیب ۱۰ و ۷ و ۰/۰۵>p*)

## اثر عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض رحم ناشی از کلرور پتاسیم در حضور L-NAME

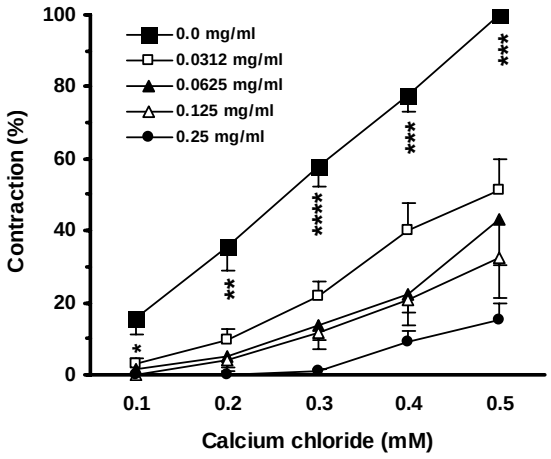
در نمودار ۴ دیده می شود که حضور ۲۰ دقیقه ماده L-NAME به عنوان مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سینتاز (۱۰۰ μM) عملکرد مهاری غلظتهای تجمعی (۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ mg/ml) عصاره آبی میوه فلفل سیاه را بر انقباض رحم ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰ mM) کاهش نداده است (n=۷).




نمودار ٤: مقایسه اثر ضد انقباضی عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ mM) در غیاب و پس از ۲۰ دقیقه حضور L-NAME (۱۰۰ μM). همان طوری که مشاهده می شود حضور این مهار کننده نیتریک اکساید سینتاز تأثیری بر عملکرد ضد انقباضی عصاره نداشته است (n =۷).

## اثر عصاره آبی میوه فلفل سیاه بر انقباض ناشی از کلرور کلسیم در رحم دپولاریزه شده توسط کلرورپتاسیم

نمودار ۵ نشان می دهد که رحم موش صحرایی در محلول دیژالون با کلرور پتاسیم بالا (۶۰mM) ولی فاقد کلسیم با غلظتهای تجمعی کلرور کلسیم (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ mM) به صورت وابسته به غلظت کلسیم منقبض شده است (p<۰/۰۰۰۱). تکرار همین مراحل در حضور (۳ دقیقه) غلظتهای مختلف عصاره آبی میوه فلفل سیاه (۰/۰۳۱۲، ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ mg/ml) موجب کاهش اثر انقباضی ناشی از کلرور کلسیم در رحم شده و این تاثیر وابسته به غلظت عصاره می باشد (۰/۰۵ > p تا p<۰/۰۰۰۱ و n=۹-۷).




نمودار ۵: مقایسه اثر انقباضی غلظتهای مختلف کلرور کلسیم بر رحم دپولاریزه شده توسط کلرورپتاسیم (۶۰ mM) در حضور ۳ دقیقه غلظت های مختلف عصاره آبی میوه فلفل سیاه. مقایسه آماری نتایج فقط در کمترین غلظت عصاره (۰/۰۳۱۲ mg/ml) انجام شده است (n=۹-۷ و ۰/۰۵>p*، ۰/۰۱>p**، ۰/۰۰۱>p*** و ۰/۰۰۰۱>p****).

## بحث و نتیجه گیری

تحقیق حاضر نشان داد که عصاره آبی میوه فلفل سیاه انقباض ناشی از دو محرک مستقل از گیرنده اختصاصی (کلرورپتاسیم) و وابسته به گیرنده (اکسی توسین) را کاهش داد و به نظر می رسد که این اثر با دخالت کانالهای کلسیم وابسته به ولتاژ بوده است. از نکات مهم تاثیر مهاری این عصاره ناپایداری آن بود به طوری که پس از شستشوی بافت



www.SID.ir

اثر مهاری از بین رفته و بافت رحم مجدداً آماده انقباض در پاسخ به حضور عامل محرک بود. این نکته نشان می دهد که عملکرد مهاری عصاره از طریق روندی که احتمالا در سطح سلول رخ می دهد بروز می کند. حضور کلرورپتاسیم با غلظت زیاد در محیط خارج سلولی از روشهای شناخته شده ایجاد دپولاریزاسیون و بروز انقباض در عضله صاف می باشد (۳۱ و ۳۲). دپولاریزاسیون ناشی از کلرورپتاسیم سبب فعال شدن کانالهای کلسیم وابسته به ولتاژ نوع L که وجود آن در عضله صاف رحم موش صحرایی به اثبات رسیده، می شود (۳۳ و ۳۴). فعال شدن گیرنده های اکسی توسین همچنین موجب فعال شدن کانالهای کلسیم وابسته به ولتاژ نوع L و افزایش ورود یون کلسیم از محیط خارج سلولی می شود و افزایش درون سلولی این یون موجب بروز انقباض می شود (۳۵). از طرف دیگر، اکسی توسین با فعال کردن فسفولیپاز C و سپس افزایش اینوزیتول تری فسفات، موجب رهایش کلسیم از منابع درون سلولی می شود که به نوبه خود سبب بروز انقباض می شود (۳۶ و ۳۷). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره آبی میوه فلفل سیاه به صورت وابسته به غلظت سبب کاهش انقباض ناشی از دو محرک کلرورپتاسیم و اکسی توسین شد. با توجه به اینکه این دو محرک وابسته و غیر وابسته به گیرنده، در افزایش کلسیم درون سلولی از طریق کانالهای کلسیم وابسته به ولتاژ مشترک هستند، لذا می توان پیشنهاد نمود که حداقل عصاره حاضر با غیر فعال کردن کانالهای کلسیمی سبب کاهش قدرت انقباض در این بافت شده است. علاوه براین پیشنهاد شده است عواملی که بتوانند انقباض ناشی از کلرورپتاسیم را در عضله صاف مهار نمایند، تاثیر خود را از طریق مسدود کردن کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L اعمال نموده اند (۳۸)، لذا می توان نتیجه گرفت که احتمالا اثر مهاری مشاهده شده در این تجربه نیز نتیجه انسداد این کانالها باشد. از طرف دیگر قدرت مهاری کمتر عصاره بر انقباض ناشی از اکسی توسین می تواند نتیجه آن باشد که عصاره از ورود کلسیم از کانالهای کلسیم ممانعت نموده ولی اثری بر رهایش کلسیم از منابع درون سلولی نداشته و لذا عملکرد مهاری عصاره بر انقباض ناشی از اکسی توسین کمتر بوده است. قابلیت شسته شدن اثرات مهاری عصاره و برگشت سریع قابلیت انقباض بافت نیز مؤید عدم ورود مواد مؤثره عصاره به درون سلول می باشد و لذا عصاره از عملکرد منابع درون سلولی کلسیم (مانند رتیکولوم سارکوپلاسمیک) در رهایش کلسیم جلوگیری نکرده است. سیستم آدرنرژیک از عوامل مهم تنظیم قابلیت انقباض در رحم می باشد (۳۹). در قسمت نتایج نشان داده شد که حضور فنتولامین حتی سبب تقویت عملکرد مهاری عصاره نیز گردیده است. احتمالی که در این مورد وجود دارد آن است که بقایای سیستم آلفا آدرنرژیک (با قابلیت بروز انقباض در رحم) در بافت جدا شده رحم هنوز وجود داشته و لذا عصاره با مهار تون اعصابی که نوروترانسمیتر آنها آگونیست گیرنده های آلفا آدرنرژیک می باشد، توانسته است علاوه بر اثر گذاری بر فعالیت کانالهای کلسیم موجب مهار این گیرنده ها شده و در نهایت حضور فنتولامین سبب تقویت تاثیر مهاری عصاره شده است. نتیجه کلی در این مورد آن است که عدم تاثیر حضور فنتولامین در تجربه حاضر نشان داد که گیرنده های آلفا آدرنرژیک در عملکرد مهاری عصاره نقشی نداشته اند. فعال شدن گیرنده های بتا آدرنرژیک سبب کاهش انقباض رحم می گردد (۳۹) و در این تجربه نیز مشاهده شد که عملکرد مهاری عصاره در حضور پروپرانولول به عنوان آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده های بتا- آدرنرژیک نشان می دهد که احتمالا بخشی از عملکرد مهاری عصاره از طریق فعال شدن این نوع گیرنده رخ داده است. همچنین گزارش شده است که ماده اصلی فلفل سیاه (پیپرین) سبب مهار آنزیم منوآمین اکسیداز (MAO) می شود (۴۰)، لذا ممکن است، پیپرین موجود در عصاره حاضر با ممانعت از تخریب کاته کولامین های درون زای بافت سبب افزایش فعالیت این مواد شده و دوره و شدت اثر این مواد را تقویت نموده و در نهایت موجب شلی در رحم شده است. در این مورد می توان به نتیجه حضور پروپرانولول اشاره نمود که سبب کاهش تاثیر مهاری عصاره شد. فعال شدن گیرنده های اوپیوئیدی سبب کاهش انقباض در رحم موش صحرایی می شود (۴۱)، لذا احتمال آن داده شد که عصاره حاوی موادی باشد که موجب فعال شدن گیرنده های اوپیوئیدی شده باشد ولی همان طوری که در بخش نتایج نشان داده شد، حضور نالوکسون نه فقط موجب



Archive of SID

www.SID.ir

کاهش عملکرد مهاری عصاره نشد بلکه سبب تقویت آن نیز شده است. این امر ممکن است نتیجه آن باشد که صرفا اثر عصاره در مرحله دوم استفاده، تشدید شده و این امر نتیجه دخالت و تاثیر نالوکسون نباشد. اما در هر صورت نالوکسون به عنوان آنتاگونیست غیر انتخابی این گیرنده ها نتوانست سبب کاهش اثر شل کنندگی عصاره گردد و لذا احتمال دخالت این گیرنده ها نیز رد می گردد. نیتریک اکساید (NO) نیز از طریق افزایش سنتز cGMP سبب شل شدن رحم در موش صحرایی می شود (۴۲). در تجربه حاضر حضور L-NAME اثری بر عملکرد مهاری عصاره نداشت و این نتیجه نیز عدم دخالت سنتز نیتریک اکساید را در بروز شلی رحم ناشی از عصاره فلفل سیاه نشان می دهد. در جهت تقویت فرضیه دخالت کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ، در این تجربه بافت رحم با غلظت زیاد کلرور پتاسیم دپولاریزه شد ولی فقدان کلسیم در این نوع محلول دیژالون موجب شد که انقباض بافت مشروط به اضافه کردن کلسیم به محیط باشد (۲۸). در بخش نتایج نشان داده شد که کلسیم به صورت وابسته به غلظت سبب انقباض بافت شد ولی حضور عصاره در محیط نیز به صورت وابسته به غلظت عملکرد انقباضی کلسیم را کاهش داد. با توجه به اینکه ورود کلسیم از خارج سلول، مسیر اصلی تأمین کلسیم پس از دپولاریزاسیون می باشد (۴۳)، لذا این نتیجه به خوبی نشان می دهد که عصاره از ورود کلسیم ممانعت کرده است. گزارش مبنی بر کاهش تخلیه معده و یا کاهش سرعت حرکات محتویات روده در موش صحرایی و موش سوری (۶) تا حدودی با عملکرد مهاری عصاره حاضر بر انقباض رحم همخوانی دارد. عدم وجود گزارش علمی درباره اثرات عصاره فلفل سیاه بر عضلات صاف جدا شده، مقایسه نتایج تحقیق حاضر را با سایر پژوهشها در این مورد غیر ممکن ساخته و لذا این تحقیق می تواند زمینه مناسبی از تحقیق در مورد یکی از مهمترین و عمده ترین مواد تشکیل دهنده ادویه خوراکی باشد. در این تحقیق از محلول دیژالون با دمای $29^{\circ}C$ استفاده شد تا با داشتن غلظت کمتر کلسیم و دمای پایین تر از دمای متعارف ($37^{\circ}C$) مانع از بروز انقباضات خود به خودی در بافت رحم شود (۴۴). در ضمن از هر شاخ رحم فقط یک قطعه از بخش نزدیک به سرویکس جدا شد زیرا نشان داده شده است بخشهای سرویکس و تخمدانی رحم از نظر حساسیت به مواد محرک دارای تفاوت عمل هستند (۳۱).

در نتیجه گیری کلی از این تحقیق می توان گفت که عصاره آبی میوه فلفل سیاه قسمت عمده اثر مهاری خود را بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم و اکسی توسین از طریق انسداد کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ اعمال می کند ولی مهار گیرنده های بتا- آدرنرژیک نیز در این عمل نیز مشارکت دارند. با توجه به اینکه دردهای قاعدگی نتیجه افزایش فعالیت انقباضی رحم، کاهش جریان خون و ایسکمی رحم می باشد (۱۸) لذا نتایج این تحقیق می تواند مؤید مصرف سنتی دم کرده فلفل سیاه در تسکین دردهای قاعدگی از طریق کاهش فعالیت انقباضی رحم در این دوره باشد.

## تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز اجرا شد که نویسندگان از دست اندرکاران آن مرکز تشکرنموده. همچنین از آقای دکتر مختار حیدری به خاطر شناسایی علمی میوه فلفل سیاه صمیمانه قدردانی می نمایند.

## References

۱. زرگری، ع. گیاهان دارویی، چاپ پنجم، جلد چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۷۲، ۳۰۶-۳۰۳.

2. Piyachaturawat P., Glinsukon T., Peugvicha P., 1982, Postcoital antifertility effect of piperine, Contraceptive, 26: 625-633.
3. Vasudevan K., Vembar S., Veeraraghavan K., Haranath P. S., 2000, Influence of intragastric perfusion of aqueous spice extracts on acid secretion in anesthetized albino rats, Indian J. Gastroenterol., 19: 53-56.
4. Ononiwu I. M., Ibeneme C. E., Ebong O. O., 2002, Effects of piperine on gastric acid secretion on albino rats, Afr. J. Med. Sci., 31: 293-295.



Archive of SID
www.SID.ir

5. Capasso R., Izzo A. A., Borrelli F., Russo A., Sautebin L., Pinto A., Capasso F., Mascolo N., 2002, Effect of piperine, the actiove ingredient of black pepper, on intestinal secretion in mice, Life Sci., 71: 2311-2317.
6. Bajad S., Bedi K. L., Singla A. K., Johri R. K., 2001, Piperine inhibits gastric emptying and gastrointestinal transit in rats and mice, Planta Med., 67: 176-179.
7. Ganesh Bhat B., Chandrasekhara N., 1987, Effect of black pepper and piperine on bile secretion and composition in rats, Nahrung., 31: 913-916.
8. Platel K., Rao A., Saraswathi G., Srinivasan K., 2002, Digestive stimulant action of three Indian spice mixes in experimental rats, Nahrung., 46: 394-398.
9. Gulcin I., 2005, The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. Int. J. Food Sci. Nutr., 56: 491-499.
10. Vijayakumar R. S., Surya D., Nalini N., 2004, Antioxidant efficacy of black pepper (*Piper nigrum* L.) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress, Redox. Rep., 9: 105-110.
11. Mittal R., Gupta R. L., 2000, In vitro antioxidant activity of piperine, Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol., 22: 271-274.
12. Mujumdar A. M., Dhuley J. N., Deshmukh V. K., Raman P. H., Thorat S. L., Naik S. R., 1990, Effect of piperine on pentobarbitone induced hypnosis in rats, Indian J. Exp. Biol., 28: 486-487.
13. Lin Z., Hoult J. R., Bennett D. C., Raman A., 1999, Stimulation of mouse melanocyte proliferation by Piper nigrum fruit extract and its main alkaloid, piperine, Planta Med., 65: 600-603.
14. Mujumdar A. M., Dhuley J. N., Deshmukh V. K., Raman P. H., Naik S. R., 1990, Anti-inflammatory activity of piperine, Indian J. Exp. Biol., 43: 95-100.
15. Dorman H. J., Deans S. G., 2000, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, J. Appl. Microbiol., 88: 308-316.
16. El Hamss R., Idaomar M., Alonso-Moraga A., Munoz Serrano A., 2003, Antimutagenic properties of bell and black peppers, Food Chem. Toxicol., 41: 41-47.
17. Piyachaturawat P., Glinsukon T., Toskulkao C., 1983, Acute and subacute toxicity of piperine in mice, rats and hamsters, Toxicol. Lett., 16: 351-359.
18. Akerlund M., 1979, Pathophysiology of dysmenorrheal, Acta Obstet. Gynaecol. Scand., 87: 27-32.
19. Ostad S. N., Soodi M., Shariffzadeh M., Khorshidi N., Marzban H., 2001, The effect of fennel essential oil on uterine contraction as a model for dysmenorrhea pharmacology and toxicology study, J. Ethnopharmacol., 76: 299-304.
20. Cantabrana B., Fernandez A., Baamonde A., Andres-Trelles F., Hidalgo A., 1991, Effects of some inhibitors of arachidonic acid metabolism in rat uterus in vitro, Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol., 13: 187-192.
21. Gutierrez M., Fernandez A. I., Revuelta M. P., Cantabrana B., Hidalgo A., 1998, Partial contribution of polyamines to the relaxant effect of 17 alpha-estradiol in rat uterine smooth muscle, Gen. Pharmacol., 30: 71-77.
22. Gonzalez E. T., Gimeno M. A., Gimeno A. L., 1988, A novel anti-lipolytic action of norepinephrine in uteri isolated from spayed rats appears subserved by the activation of alpha 1-adrenoceptors diminishing the generation and release of lipolytic prostaglandins, Prostag. Leukotr. Ess., 34: 101-108.
23. Velasco A., Alamo C., Hervas J., Carvajal A., 1997, Effects of fluoxetine hydrocholride and fluvoxamine maleate on different preparations of isolated guinea pig and rat organ tissues, Gen. Pharmacol., 28: 509-512.
24. Faletti A., Bassi D., Gimeno A. L., Gimeno M. A., 1992, Effects of beta-endorphin on spontaneous uterine contractions. Prostaglandins production and $^{45}Ca^{2+}$ uptake in uterine strips from ovariectomized rats, Prostag. Leukotr. Ess., 47: 29-33.
25. Andersson A,, Sundler F, Ekblad E., 2000, Expression and motor effects of secretin in small and large intestine of the rat, Peptides, 21: 1687-1694.
26. Dong Y. L., Fang L., Kondapaka S., Gangula P. R., Wimalawansa S. J., Yallampalli C., 1999, Involvement of calcitonin gene-related peptid in the modulation of human myometrial contractility during pregnancy, J. Clin. Invest., 104: 559-565.
27. Revuelta M. P., Cantabrana B., Hidalgo A., 1997, Transcriptional mechanisms involved in the relaxant effect of zeranol on isolated rat uterus, Gen. Pharmacol., 28: 561-565.
28. Burgos R. A., Aguila M. J., Santiesteban E. T., Sanchez N. S., Hancke J. L., 2001, Andrographis paniculata (Ness) induces relaxation of uterus by blocking voltage operated calcium channels and inhibits $Ca^{2+}$ influx, Phytother. Res., 15: 235-239.



Archive of SID
www.SID.ir

29. Oropeza M. V., Ponce-Monter H., Villanueva Tello T., Palma-Aguirre J. A., Campos M. G., 2002, Anatomical differences in uterine sensitivity to prostaglandin $F_{2\alpha}$ and serotonin in non-pregnant rats, Eur. J. Pharmacol., 446: 161-166.
30. Itthipanichpong C., Ruangrungsi N., Kemsri W., Sawasdipanich A., 2003, Antispasmodic effects of curcuminoids on isolated guinea-pig ileum and rat uterus, J. Med. Assoc. Thai., 86: S299-S309.
31. Oropeza M. V., Ponce-Monter H., Villanueva-Tello T., Palma-Aguirre J. A., Campos M. G., 2002, Anatomical differences in uterine sensitivity to prostaglandin $F_{2\alpha}$ and serotonin in non-pregnant rats, Eur. J. Pharmacol., 446: 161-166.
32. Cantabrana B., Fernandez A., Baamonde A., Andres-Trelles F., Hidalgo A., 1991, Effects of some inhibitors of arachidonic acid metabolism in rat uterus in vitro, Methods Find Exp. Clin. Pharmacol., 13: 187-192.
33. Tezuka N., Ali M., Chwalisz K., Garfield R. E., 1995, Changes in transcripts encoding calcium channel subunits of rat myometrium during pregnancy, Am. J. Physiol., 269: C1008–C1017.
34. Mershon J. L., Mikala G., Schwartz A., 1994, Changes in the expression of the L-type voltage-dependent calcium channel during pregnancy and parturition in the rat, Biol. Reprod. 51: 993–999.
35. Sanborn B. M., 2001, Hormones and calcium: mechanisms controlling uterine smooth muscle contractile activity, Exp. Physiol., 86: 223-237.
36. Wassdal I., Nicolaysen G., Iversen J. G., 1998, Bradykinin causes contraction in rat uterus through the same signal pathway as oxytocin, Acta Physiol. Scand., 164: 47-52.
37. Mhaouty-Kodja S., Houdeau E., Legrand C., 2004, Regulation of myometrial phospholipase C system and uterine contraction by β-adrenergic receptors in midpregnant rat, Biol. Reprod., 70: 570-576.
38. Gilani A. H., Aziz N., Khurram I. M., Chaud
39. hary K. S., Iqbal A., 2001, Bronchodilator, Spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses, J. Pak. Med. Assoc., 51: 115-120.
40. Ducza E., Gaspar R., Marki A., Gyula P., Bottka S., Falkay G., 2001, Use of antisense oligonucleotides to verify the role of the α1A-adrenergic receptor in the contractility of the rat uterus post partum, Mol. Pharmacol., 59: 1235-1242.
41. Lee S., Hung S. H., Han X. H., Hwang J. S., Oh G. J., Lee K. S., Lee M. K., Hwang B. Y., Ro J. R., 2005, Piperine from the fruits of Piper longum with inhibitory effect on monoamine oxidase and antidepressant-like activity, Chem. Pharm. Bull., 53: 832-835.
42. Ohia S. E., Laniyonu A. A, 1989, Naloxone-insensitive inhibitory and excitatory effects of opioid agonists in the rat isolated uterus, J. Pharm. Pharmacol., 41: 168-172.
43. Okawa T., Vedernikov Y. P., Saade G. R., Garfield R. E., 2004, Effect of nitric oxide on contractions of uterine and cervical tissues from pregnant rats, Gynecol. Endocrinol., 18: 186-193.
44. Karaki H., Ozaki H., Hori M., Mitsui-Saito M., Amano M. S., Harada K. I., Miyamoto S., Nakazawa H., Won K. J., Sato K., 1997, Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle, Pharmacol. Rev., 49: 157-230.
45. Kitazawa T., Kajiwara T., Kiuchi A., Hatakeyama H., Taneike T., 2001, Muscle layer- and region-dependent distributions of oxytocin receptors in the porcine myometrium, Peptides, 22: 963-974.

Archive of SID



www.SID.ir