[Article in Persian] Physiology and Pharmacology Vol. 10, Summer 2006, 99-105.

Spasmolytic effect of *Anethum graveolens* (dill) fruit extract on rat ileum

Mohammad Kazem Gharib Naseri[1]* and Akbar Haeidari[2]

[1]Physiology Research Center, Ahwaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahwaz, I.R. Iran.
[2]School of Pharmacy, Ahwaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahwaz, I.R. Iran.

Abstract

Introduction: Dill (*Anethum graveolens*), a herb from from Umbelliferae, is used traditionally to treat convulsion and increasing milk production. Its antimicrobial, antihyperlipidaemic, anti-hypercholesteroaemic effects and gastric acid secretion reducing effect have been reported. The spasmolytic effect of dill fruit on rat uterus has also been shown recently. The aim of present study was to investigate the effects of dill fruit hydroalcoholic (DFHE) extract on rat ileum contractions induced by KCl (60mM), acetylcholine (1μM) and $BaCl_2$ (4mM).

Methods: Dill fruit was extracted by 70 % alcohol for 72 h and macerated method was used. Male Wistar rats were killed by a blow to head and pieces of end portion of ileum (2 cm) were dissected out and washed with cooled oxygenated Tyrode's solution. Ileum was mounted in an isolated organ bath containing Tyrode solution (37 ºC) bubbled by air. An isotonic transducer was used to record contractile responses under 0.5g initial tension.

Results: The cumulative concentrations of DFHE (0.5, 1, 2, and 4 mg/ml) relaxed the KCl- , acetylcholine- and $BaCl_2$-induced contractions dose-dependently (n=8, $p<0.0001$). This spasmolytic effect of extract (at all concentrations) on $BaCl_2$-induced contraction was more potent than on the acetylcholine-induced contraction. In addition, the antispasmodic effect of DFHE was reversible after washing the organ bath. The inhibitory effect of extract (1mg/ml) on contraction induced by KCl was unaffected neither by phentolamine (1 μM, for 30 min), propranolol (1 μM, for 30 min) nor naloxone (1 μM, for 30 min). L-NAME (100 μM, for 20 min) was also ineffective in this respect. In Ca^{2+}-free, rich K^+ (120 mM) Tyrode solution, cumulative adding of calcium (0.225. 0.45, 0.9, 1.8 and 3.6 mM), increased contractions dose dependently ($p<0.0001$). DFHE (1 mg/ml) shifted this dose-response curve to the right ($p<0.0001$).

Conclusion: These results suggest that the relaxatory effect of DFHE on ileum contractions is due to the blockade of voltage dependent calcium channels. In addition, the α- and β-adrenoceptors, opioid receptors and NO production are not involved in this inhibitory effect of DFHE.

Keywords: *Anethum graveolens*, Rat, Ileum, Voltage-dependent calcium channels

* Corresponding Author Email: gharibnaseri_m@yahoo.com

فیزیولوژی و فارماکولوژی
جلد ۱۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۵

اثر ضد اسپاسم عصاره میوه شوید *(Anethum graveolens)* بر ایلئوم موش صحرایی

محمد کاظم غریب ناصری[۱*]، اکبر حیدری[۲]
۱- گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز.
۲- دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز.

دریافت: مهر ۱۳۸۴ بازبینی: فروردین ۱۳۸۵ پذیرش: مرداد ۱۳۸۵

چکیده

زمینه و هدف: گیاه شوید (*Anethum graveolens*) از تیره جعفری (Umbelliferae) بوده و اثرات ضد نفخ، ضد اسپاسم، ضد تشنج، اثر کاهنده اسید معده و نیز اثر ضد انقباضی آن بر رحم موش صحرایی تاکنون گزارش شده است. هدف این تحقیق، بررسی اثر عصاره آبی الکلی میوه شوید بر انقباضات ایلئوم ناشی از بعضی از محرکهای شناخته شده و مطالعه مکانیسم آن می‌باشد.

روش ها: عصاره میوه شوید با الکل ۷۰ ٪ و با روش خیساندن تهیه شد. ایلئوم موشهای بالغ نر در حمام بافت حاوی محلـــــول تایرود (۳۷ °C) قرار داده و انقباضات ناشی از کلرورپتاسیم و استیل‌کولین و کلروباریم به روش ایزوتونیک ثبت شد.

یافته ها: نتایج نشان می‌دهند که عصاره میوه شوید (۰/۵، ۱، ۲ و ۴mg/ml) به صورت وابسته به غلظت، انقباضات ایلئوم ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰mM) واستیل‌کولین (۱μM) و کلروباریم (۴mM) کاهش می‌دهد (P< ۰/۰۰۰۱). اثر مهاری عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم تحت تأثیر حضور آنتاگونیست رسپتورهای آلفا ـ آدرنرژیک (فنتولامین ۱μM)، آنتاگونیست رسپتورهای بتا ـ آدرنرژیک (پروپرانولول ۱μM) و آنتاگونیست رسپتورهای اوپیوئیدی (نالوکسون ۱μM) قرار نگرفت. از طرف دیگر مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (L-NAME ، ۱۰۰μM) مانع از بروز اثر مهاری عصاره نشد. همچنین اثر انقباضی کلسیم بر ایلئوم دپولاریزه شده ناشی از کلرورپتاسیم (۱۲۰mM) در حضور عصاره کاهش یافت (P< ۰/۰۰۰۱).

نتیجه گیری: بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان پیشنهاد نمود که عصاره آبی الکلی میوه شوید احتمالاً با انسداد کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ، اثر مهاری خود را اعمال کرده و رسپتورهای آلفا ـ و بتا ـ آدرنرژیک، اوپیوئیدی و نیز نیتریک اکساید در این امر دخالتی ندارند. همچنین عملکرد مهاری عصاره وابسته به حضور کلسیم در محیط می‌باشد.

واژه‌های کلیدی : میوه شوید، ایلئوم، موش صحرایی، کانالهای کلسیم وابسته به ولتاژ.

مقدمه

شوید گیاهی یکساله به ارتفاع ۳۰ cm تا یک متر و دارای ریشه راست، مخروطی شکل است که از جمله در ایران، قفقاز، اتیوپی، مصر و اروپای جنوبی به صورت وحشی و پرورشی می‌روید. برگهای متناوب بی‌کرک با پهنک منقسم به بریدگیهای نازک و نخی شکل و گلهایی کوچک و به رنگ زرد دارد. میوه آن بیضوی، مسطح، بطول ۳ تا ۴ میلیمتر، به عرض ۳ میلیمتر و به رنگ قهوه‌ای شکلاتی روشن بوده و در سطح آن برجستگیهایی نخی شکل به رنگ مایل به زرد و در کناره‌های آن لبه بال مانند به رنگ زرد روشن دیده می‌شود [۲]. شوید عـــــلاوه بر اینکه در غالب نقاط ایران پرورش داده می‌شود، در نواحی مختلف ایران مانند سائین قلعه، تبریز، خراسان، تفرش به حالت خود رو و نیمه خودرو نیز یـــــافت می‌شود [۲].

اسانس میوه شوید که ۳ تا ۴ درصد میوه شوید را تشکیل می‌دهد سرشار از d-carvone, dihydrocarvone, carveol, limonene, d-hydrocarveol, carvacrol thymol می‌باشد [۱۷]. اخیراً نیز وجود فلاوونولها در شوید گزارش شده است [۱۲]. میوه شوید دارای اثر درمانی مشابه انیس سبز و زیره سیاه بوده، اثر مقوی معده، هضم کننده غذا، ضد نفخ، مدر، ضد تشنج، رفع استفراغ داشته و تأثیر آن در افزایش شیر قطعی است. از برگ و میوه شوید به عنوان چاشنی و معطر کردن غذا

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبات:
gharibnaseri_m@yahoo.com

استفاده شده و دم کرده آن جهت تسکین درد معده، آرام کردن دل پیچه اطفال و رفع سکسکه و بیخوابی مصرف می‌شود [۲]. شوید دارای خاصیت ضد میکروبی [۶، ۱۸، ۳۲]، کاهش دهنده چربی و کلسترول [۳۶]، اثر ضد سرطان [۳۸]، اثر ضد رشد مخمر ،[۳۱] افزایش دهنده قدرت حفاظتی موکوس معده و کاهنده ترشح اسید معده [۱۶] می‌باشد. اخیراً نشان داده شده است که میوه شوید انقباض رحم ناشی از کلرورپتاسیم و با شدت بیشتر، انقباض ناشی از اکسی‌توسین را کاهش می‌دهد [۱]. با توجه اثرات تسکینی درد معده و تأثیر این گیاه در رفع دل پیچه و همچنین نبود گزارش علمی در مورد اثرات این گیاه بر انقباضات ایلئوم، هدف از اجرای این تحقیق بررسی اثر عصاره آبی الکلی میوه شوید بر فعالیت انقباضی عضله صاف ایلئوم و نیز مطالعه مکانیسم این اثر می‌باشد.

مواد و روشها

روش عصاره گیری

میوه شوید از عطاری‌های معتبر در شهر اهواز خریداری و توسط عضو هیأت علمی گروه باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی رامین اهواز شناسایی گردید. میوه شوید بکمک آسیاب برقی به صورت پودر درآمد و با نسبت ۱۰ گرم با ml ۴۶ الکل ۷۰ ٪ مخلوط گردید و هر روز در چند نوبت این مخلوط بهم زده شد. پس از ۷۲ ساعت نگهداری در دمای آزمایشگاه، مخلوط از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد و حلال عصاره در دمای آزمایشگاه تبخیر و پودر عصاره با نسبت استخراج ۲۰ ٪ بدست آمد که تا زمان استفاده در یخچال نگهداری می‌گردید.

آماده سازی بافت و روش اجرای آزمایش

موشهای صحرایی بالغ نر از نژاد Wistar تهیه شده از مرکز تحقیقات و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اهواز با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۷۰ گرم در شرایط استاندارد (دمای ۲۰ تا ^{o}C ۲۴ و دوره ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی) نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موشها ۲۴ ساعت قبل از آزمایش در قفسهای ویژه با کف توری (به منظور جلوگیری از مدفوع خواری) قرار گرفته ولی دسترسی به آب داشتند. موشها با زدن ضربه به پشت گردن کشته شده، شکم باز شده و بخش انتهایی ایلئوم قطعه‌ای (۲cm) خارج می‌شد [۱۲]. سپس، بافت آماده شده در حمام بافت (۱۰ml) با دمای ^{o}C ۳۷ و تحت نیم گرم کشش اولیه و جریان دائم حبابهای هوا قرار داده و پس از ۶۰ دقیقه دوره سازگاری با کمک ترانسدیوسر ایزوتونیک (Harvard Transducer) و دستگاه ثبات (Universal Harvard Oscillograph) فعالیت مکانیکی ایلئوم روی کاغذ ثبت می‌گردید. به منظور منقبض کردن ایلئوم از کلرورپتاسیم (۶۰ mM)، استیل‌کولین (۱μM) و کلروباریم (۴mM) استفاده شد. در حالتی که انقباض ناشی از هر یک از محرکهای ذکر شده به حالت کفه رسیده بود، غلظتهای مختلف عصاره (۰/۵، ۱، ۲ و ۴mg/ml) به صورت تجمعی به حمام بافت اضافه می‌شد. شرط افزایش غلظت عصاره، به کفه رسیدن حالت انقباضی بافت بود. ضمناً، هر بافت فقط توسط یکی از محرکها منقبض میگردید. به منظور بررسی تأثیر آنتاگونیستهای مختلف به ترتیب زیر عمل گردید که ابتدا انقباض بافت توسط کلرورپتاسیم (۶۰mM) ثبت می‌شد و از پایدار بودن حالت کفه انقباض اطمینان حاصل می‌شد. پس از شستشو و ۱۵ دقیقه استراحت بافت، مجدداً بافت منقبض میگردید و در حالت کفه آن، عصاره (۱mg/ml) به حمام بافت اضافه می‌شد. پس از حداقل ۱۵ دقیقه و شستشوی مکرر و تعویض محلول حمام، آنتاگونیست آلفا ـ آدرنرژیک (فنتولامین ۳۰ دقیقه، ۱μM)، آنتاگونیست بتا ـ آدرنرژیک (پروپرانولول ۳۰دقیقه، ۱μM) آنتاگونیست اوپیوئیدی (نالوکسون ۳۰ دقیقه، ۱μM) در حمام بافت نگه داشته می‌شد و سپس انقباض ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰mM) و تأثیر عصاره (۱mg/ml) مجدداً ثبت می‌شد. جهت بررسی اثر مهار سنتز نیتریک اکساید از حضور ۲۰ دقیقه L-NAME با غلظت ۱۰۰μM، تترا اتیل آمونیوم (TEA، ۵mM، ۳۰ دقیقه) و با روش فوق الذکر استفاده شد. جهت بررسی دخالت کلسیم، در محلول تایرود بدون کلسیم و حاوی کلرورپتاسیم با غلظت ۱۲۰mM، ابتدا بافت دپولاریزه میگردید و سپس غلظتهای مختلف کلرورکلسیم (۰/۲۲۵، ۰/۴۵، ۰/۹، ۱/۸، ۳/۶mM) به صورت تجمعی به حمام بافت اضافه می‌شد تا بافت در نتیجه حضور کلسیم منقبض شود. پس از شستشو و تعویض محلول حمام با محلول تایرود بدون کلسیم و پس از۳۰ دقیقه، در حضور عصاره (۱mg/ml) همین مراحل تکرار می‌شد. محلول تایرود (برحسب mmol/l) دارای (۱۳۶) NaCl، (۲/۷) KCl، (۱/۸) $CaCl_2$، (۲۱) $NaHCO_3$، (۰/۳) NaH_2PO_4،(۱/۸) $MgCl_2$ و گلوکز (۵/۶) بود [۳]. کلیه نمکها و گلوکز محصول شرکت مرک (آلمان)، استیل‌کولین، پروپرانولول و L-NAME از شرکت سیگما (آمریکا)، فنتولامین از شرکت Novartis (آمریکا) و نالوکسون از شرکت تولیدارو (ایران) بودند. ضمناً هر بافت فقط مورد تأثیر یک آنتاگونیست قرار می‌گرفت.

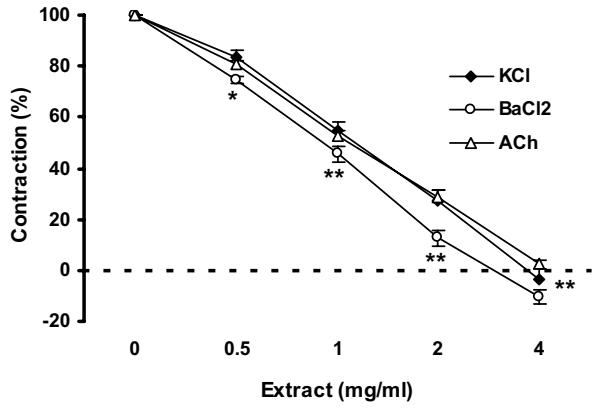
روش‌های آماری

کفه انقباض ناشی از محرک به عنوان ۱۰۰ ٪ تلقی میگردید و درصد تغییرات نیروی انقباضی ناشی از عصاره و یا آنتاگونیست نسبت به آن محاسبه و در هرگروه به صورت mean±SEM ارائه شده‌اند. از آزمون آماری ANOVA جهت مقایسه تأثیر غلظتهای مختلف عصاره و از Student t-test (جهت مقایسه دو گروه) استفاده شده و P کمتر از ۰/۰۵، تفاوت معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

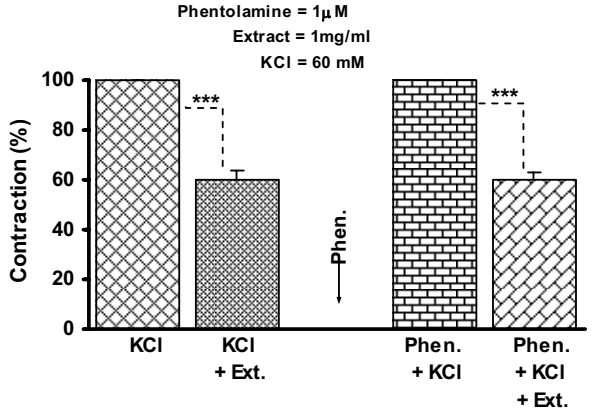
اثر عصاره میوه شوید بر انقباضات ایلئوم ناشی از کلرورپتاسیم ، استیل‌کولین و کلروباریم در موش صحرایی

انقباض ایلئوم ناشی از کلرورپتاسیم با غلظت ۶۰mM [۲۵]، استیل‌کولین با غلظت ۱μM [۵] و کلروباریم با غلظت ۴mM [۳۵]



نمودار ۱ ـ مقایسه عملکرد مهاری غلظتهای تجمعی مختلف عصاره میوه شوید بر انقباض ایلئوم ناشی از کلورپتاسیم (۶۰mM) و استیل‌کولین (۱μM) و کلورباریم (۴mM) در موش صحرایی. (در هر گروه n = ۸ ، P< ۰/۰۰۰۱ ، ANOVA). در مقایسه آماری نتایج گروه‌های استیل‌کولین و کلورباریم P< ۰/۰۵ * و P< ۰/۰۵ ** .

به وسیله عصاره میوه شوید (۰/۵، ۱، ۲ و ۴ mg/ml) کاهش یافت (در هر سه مورد، n=۸، P< ۰/۰۰۰۱ ، ANOVA). در نمودار ۱ دیده می‌شود که اثر مهاری عصاره (با غلظت ۰/۵ mg/ml) بر انقباض ناشی از کلورباریم در مقایسه با استیل‌کولین بیشتر است (P< ۰/۰۵) و در سایر غلظتهای عصاره بکار رفته این اختلاف اثر بارزتر می‌باشد (P< ۰/۰۱). جهت بررسی میزان پایداری اثر مهاری عصاره، در مواردی یک بافت دو بار و به فاصله ۱۵ دقیقه مورد تأثیر انقباضی یکی از مواد محرک (کلورپتاسیم، استیل کولین و کلورباریم) و غلظتهای تجمعی عصاره قرار داده می‌شد. نتایج نشان داد که در هر سه مورد، پس از شستشو و تعویض محلول حمام بافت، ایلئوم در کمتر از چند دقیقه حرکات ریتمیک خود را شروع نموده و اثر عامل انقباضی و شدت اثر مهاری عصاره کاملاً مشابه مرحله قبلی بود. این نتیجه، مشخص کننده پایدار نبودن اثر مهاری عصاره می‌باشد.



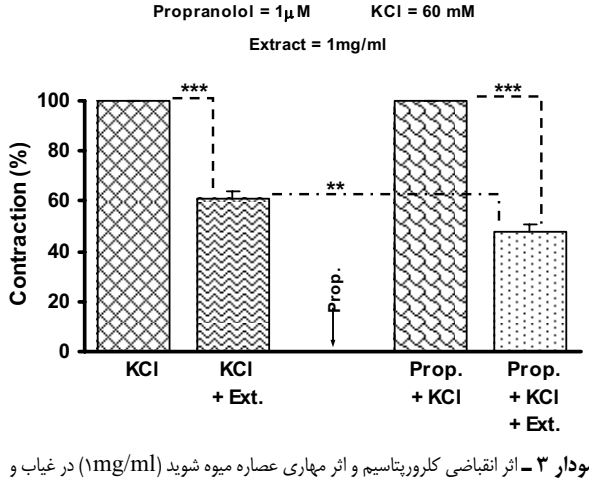
نمودار ۲ ـ اثر انقباضی کلورپتاسیم و اثر مهاری عصاره میوه شوید (۱mg/ml) در غیاب و پس از ۳۰ دقیقه حضور فنتولامین در ایلئوم موش صحرایی (n=۷ و P< ۰/۰۰۰۱ ***). همانطوریکه مشاهده می‌شود اثرات مهاری عصاره در این دو حالت اختلاف معنی‌داری ندارند.

اثر حضور آنتاگونیست رسپتورهای آلفا ـ آدرنرژیک (فنتولامین) بر عملکرد مهاری عصاره

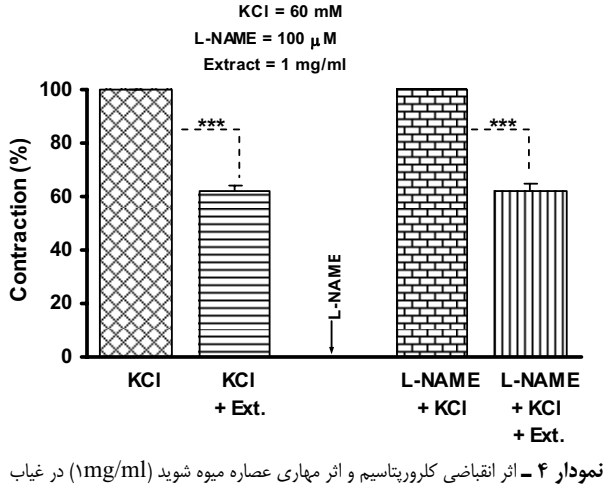
همانطوریکه در نمودار ۲ مشاهده می‌شود عصاره (۱mg/ml) در غیاب و پس از ۳۰ دقیقه [۳۰] حضور آنتاگونیست غیر انتخابی رسپتورهای آلفا ـ آدرنرژیک (فنتولامین) با غلظت ۱μM [۳۳] انقباض ناشی از کلورپتاسیم را مهار نموده است (P< ۰/۰۰۰۱ و n=۷). مقایسه این اثر مهاری نشان می‌دهد که این دو تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. این نتیجه بیانگر آنست که عملکرد مهاری عصاره میوه شوید ناشی از فعال شدن رسپتورهای آلفا ـ آدرنرژیک نمی‌باشد (n =۷).

اثر حضور آنتاگونیست رسپتورهای بتا ـ آدرنرژیک (پروپرانولول) بر عملکرد مهاری عصاره

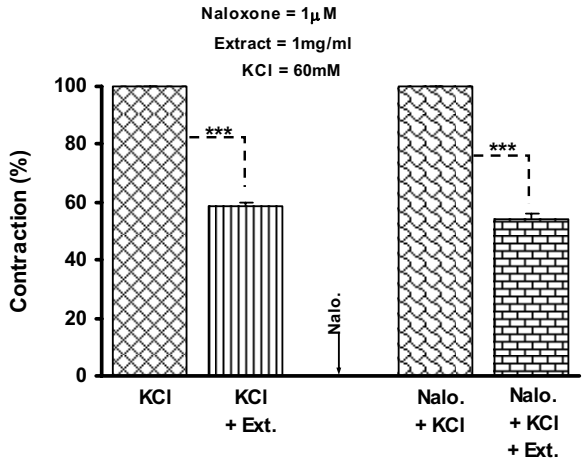
تحریک رسپتورهای بتا ـ آدرنرژیک سبب شل شدن روده کوچک



نمودار ۳ ـ اثر انقباضی کلورپتاسیم و اثر مهاری عصاره میوه شوید (۱mg/ml) در غیاب و پس از ۳۰ دقیقه حضور آنتاگونیست رسپتورهای بتا ـ آدرنرژیک (پروپرانولول) در ایلئوم موش صحرایی (n=۷ و P< ۰/۰۰۰۱ ***). همانطوریکه مشاهده می‌شود اثرات مهاری عصاره در حضور پروپرانولول افزایش نیز یافته است (P<۰/۰۰۱**).

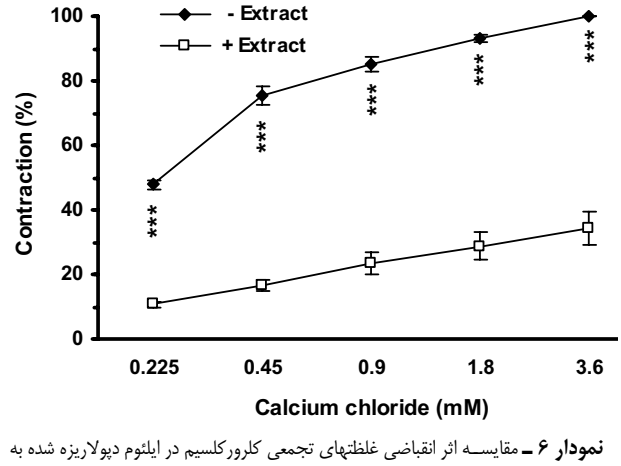


نمودار ۴ ـ اثر انقباضی کلورپتاسیم و اثر مهاری عصاره میوه شوید (۱mg/ml) در غیاب و پس از ۲۰ دقیقه حضور مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سینتاز (L-NAME) در ایلئوم موش صحرایی (n=۷ و P< ۰/۰۰۰۱ ***). همانطوریکه مشاهده می‌شود اثرات مهاری عصاره در این دو حالت اختلاف معنی‌داری ندارند.



نمودار ۵ ـ اثر انقباضی کلورپتاسیم و اثر مهاری عصاره میوه شوید (۱mg/ml) در غیاب و پس از ۳۰ دقیقه حضور آنتاگونیست رسپتورهای اوپیوئیدی (نالوکسون) در ایلئوم موش صحرایی (n=۷ و P< ۰/۰۰۰۱ ***). همانطوریکه مشاهده می‌شود اثرات مهاری عصاره در این دو حالت اختلاف معنی‌داری ندارند.

در موش صحرایی می‌گردند [۳۴] و لذا احتمال داده شد که عصاره از طریق تحریک رسپتورهای بتا ـ آدرنرژیک موجب بروز عملکرد مهاری شده باشد. لذا، عملکرد مهاری عصاره (۱mg/ml) بر انقباض ناشی از کلورپتاسیم (۶۰mM) یکبار در غیاب و یکبار پس از ۳۰ دقیقه [۳۰] حضور پروپرانولول (آنتاگونیست غیر انتخابی رسپتورهای بتاـآدرنرژیک) با غلظت ۱μM [۳۳] مقایسه شد. فاصله زمانی بین این دو مرحله حداقل ۱۵ دقیقه و همراه با شستشوی مکرر بافت بود. در نمودار ۳ مشاهده می‌شود که در هر دو حالت، عصاره سبب مهار انقباض ناشی از بکار بردن کلورپتاسیم شده است (n=۷ ، P< ۰/۰۰۰۱) ولی پروپرانولول نه فقط موجب کاهش اثر مهاری عصاره نشده است بلکه سبب افزایش آن نیز گردیده است (P< ۰/۰۰۰۱).



نمودار ۶ ـ مقایسه اثر انقباضی غلظتهای تجمعی کلورکلسیم در ایلئوم دپولاریزه شده به وسیله کلورپتاسیم (۱۲۰ mM) در غیاب و نیز در حضور عصاره میوه شوید (۱mg/ml). اگر چه در هر دو حالت پاسخهای انقباضی وابسته به غلظت کلسیم هستند (n=۷، ۰/۰۰۰۱> P، ANOVA) ولی هر یک از پاسخهای انقباضی به کلرور کلسیم در حضور عصاره ضعیفتر هستند (P< ۰/۰۰۰۱ ***، t-test).

اثر حضور مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سینتاز (L-NAME) بر عملکرد مهاری عصاره

نیتریک اکساید (NO) مهمترین نوروترانسمتر مهاری دستگاه گوارش می‌باشد [۵ و ۸] و لذا احتمال داده شد که عصاره از طریق NO اثر مهاری خود را اعمال کرده باشد. بنابراین عملکرد مهاری عصاره (۱mg/ml) بر انقباض ناشی از کلورپتاسیم (۶۰mM) در غیاب و یکبار نیز پس از ۲۰ دقیقه [۴] حضور L-NAME با غلظت۱۰۰μM [۴] که مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سینتاز می‌باشد، مقایسه شد. فاصله زمانی بین این دو مرحله حداقل ۱۵ دقیقه و همراه با شستشوی مکرر بافت بود. در نمودار ۴ دیده می‌شود که در هر دو حالت (در غیاب و در حضور L-NAME) عصاره اثر انقباضی کلورپتاسیم را مهار نموده (n=۷ و P< ۰/۰۰۰۱) ولی تأثیر مهاری عصاره در هر دو حالت اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

عملکرد مهاری عصاره در حضور آنتاگونیست رسپتورهای اوپیوئیدی

با توجه به اینکه تحریک رسپتورهای اوپیوئیدی موجب کاهش حرکات انقباضی روده می‌شوند [۱۵ و ۲۰]، بنابراین احتمال داده شده که عملکرد مهاری عصاره نتیجه تأثیر مواد مؤثره عصاره در تحریک و فعال شدن این رسپتورها انجام شده باشد. لذا عملکرد مهاری عصاره (۱mg/ml) بر انقباض ناشی از کلورپتاسیم (۶۰mM) در غیاب و یکبار نیز پس از ۳۰ دقیقه [۵] حضور آنتاگونیست غیر انتخابی رسپتورهای اوپیوئیدی (نالوکسون) با غلظت ۱μM [۱۵]، مقایسه شد. فاصله زمانی بین این دو مرحله حداقل ۱۵ دقیقه و همراه با شستشوی مکرر بافت بود. در نمودار ۵ دیده می‌شود که در هر دو حالت، عصاره اثر انقباضی کلورپتاسیم را مهاری نموده (n=۷ و P< ۰/۰۰۰۱) و تأثیر مهاری عصاره در هر دو حالت اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

تأثیر مهاری عصاره بر انقباض ناشی از کلورکلسیم در ایلئوم دپولاریزه شده

به منظور تعیین دخالت کلسیم در بروز عملکرد مهاری عصاره پروتکل زیر انجام شد. در محلول بدون کلسیم و دارای کلورپتاسیم با غلظت ۱۲۰mM، بافت دپولاریزه گردید و انقباض آن مشروط به حضور کلسیم در محیط خواهد بود. با اضافه نمودن تجمعی کلسیم (۰/۲۲۵، ۰/۴۵، ۰/۹، ۱/۸ و ۳/۶mM) بافت منقبض گردید. همانطوریکه در نمودار ۶ دیده می‌شود این پاسخ انقباضی وابسته به غلظت کلسیم است (ANOVA، P< ۰/۰۰۰۱ و n=۷). پس از شستشوی مکرر بافت با محلول تایرود بدون کلسیم و ۲۰ دقیقه استراحت بافت، مراحل فوق در حضور عصاره (۱mg/ml) تکرار شد. در همین نمودار دیده می‌شود در حضور عصاره نیز کلسیم موجب انقباض وابسته کلسیم شده است (ANOVA، P< ۰/۰۰۰۱ و n=۷)، ولی این دو اثر انقباضی کلسیم در

غیاب و در حضور عصاره در تمام غلظتهای کلسیم اختلاف معنی‌داری با هم دارند (t-test، P< ۰/۰۰۰۱). در این مقایسه، نیروی انقباضی در غیاب عصاره و در بیشترین غلظت کلسیم (۳/۶mM) به عنوان پاسخ ۱۰۰ ٪ تلقی شده است.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره آبی الکلی میوه شوید موجب کاهش انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و استیل‌کولین و کلروباریم در ایلئوم موش صحرایی شد و این اثر مهاری برای انقباض ناشی از کلروباریم بیشتر بود. در هر سه مورد، عملکرد مهاری عصاره پایدار نبود و با خروج عصاره از حمام بافت و تعویض محلول حمام از بین می‌رفت. این نکته نشان می‌دهد که تأثیر مهاری عصاره باید نتیجه وقوع پدیده‌ای در سطح سلول بوده و حاصل پدیده‌های درون سلولی نیستند. این مطلب قبلاً نیز نتیجه گیری شده است [۱]. کنترل تونیسیته در عضله صاف دستگاه گوارش وابسته به کلسیم درون سلولی می‌باشد. بطور کلی دو نوع مکانیسم در جریان پدیده excitation-contraction coupling سبب افزایش کلسیم درون سلولی می‌گردند [۲۹]. در مکانیسم اول، دپولاریزه شدن غشاء سلول سبب فعال شدن کانالهای کلسیم وابسته به ولتاژ شده و به نوبه خود موجب ورود این یون از خارج سلول شده و کلرورپتاسیم با دپولاریزه کردن غشاء سلول از این طریق موجب انقباض می‌گردد [۲۹] و وجود کانالهای کلسیم وابسته به ولتاژ نوع L در عضله صاف ایلئوم موش صحرایی نشان داده شده است [۹، ۲۴]. در مکانیسم دوم ماده‌ای مانند استیل‌کولین پس از باند شدن با رسپتورهای موسکارینیکی نوع M_2 و M_3 [۱۴] و از طریق فعال کردن این رسپتورها و با دخالت اینوزیتول تری فسفات موجب آزاد شدن کلسیم از منابع درون سلولی مانند رتیکولوم سارکوپلاسمیک می‌گردد [۷ ، ۱۰]. کلروباریم نیز به عنوان یک ماده مسدود کننده غیر اختصاصی کانالهای پتاسیم با انسداد کانالهای پتاسیم موجب دپولاریزه شدن و انقباض عضله صاف می‌گردد [۲۲] اگر چه پیشنهاد نیز شده است که کلروباریم می‌تواند موجب رهایش کلسیم از منابع درون سلولی نیز شود [۲۷]. افزایش غلظت کلسیم درون سلولی موجب انجام اعمال گوناگونی از جمله وقوع انقباض، بیان ژن، ترشح هورمونها و نورترانسمیترها می‌شود. اگر چه پمپها و کانالهای متنوعی برای کنترل کلسیم درون سلولی وجود دارد ولی کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ نقش مهمی در عمل کنترل غلظت کلسیم درون سلولی دارند. کلسیم نه فقط پیامبر ثانویه مهم می‌باشد بلکه ورود آن موجب دپولاریزه شدن غشاء سلول نیز می‌گردد [۲۶]. پیشنهاد شده است که موادی که بتوانند انقباض ناشی از کلرورپتاسیم را در عضله صاف مهار کنند احتمالاً این اثر با دخالت و انسداد کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ انجام می‌دهند [۱۳]. همانطوریکه در بالا اشاره شد، عملاً هر سه محرک بکار رفته یا مستقیماً و بدون استفاده از رسپتور اختصاصی موجب فعال شدن کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ می‌شوند (کلرورپتاسیم و کلروباریم) و یا با فعال کردن رسپتورهای استیل‌کولین در نهایت سبب ورود کلسیم از خارج سلول و افزایش غلظت آن در سلول و انقباض می‌شوند. تأثیر مهاری عصاره میوه شوید نیز بر عملکرد انقباضی این سه محرک پیشنهاد می‌کند که عملکرد مهاری عصاره احتمالاً با دخالت کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ بروز می‌کند. با توجه به اثبات وجود رسپتورهای α_2 در ایلئوم موش صحرایی و نیز اثرات مهاری آنها [۲۱] و از طرف دیگر فنتولامین که آنتاگونیست غیر انتخابی این نوع رسپتورهای آدرنرژیک می‌باشد قادر به تأثیری بر عملکرد مهاری عصاره نداشت که نشان می‌دهد رسپتورهای آلفا ـ آدرنرژیک در بروز عملکرد مهاری عصاره دخالتی ندارند. همچنین وجود رسپتورهای β_1 ، β_2 و β_3 در ایلئوم موش صحرایی و اثرات مهاری آنها گزارش شده است [۲۸]. عدم توانایی پروپرانولول (آنتاگونیست غیر انتخابی بتا ـ آدرنرژیک) در جلوگیری و یا کاهش عملکرد مهاری عصاره نیز مؤید عدم دخالت رسپتورهای بتا ـ آدرنرژیک در تأثیر مهاری عصاره میوه شوید می‌باشد که با گزارش قبلی در مورد تأثیر عصاره شوید بر رحم همخوانی دارد [۱]. اما همانطوریکه در قسمت نتایج اشاره شد، پروپرانولول حتی موجب افزایش توانایی مهاری عصاره نیز گردید. گزارش شده است که نیتریک اکساید (NO) سبب شل شدن ایلئوم در موش صحرایی می‌گردد و این اثر، نتیجه تأثیر مستقیم آن بر عضله صاف بوده و مستقل از افزایش درون سلولی cGMP می‌باشد [۸]. چنانچه عملکرد مهاری عصاره به افزایش سنتز NO مربوط بود، بکاربردن L-NAME که از سنتز NO جلوگیری می‌کند، می‌بایست سبب کاهش اثر مهاری عصاره گردد ولی عدم وقوع این حالت، نشان دهنده عدم دخالت NO در عملکرد مهاری عصاره است. این امر با نتایج قبلی گزارش شده در مورد همین عصاره بر عضله صاف رحم همخوانی دارد [۱]. از احتمالات دیگر وجود موادی با خاصیت اوپیوئیدی در عصاره می‌باشد. گزارش شده است که رسپتورهای اوپیوئیدی انواع μ و δ (ولی نه نوع κ) در ایلئوم موش صحرایی وجود داشته و سبب مهار حرکات روده می‌شوند [۱۵]. بر این اساس به نظر رسید که ممکن است عصاره میوه شوید حاوی مواد اوپیوئیدی باشد. نتایج این تحقیق نشان داد، نالوکسون (آنتاگونیست غیر انتخابی رسپتورهای اوپیوئیدی) قادر به کاهش اثر مهاری عصاره میوه شوید نیست و لذا دخالت این نوع رسپتورها نیز رد می‌گردد. نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره میوه شوید تأثیر انقباضی کلسیم را در ایلئوم دپولاریزه شده بوسیله کلرورپتاسیم کاهش می‌دهد. این امر نشان می‌دهد که عصاره مانع از ورود کلسیم از خارج گردیده و مؤید پیشنهاد قبلی در مورد تأثیر عصاره بر کانالهای کلسیمی بوده و با گزارش قبلی همخوانی دارد [۱]. چند تحقیق انجام شده نشان داده اند که شوید دارای فلاونولها و یا مشتقات فلاوونوئید کوئرستین می‌باشد [۱۲، ۲۳]. با توجه به اینکه تأثیر مهاری کوئرستین بر حرکات روده باریک نیز گزارش شده است [۳۷] لذا ممکن است عملکرد ضد انقباضی مشاهده شده در تحقیق حاضر را نیز نتیجه تأثیر این ترکیبات دانست. باید اشاره نمود که به جز یک مطلب کلی در مورد اثر ضد انقباضی شوید بر حرکات دستگاه گوارش [۱۱]، گزارش تحقیقی دیگری در باره اثر میوه شوید بر عضله صاف یافت نشد

تا نتایج تحقیق حاضر با آن مقایسه گردد. ولی آنچه مشخص گردید آنست که اثرات ضد انقباضی میوه شوید مشاهده شده می‌تواند مؤید کاربرد سنتی میوه شوید در رفع دل پیچه خصوصاً در اطفال باشد. یقیناً روشن‌تر شدن مکانیسم اثر این عصاره نیازمند استخراج مواد متشکله آن و بررسی جداگانه تأثیر این مواد خواهد بود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز اجراء گردیده و مجریان در این مورد از آن دانشگاه تشکر می‌نمایند. همچنین از آقای دکتر حیدری استادیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی رامین اهواز جهت شناسایی میوه شوید، صمیمانه قدردانی می‌گردد.

منابع

[۱] غریب ناصری، محمد کاظم، مرد، سید علی، فربود یعقوب، اثر عصاره میوه شـوید *(Anethum graveolens)* بر انقباضات رحم موش صحرایی. مجله علوم پایه پزشکی ایران ۴ (۱۳۸۴).

[۲] زرگری، علی. **گیاهان دارویی**، انتشـارات دانشـگاه تهران، تهران جلد دوم، چاپ پنجم، (۱۳۷۰).

[3] Akomolafe RO, Adeoshun IO, Elujoba AA, Iwalewa EO, Ayoka AO, Effects of *Cassia sieberiena* leaf extracts on the intestine motility of rat. ***Afr J Biomed Res*** 6 (2003)141-145.

[4] Andersson A, Sundler F, Ekblad E, Expression and motor effects of secretin in small and large intestine of the rat. ***Peptides*** 21 (2000) 1687-1694.

[5] Borrelli F, Capasso R, Pinto A, Izzo AA, Inhibitory effect of ginger (*Zingiber officinale*) on rat ileal motility in vitro. ***Life Sci*** 74 (2004) 2889-2896.

[6] Delaquis PJ, Stanich K, Girard B, Mazza G, Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. ***Int J Food Microbio*** 74 (2002) 101-109.

[7] Eglen RM, Hedge SS, Watson N, Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function. ***Pharmacol Rev*** 48 (1996) 531-565.

[8] Ekblad E, Sundler F, Motor responses in rat ileum evoked by nitric oxide donors vs. field stimulation: modulation by pituitary adenylate cyclase-activating peptide, forskolin and guanylate cyclase inhibitors. ***J Pharmacol Exp Ther*** 283 (1997) 23-28.

[9] El Bardai S, Hamaide MC, Lyoussi B, Quetin-leclercq J, Morel N, Wibo M, Marrubenol interacts with the phenylalkylamine binding site of the L-type calcium Channel. ***Eur J Pharmacol*** 492 (2004) 269-272.

[10] Elorriaga M, Anselmi E, Hernandez JM, Docon P, Ivorra D, The source of Ca^{2+} for muscarinic receptor-induced contraction in rat ileum. ***J Pharm Pharmacol*** 48 (1996) 817-819.

[11] Flemimg T, ***PDR for herbal medicines.*** New Jersy: Medical Economics Company, (2000).

[12] Gebhardt Y, Witte S, Forkmann G, Lukacin R, Matern U, Martens S, Molecular evolution of flavonoid dioxygenases in the family Apiaceae. ***Phytochemistry*** 66 (2005) 1273-1284.

[13] Gilani AH, Aziz N, Khurram IM, Chaudhary KS, Iqbal A, Bronchdilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses. ***J Pak Med Assoc*** 51 (2001) 115-120.

[14] Goyal RK, Identification, localisation and classification of muscarinic receptor subtypes in the gut. ***Life Sci*** 43 (1988) 2209-2220.

[15] 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*** 144 (2005) 687-694.

[16] Hosseinzadeh H, Karimi GR, Ameri M, Effects of *Anethum graveolens* L. seed extracts on experimental gastric irritation models in mice, ***BMC Pharmacol*** 2 (2002) 21-25.

[17] Ishikawa T, Kudo M, Kitajima J, Water-soluble constituents of dill. ***Chem Pharm Bull (Tokyo)*** 50 (2002) 501-507.

[18] Jirovetz L, Buchbauer G, Stoyanova AS, Georgiev EV, Damianova ST, Composition, quality control, and antimicrobial activity of the essential oil of long-time stored dill (*Anethum graveolens* L.) seeds from Bulgaria. ***J Agric Food Chem*** 51 (2003) 3854-3857.

[19] Koc E, Yavuzer S, Ocakciogul B, Does antinerve growth factor affect isolated ileal contractility in rat?

[20] Laurence DR, Bennett PN, ***Clinical Pharmacol.*** UK: Churchill Livingstone, (1990).

[21] Liu LU, Coupar IM, Involvement of alpha-2 adrenoceptors in the effects of moxonidine on intestinal motility and fluid transport. ***J Pharmacol Exp Ther*** 283 (1997)1367-1374.

[22] Liu S, Hu HZ, Ren J, Gao C, Gao N, Lin Z, Xia Y, Wood JD, Pre- and postsynaptic inhibition by nociceptin in guinea pig small intestinal myenteric plexus in vitro. ***Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*** 281 (2001) G237-G246.

[23] Moehle B, Heller W, Wellmann E, UV-induced biosynthesis of quercetin3-O-beta-d- glucuronide in dill *Anethum graveolens* cell cultures. ***Phytochemistry*** 24 (1985) 465-468.

[24] Nocerino E, Izzo AA, Borrelli F, Capasso F, Capasso R, Pinto A, Sautebin L, Mascolo N. Relaxant effect of capsazepine in the isolated rat ileum. ***Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*** 365 (2002)187-192.

[25] Ozacmak VH, Sayan H, Arslan SO, Altaner S, Aktas RG, Protective effect of melatonin on contractile activity and oxidative injury induced by ischemia and reperfusion of rat ileum. ***Life Sci*** 76 (2005)1575-1588.

[26] Perez-Reyes E, Molecular physiology of low-voltage-activated t-type calcium channels. ***Physiol Rev*** 83 (2003)117-164.

[27] Rahwan RG, Faust MM, Witiak DT, Pharmacological evaluation of new calcium antagonists: 2-sunstituted 3-dimethylamino-5,6-methylenedioxyindenes. ***J Pharmacol Exp Ther*** 201 (1977) 126-137.

[28] Roberts SJ, Papaionnou M, Evans BA, Summers RJ, Characterization of β-adrenoceptor mediated smooth muscle relaxation and detection on mRNA for β_1-,β_2- and β_3-adrenoceptors in rat ileum. ***Br J Pharmacol*** 127 (1999) 949-961.

[29] Sadraei H, Asghari G, Hekmatti AA, Antispasmodic effect of three fractions of hydroalcoholic extract of *Pycnocycla spinosa.* ***Ethnopharmacol*** 86 (2003)187-190.

[30] Shah S, Hobbs A, Singh R, Cuevas J, Ignarro LJ, Chaudhuri G, Gastrointestinal motility during pregnancy: role of nitrergic component of NANC nerves. ***Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*** 279 (2000) R1478-R1485.

[31] Shcherbanovsky LR, Kapelev IG, Volatile oil of *Anethum graveolens* L. as an inhibitor of yeast and lactic acid bacteria. ***Prikl Biokhim Mikrobiol*** 11 (1975) 476-477.

[32] Singh G, Kapoor IP, Pandey SK, Singh UK, Singh PK, Studies on essential oils: part 10; antibacterial activity of volatile oils of some spices. ***Phytother Res*** 16 (2002) 680-682.

[33] Storr M, Franck H, Saur D, Schusdziarra V, Allescher HD, Mechanisma of alpha,beta-methylene atp-induced inhibition in rat ileal smooth muscle: involvement of intracellular Ca^{2+} stores in purinergic inhibition. ***Clin Exp Pharmacol Physiol*** 27 (2000) 771-779.

[34] van der Vliet A, Rademaker B, Bast A, A beta adrenoceptor with atypical characteristics in involved in the relaxation of the rat small intestine. ***J Pharmacol Exp Ther*** 255 (1990) 218-226.

[35] Yarim M, Sarac S, Ertan M, Batu OS, Erol K, Synthesis, structural elucidation and pharmacological properties of some 5-acetyl-3,4-dihydro-6-methyl - 4 - (substituted phenyl) - 2 (1H) -pyrimidinones. ***Farmaco*** 54 (1999) 359-363.

[36] Yazdanparast R, Alavi M, Antihyperlipidaemic and antihypercholesterolaemic effects of *Anethum graveolens* leaves after the removal of furocoumarins. ***Cytobios***105 (2001) 185-191.

[37] Zhang WJ, Chen BT, Wang CY, Zhu QH, Mo ZX, Mechanism of quercetin as an antidiarrheal agent. ***Di Yi Jun Da Xue Xue Bao*** 23 (2003) 1029-1031.

[38] Zheng GQ, Kenney PM, Lam LK, Anethofuran, carvone, and limonene: potential cancer chemopreventive agents from dill weed oil and caraway oil. ***Planta Med*** 58 (1992) 338-341.

متن کامل این مقاله از طریق وب سایت مجله قابل دسترسی است www.phypha.ir/ppj