

The Role of Muscarinic Receptors on spasmolytic Activity of Hydroalcoholic Extract of Parsley(*petroselinum crispum*)Seed in Adult Male Rat's Ileum

Raede Tavalae^{1*}, Ahmad Ali Moazedi², Mohammadkazem Gharib Naseri³, Mohammadreza Akhond⁴

1- MSc Student, Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2- Professor, Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

3- Professor, Department of Physiology, Ahvaz Jondishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Statistics, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received: 15 Feb 2016, Accepted: 1 Jun 2016

Abstract

Background: because of the side effects of chemical drugs, using plant drugs was considered during recent decades. Based on previous studies, various concentrations of plant extracts can reduce ileum contraction caused by KCl and carbachol. Therefore, in this study, the role of muscarinic receptors in anti-spasmolytic activity of hydroalcoholic extract of parsley(*petroselinum crispum*)seed in adult male rat's ileum was investigated.

Materials and Methods: The distal part of Wistar rat's ileum was separated and its contractions were recorded under 1 gr stretching and 37°C temperature in the bathroom containing the solution of Tyrode by Isotonic method. The ileum tissue was inserted in separately in first group affected by KCl and parsley seed, in the second group affected by KCl and carbachol with concentration 10⁻² mg/ml and after that parsley seed, the third group affected by carbachol with concentration 10⁻² mg/ml and then the extraction of parsley seed and the fourth group affected by scopolamine with concentration 10⁻³ M and after that KCl and then the extraction of parsley seed.

Results: Non-cumulative concentrations of extract reduced the ileum contraction caused by KCl (60mM) in a concentration-dependent form (p<0.001). There was a significant difference between the effect of extract in the presence of carbachol and extract concentration 0.2 mg/ml (p<0.01). There was no significant difference between the effect of extract in the presence of carbachol without stimulating tissue by KCl (60mM) with extract concentration 0.2mg/ml (p<0.05). There was no significant difference between the effect of extract in the presence of scopolamine with extract concentration 0.2mg/ml(p<0.05).

Conclusion: This study showed that the hydroalcoholic of parsley seed extract has a relaxatory effect on rat's ileum. Carbachol with KCl has a synergistic effect on smooth muscle contraction of the ileum wall and muscarinic receptors do not involve in the inhibitory function of parsley seed extract.

Keywords: Contraction, Ileum, Carbachol, Scopolamine

*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Email: Tavalvae1397raede@gmail.com

نقش گیرنده‌های موسکارینی در عملکرد ضداسپاسمی عصاره هیدروالکلی بذر جعفری در ایلئوم موش صحرایی نر بالغ

رائده تولائی^{۱*}، احمدعلی معاضدی^۲، محمد کاظم غریب ناصری^۳، محمدرضا آخوند^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- استاد، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.

۴- استادیار، گروه آمار، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: به علت اثرات جانبی زیان آور داروهای شیمیایی، استفاده از گیاهان دارویی در چند دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. بر اساس مطالعات پیشین، غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی قادر به کاهش انقباض ایلئوم ایجاد شده از طریق KCl و کارباکول می‌باشند. از این رو، در این مطالعه نقش گیرنده‌های موسکارینی در عملکرد ضد اسپاسمی عصاره هیدروالکلی بذر جعفری در ایلئوم موش صحرایی نر بالغ مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: بخش انتهایی ایلئوم موش صحرایی نژاد ویستار جدا شد و انقباضات آن تحت یک گرم کشش و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، در حمام بافت حاوی محلول تایرود به روش ایزوتونیک ثبت شد. بافت ایلئوم به صورت جداگانه در گروه اول تحت تأثیر KCl و سپس عصاره بذر جعفری، گروه دوم تحت تأثیر KCl و سپس کارباکول با غلظت^{-۲} ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و پس از آن عصاره بذر جعفری، گروه سوم تحت تأثیر کارباکول با غلظت^{-۲} ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سپس عصاره بذر جعفری، گروه چهارم تحت تأثیر اسکوپولامین با غلظت^{-۳} ۱۰ مولار، سپس KCl و پس از آن عصاره بذر جعفری قرار گرفتند.

یافته‌ها: غلظت‌های غیر تجمعی عصاره، انقباض ایلئوم ایجاد شده در اثر کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار) را به شکل وابسته به غلظت کاهش داد ($p < 0/01$). بین اثر عصاره در حضور کارباکول با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/01$). بین اثر عصاره در حضور کارباکول بدون تحریک بافت با کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار) با غلظت عصاره ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p < 0/05$). بین اثر عصاره در حضور اسکوپولامین با غلظت عصاره ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی بذر جعفری، اثر شل‌کنندگی در ایلئوم موش صحرایی دارد. کارباکول با کلرور پتاسیم اثر سینرژیک بر انقباض عضلات صاف دیواره ایلئوم دارد و گیرنده‌های موسکارینی دخالتی در عملکرد مهارى عصاره بذر جعفری ندارند.

واژگان کلیدی: انقباض، ایلئوم، کارباکول، اسکوپولامین

* نویسنده مسئول: ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، گروه زیست‌شناسی

Email: Tavalaeel367raede@gmail.com

مقدمه

برخی از گیاهان دارویی سنتی مانند جعفری برای درمان اختلالات روده‌ای در ایران به کار می‌روند (۱). بیماری‌های دستگاه گوارش از فراگیرترین بیماری‌هاست و تقریباً همه مردم با توجه به سن، نژاد و زمینه‌های اقتصادی-اجتماعی در معرض ابتلا به مشکلات گوارشی هستند. استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌های گوارشی در سر تا سر دنیا رایج می‌باشد (۲). حدود ۸۰ درصد از جمعیت جهان متکی به استفاده از طب سنتی هستند که عمدتاً در مواد گیاهی است (۳). جعفری گیاهی یک ساله است که در طب سنتی از آن برای درمان انواع خاصی از سرطان استفاده شده است (۴). جعفری دارای میزان بالایی از ویتامین‌ها (عمدتاً ویتامین C) و آنتی اکسیدان است (۵). هم‌چنین دارای بعضی مواد معدنی مانند آهن و بعضی روغن‌های سبک می‌باشد که نقش مهمی در صنعت دارویی دارد (۶). از خواص دارویی جعفری می‌توان به اثر ضد میکروبی، ضد کم خونی، ضد انعقاد خون، ضد چربی خون بالا و هم‌چنین قاعدگی آور اشاره کرد (۱).

نتایج حاصل از اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی بذر جعفری بر انقباض ایلئوم ناشی از KCl نشان داد که عصاره به صورت وابسته به غلظت، انقباضات را مهار می‌کند (۱). چندین مطالعه نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدان‌های فعالی هم‌چون فلاونوئیدها، کاروتنوئید، آسکوربیک اسید، توکوفرول و کومارین در جعفری وجود دارند (۷). نقش استیل کولین به عنوان تنظیم کننده عمده حرکت احشا به ویژه از طریق گیرنده‌های موسکارینی M_1 و M_3 به خوبی توصیف شده است (۸). گیرنده‌های موسکارینی دارای ۵ زیر واحد هستند که در سلول‌های عصبی و غیر عصبی وجود دارند و هر کدام به G پروتئین متفاوتی متصل می‌شوند که پاسخ داخل سلولی را مشخص می‌کند. گیرنده‌های M_1 و M_3 از مسیر فسفو اینوزیتول و گیرنده‌های M_2 و M_4 از مسیر آدنیلیل سیکلاز عمل می‌کنند (۹). در ارگان‌های مختلف از جمله دستگاه گوارش، برونشول‌های ریه، مثانه و رحم، انقباض عضله صاف به واسطه‌ی دو نوع گیرنده M_2 و

M_3 صورت می‌گیرد (۱۰). در راه‌های هوایی و عضله صاف روده، تحریک گیرنده M_2 می‌تواند موجب فعال شدن کانال غیرانتخابی کاتیونی شود که این امر باعث دیپلاریزاسیون کانال کلسیمی وابسته به ولتاژ شده و در نتیجه به انقباض کمک می‌کند که این اثر بستگی به فعال سازی هم‌زمان گیرنده M_3 دارد. گزارش شده است که آگونیست‌های گیرنده‌های موسکارینی مانند کارباکول موجب تحریک انقباض عضلات طولی و حلقوی در مری گربه شده که در این عملکرد گیرنده‌های M_3 نقش عمده‌ای دارند (۱۱). از این رو، در این تحقیق نقش گیرنده‌ی موسکارینی بر عملکرد ضد اسپاسمی عصاره مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

روش عصاره گیری

پودر بذر به نسبت ۱ گرم به ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت خیسانده و روزانه در چند نوبت به هم زده می‌شود. سپس مخلوط از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شده و محلول عصاره روی سطح شیشه پخش می‌شود تا حلال در دمای اتاق تبخیر شود. با تراشیدن عصاره خشک شده از روی شیشه، پودر عصاره به دست می‌آید که تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری می‌گردد. از پودر حاصل با حل کردن در محلول تایرود، غلظت‌های مختلف عصاره تهیه می‌شود (۱).

حیوانات و آماده سازی ایلئوم

موش‌های صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با محدوده وزنی 225 ± 25 گرم از مرکز تحقیقات، تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه شدند و در شرایط استاندارد دمایی و نوری (24 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی) با تهویه مناسب نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد مخصوص جوندگان داشتند. قفس‌هایی که موش‌ها در طول ۲۴ ساعت گرسنگی در آن نگهداری می‌شدند، قفس‌هایی مخصوص با کف توری بوده، به طوری که امکان دسترسی موش‌ها را به فضولات

کارباکول و اسکوپولامین از شرکت سیگمای آمریکا تهیه شده بودند. در این بخش از تحقیق، محلول تایرود حلال عصاره و کارباکول و آب مقطر حلال اسکوپولامین بود (۱۴). به منظور بررسی اثر غیر تجمعی غلظت های عصاره، پس از اطمینان از سلامت بافت طی ثبت پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم و شست و شوی ۱۵ دقیقه ای متعاقب آن، مجدداً کلرور پتاسیم با غلظت ۶۰ میلی مولار به حمام بافت اضافه گردید. سپس غلظت هایی از عصاره ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) در مراحل مختلف و به صورت جداگانه به حمام بافت اضافه شد. به طوری که پس از شست و شو و استراحت ۱۵ دقیقه ای بافت و افزودن کلرور پتاسیم، غلظت بعدی عصاره اضافه شد. در مرحله دیگر آزمایش، پس از سازگاری، ایلنوم از طریق کلرور پتاسیم ۶۰ میلی مولار دیپولاریزه و منقبض شد و هنگامی که انقباض به حالت کفه رسید غلظت 10^{-2} میلی گرم بر میلی لیتر کارباکول به حمام بافت اضافه شد (۱۲). پس از ثبت اثر منقبض کنندگی کارباکول بدون هیچ گونه شست و شو، غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره به حمام افزوده شد. هم چنین در مرحله جداگانه، کارباکول با غلظت 10^{-2} میلی گرم بر میلی لیتر بدون تحریک بافت توسط کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار) به حمام بافت اضافه گردید. پس از ثبت اثر منقبض کنندگی کارباکول بدون هیچ گونه شست و شو، غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره به حمام افزوده شد. در گام دیگر آزمایش، بافت ایلنوم به مدت ۳۰ دقیقه در معرض اسکوپولامین با غلظت 10^{-3} مولار قرار گرفت (۱۳). پس از تحریک بافت با کلرور پتاسیم ۶۰ میلی مولار، غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره به حمام بافت اضافه شد.

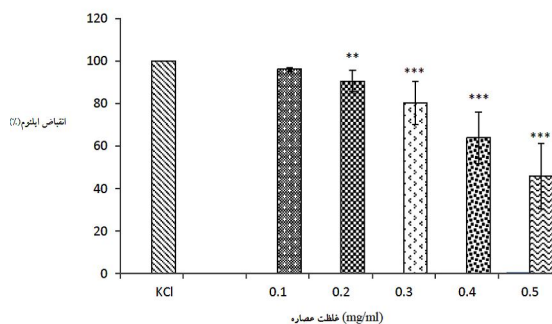
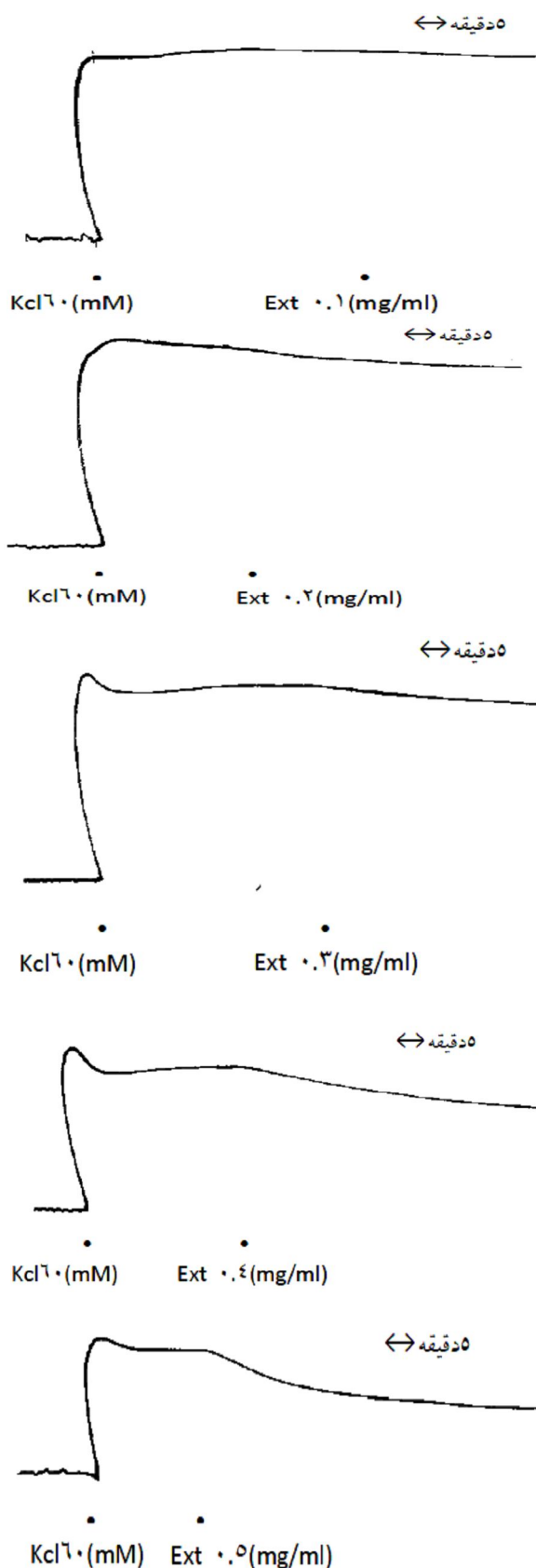
تحلیل آماری

نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ به طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به منظور تحلیل داده ها از آنالیز واریانس با اندازه گیری تکراری و تست تکمیلی LSD استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه گردیده است. سطح معنی داری برابر با $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

خود جهت استفاده مجدد غیر ممکن می ساخت. موش ها پس از گذراندن ۲۴ ساعت گرسنگی که دسترسی آزاد به آب داشتند، با اثر به طور خفیف بی هوش و سپس نخاعی شدند. پس از باز کردن شکم، قطعاتی به طول ۲ سانتی متر از بخش انتهایی ایلنوم جدا گردیده و بلافاصله در پتری که کف آن به وسیله پارافین جامد پوشیده شده و حاوی محلول فیزیولوژیک اکسیژنه سرد بود، قرار داده شد. لازم به ذکر است که محلول فیزیولوژیک سرد قبل از استفاده اکسیژنه می شد. داخل ایلنوم با محلول تایرود اکسیژنه سرد به آرامی شسته شد. سپس، در حمام بافت با حجم ۱۰ میلی لیتر و محتوی محلول تایرود (در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و $PH=7/4$) به طور عمودی بین دو قلاب استیل ضد زنگ قرار داده شد. تعداد موش های مورد استفاده در کل آزمایش ۱۶ عدد بود. از آن جایی که طول تقریبی ایلنوم ۸ سانتی متر می باشد، از ایلنوم هر موش ۴ قطعه ۲ سانتی متری جدا شد و برای هر آزمایش ۷ تکرار وجود داشت که از این ۷ تکرار میانگین گرفته شد. در گروه اول ۴۲ قطعه ایلنوم و در گروه های دوم و سوم، چهارم هر کدام ۷ قطعه ایلنوم مورد استفاده قرار گرفت. پروتکل روی بافت ایلنوم در ۴ مرحله انجام شد. در این مطالعه برای عصاره غلظت های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر (۱)، برای کارباکول غلظت 10^{-2} میلی گرم بر میلی لیتر (۱۲)، برای اسکوپولامین غلظت 10^{-3} مولار (۱۳) و برای کلرور پتاسیم غلظت ۶۰ میلی مولار (۱۰) مورد استفاده قرار گرفت. میزان کشش اولیه به بافت ۱ گرم بود. انقباضات ایزوتونیک با استفاده از دستگاه ثابت (ترانسدایوسر ایزوتونیک هاروارد) با سرعت کاغذ ۰/۱ میلی متر در ثانیه بر روی یک دستگاه اوسیلوگراف هاروارد ثبت گردید. برای هر آزمایش فقط یک بار بافت ایلنوم مورد استفاده قرار گرفت. محلول تایرود حمام دارای ترکیب زیر بر حسب میلی مولار بود: $NaCl$ (۱۳۶/۹)، $MgCl_2$ (۱/۰۵)، KCl (۲/۶۸)، $CaCl_2$ (۱/۸)، NaH_2PO_4 (۰/۴۲)، $NaHCO_3$ (۱۱/۹) و گلوکز (۵/۵۵) که در آب مقطر تهیه شد. کلیه نمک ها و گلوکز موجود در محلول تایرود از شرکت مرک آلمان و

یافته ها

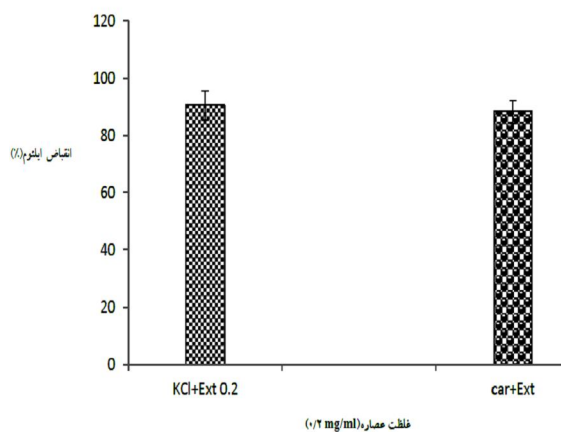
بررسی اثر غیر تجمعی عصاره آبی- الکی بذر جعفری بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار): به منظور بررسی اثر غیر تجمعی غلظت های عصاره، پس از اطمینان از سلامت بافت طی ثبت پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم و شست و شوی ۱۵ دقیقه ای متعاقب آن، مجدداً کلرور پتاسیم با غلظت ۶۰ میلی مولار به حمام بافت اضافه گردید. سپس غلظت های از عصاره (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) در مراحل مختلف به صورت جداگانه به حمام بافت اضافه شد، به طوری که پس از شست و شو و استراحت ۱۵ دقیقه ای بافت و افزودن کلرور پتاسیم، غلظت بعدی عصاره اضافه شد. مقایسه آماری تی تست نشان می دهد که تنها بین گروه کنترل و غلظت ۰/۱ عصاره اختلاف معنی داری وجود ندارد، در حالی که اختلاف معنی داری بین گروه کنترل و غلظت ۰/۲ (n=7, **p<0/01)، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵ و نیز مقادیر ۰/۳ (n=7, ***p<0/01) وجود دارد. انقباضات کلرور پتاسیم توسط غلظت های غیر تجمعی عصاره به صورت وابسته به غلظت کاهش یافته است (شکل های ۱ و ۲).



شکل ۱. اثر مهاری غلظت های غیر تجمعی عصاره بذر جعفری ناشی از کلرور پتاسیم ۶۰ میلی مولار در ایلئوم موش صحرائی که انقباض ایلئوم ایجاد شده در اثر KCl را به شکل وابسته به غلظت و به طور معنی داری کاهش داد (n=7, ***p<0/01، **p<0/01)

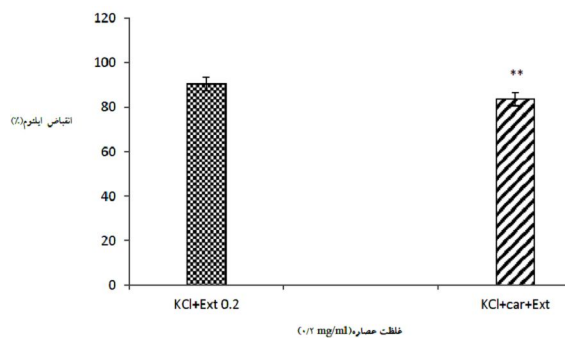
شکل ۲. ثبت حقیقی تأثیر غلظت های غیر تجمعی عصاره بذر جعفری بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار)

بررسی اثر عصاره بر انقباض ایلئوم ناشی از کارباکول (10^{-2} میلی گرم بر میلی لیتر): بعد از آماده سازی بافت، کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار) به حمام اضافه شد و پس از اطمینان از سلامت بافت و شست و شوی ۱۵ دقیقه‌ای، کارباکول با غلظت 10^{-2} میلی گرم بر میلی لیتر بدون تحریک بافت توسط KCl به حمام بافت اضافه گردید. پس از ثبت اثر منقبض کننده کارباکول بدون هیچ گونه شست و شو، غلظت $0/2$ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره به حمام افزوده شد. مقایسه آماری تی تست نشان می‌دهد که بین اثر عصاره در حضور کارباکول بدون تحریک بافت با KCl با غلظت غیر تجمعی $0/2$ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره پس از تحریک بافت با کلرور پتاسیم 60 میلی گرم بر میلی لیتر، اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p < 0/05$) (شکل های ۵ و ۶).

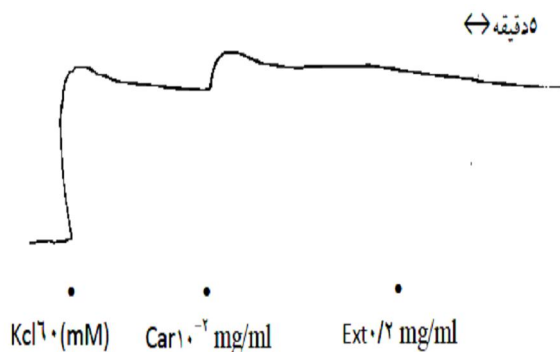


شکل ۵. اثر مهاري غلظت $0/2$ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره بذر جعفری بر انقباض ایلئوم ناشی از کارباکول (10^{-2} میلی گرم بر میلی لیتر) که نشان می‌دهد بین اثر عصاره در حضور کارباکول بدون تحریک بافت با KCl، با غلظت $0/2$ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره، اختلاف معنی داری وجود ندارد ($n=7$, $p < 0/05$)

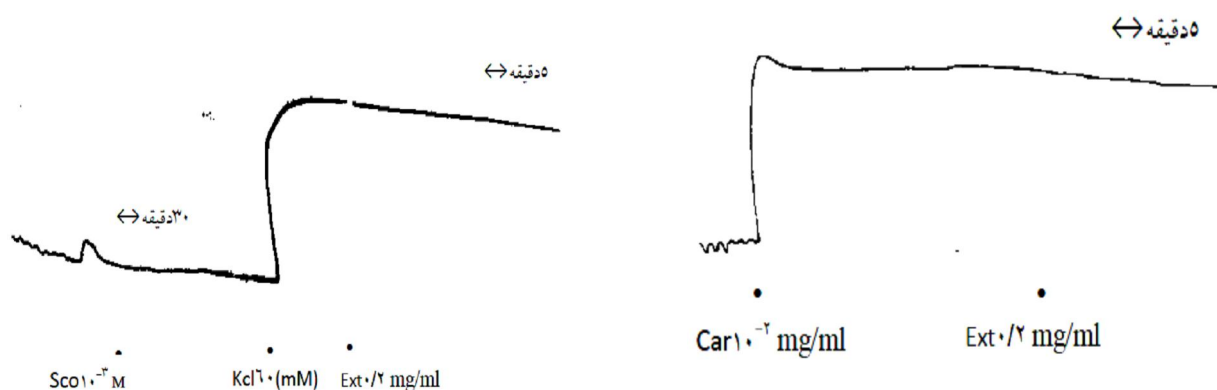
بررسی تداخل کارباکول و عصاره بذر جعفری بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار): جهت بررسی نقش کارباکول بر فعالیت شل کننده عصاره، یک غلظت از عصاره انتخاب و به حمام بافت حاوی کارباکول افزوده شد. در این مرحله از تحقیق، بافت ایزوله با کلرور پتاسیم 60 میلی مولار منقبض گردید و غلظت 10^{-2} میلی گرم بر میلی لیتر کارباکول به حمام بافت اضافه شد. پس از ثبت اثر منقبض کننده کارباکول بدون هیچ گونه شست و شو، غلظت $0/2$ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره به حمام افزوده شد. مقایسه آماری تی تست نشان می‌دهد که بین اثر عصاره در حضور کارباکول با غلظت غیر تجمعی $0/2$ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره پس از تحریک بافت با کلرور پتاسیم 60 میلی مولار، اختلاف معنی داری وجود دارد ($n=7$, $p < 0/01$) (شکل های ۳ و ۴).



شکل ۳. اثر مهاري غلظت $0/2$ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره بذر جعفری بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار) پس از قرار دادن بافت در معرض کارباکول که بین اثر عصاره در حضور کارباکول با غلظت $0/2$ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره، اختلاف معنی داری وجود دارد ($n=7$, $p < 0/01$)



شکل ۴. ثبت حقیقی اثر مهاري غلظت $0/2$ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره جعفری پس از افزودن غلظت 10^{-2} میلی گرم بر میلی لیتر کارباکول بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار)



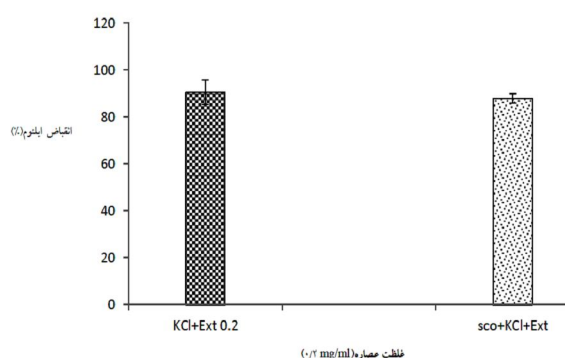
شکل ۶. ثبت حقیقی اثر مهاری غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره جعفری پس از افزودن غلظت ۱۰^{-۲} میلی گرم بر میلی لیتر کارباکول

شکل ۸. ثبت حقیقی اثر مهاری غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره جعفری در حضور اسکوپولامین (۱۰^{-۳} مولار) پیش از تحریک انقباض با کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار)

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اثر غلظت های مختلف عصاره آبی-الکلی بذر جعفری (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) بر دیپولاریزاسیون انقباض ایلئوم ناشی از KCl، باعث مهار انقباض به شکل وابسته به غلظت می شود. نتایج این مرحله با برخی از گزارشات هم خوانی دارد. در سال ۲۰۰۷ گزارش شده که عصاره هیدروالکلی بذر جعفری به صورت وابسته به مقدار، انقباض ناشی از کلرید پتاسیم را کاهش می دهد. با توجه به این که از جمله ترکیباتی که در جعفری وجود دارد فلاونوئیدها هستند، از این رو به نظر می رسد بخشی از این اثر مهاری به دلیل حضور این ترکیبات در آن باشد (۱). در مطالعه اثر فلاونوئیدها بر تون معده موش، مشخص شد که همه فلاونوئیدهای مورد آزمایش (اپیزین، کوئرستین و غیره) باعث شل شدگی معده می شوند (۱۵). در بررسی های قبلی روی مکانیسم های درگیر در فعالیت ضد اسپاسمی گیاه جعفری، در سال ۲۰۱۰ نشان داده شده که گیرنده های آلفا و بتا آدرنرژیک دخالتی در بروز اثرات شل کنندگی عصاره بذر جعفری بر انقباضات ناشی از KCl ایلئوم موش صحرائی نداشته اند (۳). در مدل های آزمایشگاهی، برای بررسی فعالیت های ضد انقباضی و یا مکانیسم عمل عصاره های گیاهی، عموماً از KCl برای ایجاد انقباض استفاده می شود (۱۶). کلرور پتاسیم محرک مناسبی جهت بررسی

بررسی نقش اسکوپولامین در اثر عصاره بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار): پس از اطمینان از سلامت بافت و شست و شوی ۱۵ دقیقه ای، بافت ایلئوم به مدت ۳۰ دقیقه در معرض اسکوپولامین با غلظت ۱۰^{-۳} مولار قرار گرفت. پس از تحریک بافت با کلرور پتاسیم ۶۰ میلی مولار، غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره به حمام بافت اضافه شد. مقایسه اثر عصاره در حضور اسکوپولامین با غلظت غیر تجمعی ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره به تنهایی اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد، یعنی میزان شل شدگی بافت در اثر عصاره با افزودن اسکوپولامین تغییر خاصی نمی کند (شکل های ۷ و ۸).



شکل ۷. اثر مهاری غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره بذر جعفری بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم (۶۰ میلی مولار) پس از قرار دادن بافت در معرض اسکوپولامین (۱۰^{-۳} مولار) به مدت ۳۰ دقیقه نشان می دهد که بین اثر عصاره در حضور اسکوپولامین با غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره، اختلاف معنی داری وجود ندارد (۰/۰۵ < p، n=۷)

صورت تجمعی استفاده شد تا حداکثر پاسخ انقباضی بافت مشاهده شود (۲۱).

در مطالعه سال ۲۰۱۵ مشخص شد که عصاره هیدروالکلی برگ سداب به صورت وابسته به غلظت دارای اثر شل کنندگی بر روی عضله صاف نای در موش صحرائی می باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره هیدروالکلی برگ سداب می تواند انقباض عضله صاف راه هوایی را که ناشی از حضور کارباکول (آگونیست کولینرژیک) و KCl بود، کاهش دهد. در میان ترکیبات فعال زیستی موجود در گیاه سداب فورانو کومارین ها (برگاپتن)، گزانتوکسین و فلاونوئیدها (کوئرستین و روتین) بیش از سایر ترکیبات مسئول اثرات شل کنندگی می باشند (۲۲). در سال ۲۰۱۳ گزارشی شد که عصاره اتانولی قسمت های هوایی گیاه *Solanum agrarium* دارای عملکرد ضد انقباضی در ایلئوم خوکچه هندی است که می تواند انقباض ناشی از حضور کارباکول، هیستامین و KCl را در ایلئوم کاهش دهد و این کار را با مهار کردن کانال های کلسیم وابسته به ولتاژ دریچه دار انجام می دهد. عملکرد ضد انقباضی این گیاه به خاطر فلاونوئید میریستیسین موجود در آن می باشد (۲۳). با توجه به وجود این ترکیبات در عصاره بذریه جعفری اثرات مشاهده شده در این کار تحقیقی را می توان به وجود این گونه ترکیبات نسبت داد. در گام دیگر آزمایش پیش از تحریک بافت ایزوله ایلئومی با محرک کلرور پتاسیم، بافت به مدت ۳۰ دقیقه در معرض اسکوپولامین قرار گرفت و پس از به کفه رسیدن انقباض ناشی از کلرور پتاسیم غلظت منتخبی از عصاره بذریه جعفری اضافه شد که اختلاف معنی داری با غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره نداشت. در همین رابطه گزارشاتی در خصوص اثر آنتاگونیست های سیستم کولینرژیک وجود دارد؛ از جمله عصاره آبی برگ *Solanum aethiopicum* به صورت وابسته به دوز باعث انقباضات ایلئوم در خوکچه هندی می شود و آتروپین (آنتاگونیست کولینرژیک) می تواند به صورت وابسته به غلظت این پاسخ را مهار کند (۲۴). آتروپین (۱۰۰ میکرومولار) باعث انسداد پاسخ انقباضی استیل کولین (۱۰۰

فعالیت عضله صاف با تکرارپذیری بسیار بالاست که اغلب به عنوان ابزاری جهت تحریک عضله صاف استفاده شده و با مکانیسمی نسبتا ساده که متشکل از تغییر تعادل پتاسیم و بالاتر نگهداشتن پتانسیل غشا نسبت به حالت استراحت است، در مطالعات فیزیولوژی استفاده می شود (۱۷). در انقباضات حاصل از KCl، کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ دخیل هستند و وجود نوع L این نوع کانال های کلسیمی در عضلات صاف ایلئوم موش صحرائی به اثبات رسیده است (۱۸). انقباض ایلئوم ناشی از KCl، اثر مستقیمی بر عضله صاف ایلئوم دارد. غلظت های بالای KCl که به صورت خارج سلولی افزوده شد، منجر به دپلاریزاسیون سلولی و در نتیجه فعال سازی کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ و ورود کلسیم به درون عضله صاف می گردد (۱۹). بر این اساس ترکیبات موجود در عصاره بذریه جعفری احتمالا از طریق مهار این کانال ها و ممانعت از جریان کلسیم، سبب مهار انقباضات ناشی از KCl می شوند.

در ادامه ی این کار تحقیقی، جهت بررسی تداخل کارباکول و عصاره بذریه جعفری بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم پس از انقباض بافت با کلرور پتاسیم، غلظت منتخبی از کارباکول و سپس عصاره به حمام بافت اضافه گردید که اختلاف معنی داری با غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره داشت. هم چنین در مرحله ای جداگانه، کارباکول بدون تحریک بافت با کلرور پتاسیم به حمام بافت اضافه گردید، سپس غلظت منتخبی از عصاره به حمام افزوده شد که اختلاف معنی داری با غلظت ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره نداشت. در آزمایشی که در سال ۲۰۱۱ انجام شد، کارباکول در غلظت بین 10^{-6} و 10^{-7} مول بر لیتر باعث انقباض ایزومتریک عضله صاف در روده موش صحرائی شد که به صورت وابسته به غلظت بود (۲۱). هم چنین در سال ۲۰۱۱، مطالعات فارماکولوژیک در زمینه فعالیت ذاتی سه داروی متاکولین، استیل کولین و کارباکول در آماده سازی ایلئوم جدا شده رت انجام شده که در این آزمایش از غلظت های 10^{-5} تا 10^{-8} مولار کارباکول به

(parsley) leaf on adult male rat ileum]. Journal of Kashan University of Medical Sciences 2013; 546-552.

3. Mirzaie Damabi N, Moazedi AA, Seyyednejad SM. [The role of α - and β - adrenergic receptor in the spasmolytic effects on rat ileum of *Petroselinum crispum* Latifolium(parsley)]. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 2010; 866-870.

4. Plazonic A, Mornar A, Males Z, Kujundzic N. Phenolic Content and Antioxidant Activities of Burr Parsley (*Caucalis platycarpos* L). International Journal of Plant Production 2013; 18: 8666-8681.

5. Hashim AL, Ahmed Al-Mzaeni K, Murad Hussein Sh. The Promising Anticancer Efficacy of Parsley Seeds Flavonoid (Apigenin) in Induced Mammary Adenocarcinoma (AMN3) Mice. Journal of Physiological and Biomedical Sciences 2012; 25(1): 5-12.

6. Najla S, Sanoubar R, Murshed R. Morphological and biochemical changes in two parsley varieties upon water stress. Physiology Molecular Biological of Plants 2012; 18(2):133-139.

7. Haidaria F, Keshavarzb SA, Mohammad Shahia M, Mahboobc SA, Rashidid MR. Effects of Parsley (*Petroselinum crispum*) and its Flavonol Constituents, Kaempferol and Quercetin, on Serum Uric Acid Levels, Biomarkers of Oxidative Stress and Liver Xanthine Oxidoreductase Aactivity in Oxonate-Induced Hyperuricemic Rats. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2011; 10(4): 811-819.

8. Hansen MB. "Neurohumoral Control of Gastrointestinal Motility", Physiological Research 2003; Vol 52: 1-30.

9. Harrington AM, Peck CJ, E Burcher LL, Hutson JM, Southwell BR. Localization of muscarinic receptors M1R, M2R and M3R in the human colon. Neurogastroenterology & Motility 2010; 22,999-e263 .

10. Shah N, Khurana S, Cheng K, Raufman JP. Muscarinic receptors and ligands in cancer. American Journal Physiology Cell Physiology 2009; 296: C221-C232.

11. Preiksaitis HG, Krysiak PS, Chrones T, Rajgopal V, Laurier LG. Pharmacological and Molecular Characterization of Muscarinic Receptor Subtypes in Human Esophageal

میکرومولار) در راست روده و کولون موش نوزاد و بالغ می شود که این انقباضات کولینرژیک به وسیله فعال شدن گیرنده های موسکارینی صورت می گیرد. اثر مسدود شدن ناشی از آتروپین در نوزاد انسان نیز گزارش شده است (۲۵). در آزمایشی که صورت گرفته استیل کولین، بتانکول، کارباکول و پیلوکارپین به صورت وابسته به غلظت باعث انقباضات تونیک در لایه عضلانی طولی و حلقوی جدا شده معده انسان می شوند. آتروپین، تری هگزری فنیدیل، پیرنزیپین، تلنزیپین و اسکوپولامین موجب مسدود شدن انقباضات تونیک ناشی از استیل کولین در هر دو لایه عضلانی طولی و حلقوی می شوند. نتایج نشان می دهند که M_1 ، گیرنده موسکارینی غالب در عضله صاف معده انسان است (۲۶).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد کارباکول با کلرور پتاسیم اثر سینرژسم دارد و هیچ گونه تداخلی با اثر مهارتی عصاره ندارد. هم چنین عدم کاهش اثر عصاره جعفری در حضور آنتاگونیست گیرنده موسکارینی بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم نشان می دهد که گیرنده های موسکارینی در فعالیت ضد اسپاسمی عصاره هیدرو الکلی بذر جعفری دخالتی ندارند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله محققان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به منظور تامین هزینه های این کار پژوهشی کمال تشکر و قدردانی را به عمل می آورند.

منابع

1. Moazedi AA, Mirzaie N , Seyyednejad SM ,Zadkarami MR, Amirzargar A. [Spasmolytic effects of *Petroselinum crispum* (parsley) on rat ileum at different calcium chloride concentrations]. Pakistan Journal of Biological Sciences 2007; 10(22):4036-4042.
2. Govahi A, Moazedi AA, Seyyednejad S M, Poormehdi-Broojeni M. [The role of β -adrenergic receptors in the antispasmodic effect of flavonoid from *Petroselinum crispum*

- Smooth Muscle. The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics 2000; 295:879-888.
12. Morales MA, Ahumada F, Castillo E, Burgos R, Christen Ph, Bustos V. Inhibition of Cholinergic Contractions of Rat Ileum by Tropane-Type Alkaloids Present in *Schizanthus hookeri*. Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung, Tubingen 2013; 68 c, 203 - 209.
13. Phillips JK, Hickey H, Hill CE. Heterogeneity in mechanisms underlying vasodilatory responses in small arteries of the rat hepatic mesentery. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 2000; 83: 159-170.
14. Eliades L, Erlandson M, Ruiz A. Effects of Hibernation on the Enteric Nervous System of the Thirteen-lined Ground Squirrels. *UW-L Journal of Undergraduate Research XVII* 2014; 1-6.
15. Amira S, Rotondo A, Mule F. Relaxant effects of flavonoids on the mouse isolated stomach: structure-activity relationships. *European Journal of Pharmacology* 2008; 599: 126-130.
16. Ventura-Martinez R, Rivero-Osorno O, Gomez C, Gonzalez-Trujano ME. Spasmolytic activity of *Rosmarinus officinalis* L. involves calcium channels in the guinea pig ileum. *Journal of ethnopharmacology* 2011; 137(3):1528-32.
17. Colovic MB, Krstic DZ, Lazarevic-Pasti T, Bondzic A, Vasic V. *Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology*. Bentham Science Publishers 2013; 11, 315-335.
18. Gharib Naseri MK, Gharib Naseri Z, Mohammadian M, Birgani MO. [Ileal relaxation induced by *Mentha longifolia* (L.) leaf extract in rat]. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2008; Vol.11, pp.1594-1599.
19. Sadraei H, Ghannadi A, Malekshahi K. [Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contraction]. *Fitotarapia* 2003; Vol. 74. pp.445-452.
20. Glaza I, Szadujkis-Szadurski L, Szadujkis-Szadurski R, Gajdus M, Olkowska J. Modulating activity of M1 receptor to the reaction of ileal smooth muscle. *Postepy Hig Med Dosw* 2011; 65: 478-481.
21. Aziba P, Sokan JO, Ifedayo O, Kasim LS. The pharmacological studies on intrinsic activities of acetylcholine, methacholine, and carbachol (Homologous Drugs) on isolated rat ileum preparation. *Journal of Medicine and Medical Science* 2011; Vol. 2(8) pp. 1047-1049.
22. Aguila L, Ruedlinger J, Mansilla K, Ordenes J, Salvatici R, Campos R, et al. Relaxant effects of a hydroalcoholic extract of *Ruta graveolens* on isolated rat tracheal rings. *Biological Research* 2015; 1-6.
23. Carvalho AC, Macedo C, Monteiro F, Oliveira G, Santos R, Nascimento R, et al. Aerial parts of *Solanum agrarium* Sendtn. (Solanaceae) present the flavonoid myricetin 3,7,3' trimethyl ether and antispasmodic effect on guinea-pig ileum by blockade of voltage-gated calcium channels. *Journal of Medicinal Plants Research* 2013; 7(31): 2293-2299.
24. Saba AB, Dina OA, Adedapo AA, Akhiromed IO. Effect of Aqueous Leaf Extract of *Solanum Aethiopicum* On Isolated Guinea Pigileum. *African Journal of Biomedical Research* 2003; Vol. 6; 146 - 147.
25. Singh S, Mandal MB. In Vitro Study Acetylcholine and Histamine Induced Contractions In Colon and Rectum of Adult and Neonate Rats. *Indian Journal Physiology Pharmacology* 2013; 57(2) : 104-113.
26. Jankovic SM, Beleslin DB. Muscarinic Receptor Subtype In Smooth Muscle From The Body Of Humane Stomach. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran* 1996; 137-143.