

## **The Role of NO in Antispasmodic Activity of Parsley (*Petroselinum crispum* L.) Leaf Flavonoids Extract on KCl-Induced Contraction in Adult Male Rat's Ileum**

Azam Govahi<sup>1\*</sup>, AhmadAli Moazedi<sup>1</sup>, Seyyed Mansoor Seyyednejad<sup>1</sup>, Mehdi Pourmehdi Borojeni<sup>2</sup>

1- Department of Biology, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran.

2- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran, Ahwaz, Iran.

Received: 1 Feb 2015, Accepted: 6 May 2015

---

### **Abstract**

**Background:** Due to the harmful side effects of chemical drugs, in recent decades, much attention has been returned to the use of medicinal plants. The flavonoids as plant secondary compounds are allocated to own an important part of this attention. Based on previous studies, some of the flavonoids are able to reduce contraction induced by KCl, acetylcholine, etc in rat ileum. Therefore, in this study, the effect of the flavonoid extract of parsley leaves on smooth muscle contraction of the ileum and the role of Nitric oxide (NO) has been studied.

**Materials and Methods:** Distal segment of Wistar rat ileum was separated and contractions under one gram tension and at 37°C, in an organ bath containing Tyrode solution was recorded by isotonic method. Rats were divided into 2 groups with 7 in each group. After placing the tissue exposed to L-NAME 100µM (Sigma, America) as an inhibitor of NO, the antispasmodic effect of cumulative concentrations of the flavonoid extract was investigated

**Results:** The extract cumulative concentrations reduced ileum contraction induced by KCl in a dose-dependent manner. Also, the antispasmodic effect of flavonoids extract on ileum contractions (only 16 mg/ml) was affected by L-NAME.

**Conclusion:** This study showed that the extract relaxed rat's ileum by the NO system at higher concentrations.

**Keywords:** Contraction, Ileum, L-NAME, Flavonoid

\*Corresponding Author:

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

Email: azam.govahi@yahoo.com

## نقش NO در اثر ضد انقباضی عصاره فلاونوئیدی برگ گیاه جعفری بر انقباض ناشی از KCl در ایلئوم موش صحرایی نر بالغ

اعظم گواهی<sup>\*</sup>، احمد علی معاضدی<sup>۱</sup>، سید منصور سیدنژاد<sup>۲</sup>، مهدی پورمهدی بروجنی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۲- استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز اهواز، ایران

۳- دانشیار، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۶

### چکیده

**زمینه و هدف:** به علت اثرات جانبی زیان آور داروهای شیمیایی، استفاده از گیاهان دارویی در چند دهه اخیر مورد توجه بسیار قرار گرفته است. در این میان، فلاونوئیدها به عنوان ترکیبات ثانویه گیاهی بخش مهمی از این توجه را به خود اختصاص داده‌اند. بر اساس مطالعات پیشین، برخی از فلاونوئیدها قادر به کاهش انقباض ایلئوم ایجاد شده از طریق KCL، استیل کولین و غیره می‌باشند. از این رو، در این مطالعه تاثیر عصاره فلاونوئیدی برگ گیاه جعفری بر انقباض عضلات صاف ایلئوم موش صحرایی و نقش سیستم نیتریک اکساید (NO) در این اثر، 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. موش‌ها به ۲ گروه ۷ تایی تقسیم شدند. پس از قراردادن بافت در معرض L-NAME ۱۰۰ میکرومولار (شرکت سیگما، آمریکا) به عنوان مهارکننده تولید NO، اثر ضد انقباضی غلظت‌های تجمعی عصاره بررسی شد.

**یافته‌ها:** غلظت‌های تجمعی عصاره، انقباضات ایلئوم ایجاد شده از طریق کلرید پتاسیم را به شکل وابسته به غلظت کاهش داد ( $p < 0.001$ ). همچنین اثر ضد انقباضی عصاره فلاونوئیدها به وسیله L-NAME تنها در غلظت ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تحت تاثیر قرار گرفت و به شکل معنی‌داری کاهش یافت.

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که عصاره، شل‌کننده ایلئوم موش صحرایی است و این عمل را از طریق سیستم NO در غلظت‌های بالاتر انجام می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** انقباض، ایلئوم، L-NAME، فلاونوئید

\*نویسنده مسئول: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، گروه زیست شناسی

Email: Azam.govahi@yahoo.com

## مقدمه

گیاهان دارویی از زمان‌های بسیار قدیم مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند (۱) و همواره منبعی برای تهیه داروهای جدید بوده‌اند (۲). استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌های گوارشی در سرتاسر دنیا رایج می‌باشد. امروزه در بخش‌های مختلف دنیا تحقیقات متعددی در این زمینه انجام می‌شود (۳).

برگ‌های گیاه جعفری در طب سنتی به عنوان دارویی جهت درمان بسیاری از امراض و ناراحتی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴). گزارش‌های متعددی نیز در ارتباط با اثرات این گیاه در درمان اختلالات روده‌ای و دستگاه گوارش وجود دارد (۵). از جمله ترکیبات تشکیل دهنده برگ جعفری، فلاونوئیدها هستند (۵) که به علت فعالیت‌ها و اثرات فارماکولوژیک شان مورد توجه زیاد محققان (۶) و به طور فزاینده‌ای موضوع تحقیقات پزشکی و درمانی قرار گرفته‌اند (۷). اثر ضد انقباضی بسیاری از فلاونوئیدها بر عضلات صاف مختلف از جمله ماهیچه صاف عروقی، مثانه، وازدفران و رحم مشخص شده است (۸).

هم‌چنین 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. با توجه به این که از جمله ترکیباتی که در جعفری وجود دارد فلاونوئیدها هستند (۵) و اثر شل‌کنندگی برخی از فلاونوئیدها در مقالات متعددی گزارش شده است (۹)، از این رو به نظر می‌رسد بخشی از این اثر مهاری، به دلیل حضور این ترکیبات در آن باشد. نیتریک اکساید (NO) نخستین بار در اندوتلیوم عروقی شناسایی و کشف شد (۱۰). NO در بسیاری از سلول‌ها از جمله سلول‌های اندوتلیال عروقی، اعصاب، نوتروفیل‌ها، پلاکت‌ها، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اپی‌تلیال به وجود می‌آید (۱۱)، از L-آرژنین ساخته می‌شود (۱۰، ۱۱)، در سلول‌های عضلات صاف گوارشی و عروقی به عنوان یک مولکول پیام‌رسان درون سلولی و بین سلولی عمل می‌کند و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و التهابی، نقش میانجی را ایفا

می‌کند. اظهارات بر این است که NO یک میانجی در ارسال پیام مهاری عصب-عضله، کمپلکس میوالکتریک مهاجر و حرکات دودی می‌باشد. از آنجایی که بسیاری از فلاونوئیدها از جمله کوئرستین از طریق رهاسازی فاکتورهای مشتق از اندوتلیوم از جمله NO اثر گشادکنندگی خود را اعمال می‌کنند (۱۰) و فعالیت آن‌ها در عضله صاف عروقی، به رهاسازی NO وابسته می‌باشد (۱۲) و هم‌چنین با توجه به آن که در شبکه میانتریک، آنزیم سازنده نیتریک اکساید (NOS) حضور دارد (۱۵-۱۳)، بنابراین NO یکی از کاندیدای احتمالی برای دخالت در شل‌شدگی عضله صاف، بدون دخالت سیستم‌های آدرنرژیک/کولینرژیک (NANC) می‌باشد. از این رو، در این تحقیق، احتمال استفاده عصاره از سیستم NO برای اعمال اثر خود مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

روش استخراج فلاونوئیدهای برگ:

نمونه‌های گیاهی مورد استفاده، بومی منطقه خوزستان بوده و شناسایی آن توسط گروه گیاه‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت. به یک شیشه درپوش دار حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانل ۷۰ درصد، دو گرم پودر گیاه خشک شده (برگ) اضافه گردید و در دمای اتاق در شیکر قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، محلول مورد نظر با استفاده از قیف بوختر و پس از ۲۴ ساعت فیلتر گردید. تقریباً دو سوم از حجم محلول حاصل تبخیر شد، به نحوی که بیشتر الکل حذف گردید. عصاره آبی باقیمانده به کمک اترنفت و با استفاده از یک قیف جداکننده (دکانتور)، از وجود آلودگی‌هایی با قطبیت کم، نظیر چربی‌ها، تریپن‌ها، کلروفیل و غیره پاک شد. این عمل چندین بار انجام گرفت. فاز آبی استخراج شده حاوی حجم عمده‌ای از فلاونوئیدها بود که تا حد خشکی تبخیر گردید (۱۶).

## حیوانات و آماده سازی ایلئوم

در این تحقیق تجربی، روش کار با حیوانات آزمایشگاهی به تصویب کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه شهید چمران اهواز رسید. موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی  $25 \pm 22.5$  گرم، از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه جندی شاپور اهواز تهیه شدند. حیوانات در شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و دمای آزمایشگاهی ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای تغذیه آن‌ها از غذای فشرده تهیه شده از کارخانه خوراک دام و طیور پارس تهران استفاده شد. آن‌ها آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. حیوان ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش بدون غذا می‌ماند، به گونه‌ای که فقط به آب دسترسی داشت و در طی این ۲۴ ساعت، در قفس‌های مخصوص گرسنگی نگهداری می‌شد. کف این قفس‌های مخصوص توری بود، به طوری که امکان دسترسی موش‌ها به فضولات خود جهت استفاده مجدد را غیر ممکن می‌ساخت. موش در روز آزمایش با زدن ضربه به پشت گردن کشته شد و قطعاتی از ایلئوم جدا گردید و برای پاکسازی ایلئوم، داخل آن با محلول سرد اکسیژنه تایرود شست و شو داده شد. سپس یک قطعه ۲ سانتی‌متری از ایلئوم با حجم ۱۰ میلی‌لیتر (محتوی محلول تیرود در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و  $\text{pH}=7.4$ ) از طریق دو قلاب استیل ضد زنگ درون حمام بافت قرار گرفت. موش‌ها به ۲ گروه ۷ تایی تقسیم شدند. گروه اول تنها تحت تاثیر عصاره قرار گرفت. اما در گروه دوم، عصاره و L-NAME هر دو هم‌زمان بررسی می‌شدند و تحت تاثیر قرار می‌گرفتند. در هر آزمایش از هر موش یک بافت ایلئوم جدا می‌شد. بافت تحت یک دوره سازگاری ۶۰ دقیقه‌ای قرار می‌گرفت، به گونه‌ای که هر ۱۵ دقیقه محلول حمام عوض می‌شد. جریان دائم اکسیژن نیز در حمام بافت برقرار بود. میزان کشش اولیه به بافت ۱ گرم بود. انقباضات ایزوتونیک با استفاده از دستگاه ثبات (ترانسدایوسر ایزوتونیک هاروارد) با سرعت ۰/۱ میلی‌متر در ثانیه بر روی یک دستگاه اوسیلوگراف هاروارد ثبت گردید. تعداد موش‌ها در هر گروه ۷ سر بود و

در هر آزمایش از هر موش یک بافت ایلئوم مورد استفاده قرار گرفت. محلول تیرود حمام دارای ترکیب زیر بر حسب میلی‌مولار بود: NaCl (۱۳۶/۹)،  $\text{MgCl}_2$  (۱/۰۵)، KCl (۲/۶۸)،  $\text{CaCl}_2$  (۱/۸)،  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (۰/۴۲)،  $\text{NaHCO}_3$  (۱۱/۹) و گلوکز (۵/۵۵) که در آب مقطر تهیه شد. کلیه نمک‌ها و گلوکز موجود در محلول تیرود از شرکت مرک آلمان و پروپراتولول از شرکت سیگمای امریکا تهیه شده بودند. در این بخش از تحقیق، محلول تیرود حلال عصاره و کلیه مواد بود (۱۷).

پس از سازگاری، ایلئوم از طریق کلرید پتاسیم (۶۰ میلی‌مولار) منقبض شد و هنگامی که انقباض به حالت کفه رسید غلظت‌های تجمعی عصاره (۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به حمام اضافه شدند. به منظور بررسی احتمال تداخل عمل عصاره فلاونوئیدی با سیستم نیتریک اکساید، از مهار کننده تولید NO (L-NAME) با غلظت ۱۰۰ میکرومولار استفاده گردید. ابتدا اثر انقباض ایلئوم ناشی از کلرور پتاسیم ۶۰ میلی‌مولار به تنهایی ثبت شد و پس از شست و شو و استراحت بافت، ۱۰۰ میکرومول L-NAME به حمام بافت افزوده گشت و پس از ۳۰ دقیقه حضور L-NAME، کلرید پتاسیم با غلظت ۶۰ میلی‌مولار و سپس غلظت‌های تجمعی عصاره فلاونوئیدی اضافه شد و تاثیر آن در غياب و حضور L-NAME مورد مقایسه قرار گرفت (۱۸).

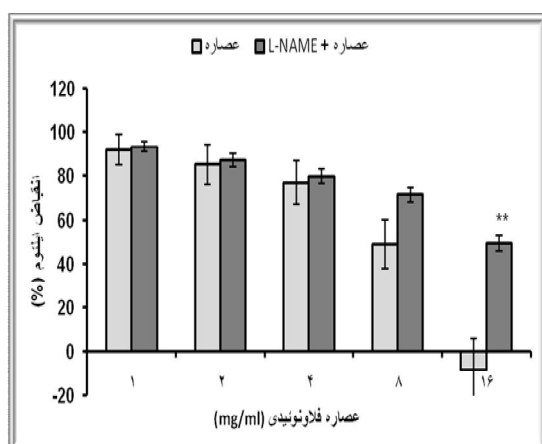
## تحلیل آماری

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ به طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به منظور تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری و تست تکمیلی LSD استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه گردیده است. سطح معنی‌داری برابر با  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

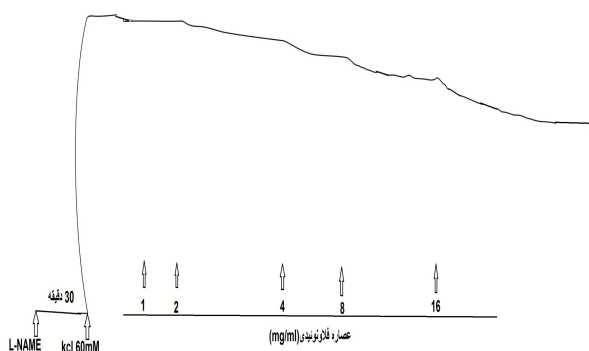
## یافته‌ها

الف: اثر عصاره روی انقباض ایلئوم ایجاد شده از طریق کلرید پتاسیم (۶۰ میلی‌مول):

بر میلی لیتر تفاوت معنی داری بین حضور و عدم حضور L-NAME وجود دارد ( $p < 0.01$ ) ( $n=7$ ). بدین معنی که L-NAME فقط توانسته است تاثیر ضد انقباضی غلظت ۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره را به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد (نمودار ۲ و شکل ۲).



نمودار ۲. مقایسه آماری غلظت های مختلف عصاره بر انقباض ایلتوم ناشی از ۶۰ میلی مول کلرید پتاسیم، در حضور و در غیاب L-NAME. (\*\* $p < 0.01$ ,  $n=7$ )

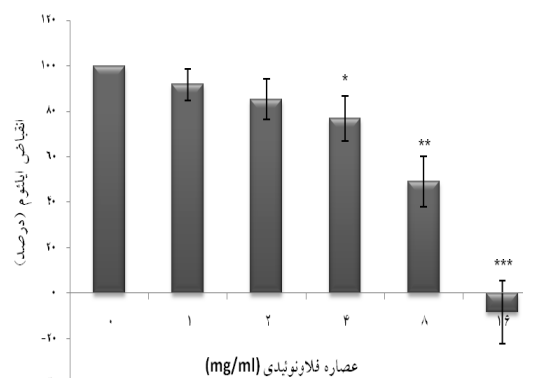


شکل ۲. نمونه ای از ثبت حقیقی اثر غلظت های مختلف عصاره فلاونوئیدی بر انقباض ناشی از کلرید پتاسیم (۶۰ میلی مول) در حضور L-NAME

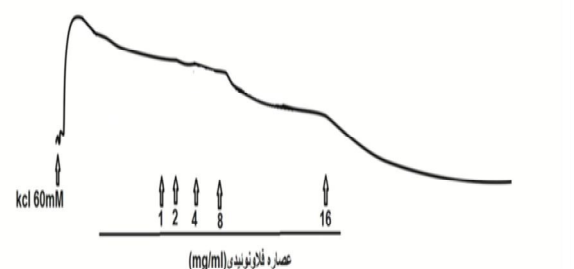
### بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اثر غلظت های مختلف عصاره فلاونوئیدی برگ جعفری (۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر) بر انقباض ایلتوم ناشی از KCl، باعث مهار انقباض به شکل وابسته به غلظت می شود. نتایج این مرحله با نتایج گزارش شده از برخی از فلاونوئیدها هم خوانی دارد. امیرا و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه روی اثر

غلظت های تجمعی عصاره فلاونوئیدهای برگ جعفری (۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر)، انقباض ایلتوم ایجاد شده در اثر KCl را به شکل وابسته به غلظت و به طور معنی داری کاهش داد (نمودار ۱، شکل ۱).



نمودار ۱. مقایسه اثر مهارتی مقادیر مختلف فلاونوئیدهای برگ جعفری با کنترل بر انقباض ناشی از ۶۰ میلی مول کلرید پتاسیم در ایلتوم موش صحرايي (\*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \* $p < 0.05$ ,  $n=7$ )



شکل ۱. نمونه ای از ثبت حقیقی تاثیر غلظت های تجمعی فلاونوئیدهای برگ جعفری بر انقباض ناشی از کلرید پتاسیم (۶۰ میلی مول) در ایلتوم

ب: مقایسه اثر عصاره فلاونوئیدی برگ جعفری بر انقباض ناشی از کلرید پتاسیم در حضور و غیاب L-NAME: مقایسه بین هر کدام از غلظت های عصاره فلاونوئیدی در حضور و عدم حضور L-NAME نشان داد که در این دو گروه بین هر کدام از غلظت های ۱، ۲، ۴ و ۸ اختلاف معنی داری وجود ندارد، اما در غلظت ۱۶ میلی گرم

عصبی-هورمونی درونی و بیرونی مختلف تنظیم می‌شود. در میان این فاکتورها، NO نیز حضور دارد (۲۳).

در بسیاری از موارد، NO به عنوان یکی از اصلی‌ترین نوروترنسمیترهای مهارى لوله گوارش تایید شده است که هم‌چنین می‌تواند از سلول‌های غیر عصبی منشأ بگیرد. NO نوروترنسمیتر مهارى اصلی شل‌کننده عضله معده است (۱۲). گزارشات حاکی است که در روده موش صحرایی و خرگوش، NO سبب شل‌شدگی عضله طولی روده می‌شود (۱۱، ۱۸) و انقباض تونیک روده کوچک را مهار می‌کند. در ژنوم انسان نیز NO برون‌زاد، انقباض خود به خودی را مهار و عضله صاف را شل می‌کند (۱۱). از این رو احتمال درگیر بودن این مسیر را در عمل ضداسپاسمی فلاونوئیدهای برگ جعفری از طریق به کارگیری L-NAME که یک مهارکننده سنتز NO است، مورد آزمایش قرار دادیم.

نیتریک اکساید سینتتاز طی دو مرحله واکنش، از L-آرژنین، NO تولید می‌نماید. از این رو، در طول واکنش اکسیداسیون، NO به واسطه‌ی NOS از L-آرژنین و اکسیژن تولید می‌گردد (۱۱). آنزیم گوانیل سیکلاز سیتوزولی از مهم‌ترین سوبستراهای NO بوده که از طریق غلظت فیزیولوژیک NO فعال شده و سبب تولید cGMP می‌گردد (۱۰، ۲۴). NO برای ایفای نقش شل‌کنندگی خود، گوانیل سیکلاز (GC) محلول را فعال کرده تا cGMP ساخته شود (۲۰). سوبسترای گوانوزین-5-تری فسفات (GTP) برای تشکیل cGMP (تبدیل GTP به cGMP) و حلقوی شدن، از دو گوانیل سیکلاز اساسی مشخص، یعنی گوانیل سیکلاز حساس به NO و گوانیل سیکلاز فعال شده ناشی از NP (پپتید ناتریوتیک) که در غشاء قرار گرفته است استفاده می‌کند. فعالیت GC به طور قابل ملاحظه‌ای در پاسخ به غلظت داخلی NO می‌باشد (۲۵). فعال شدن گوانیل سیکلاز منجر به افزایش غلظت cGMP در عضله صاف می‌شود. cGMP مستقیماً روی کانال‌های یونی اثر می‌گذارد و هم‌چنین پروتئین کینازهایی را فعال کرده که از طریق آن‌ها، فعالیت دیگر پروتئین‌های درگیر از

فلاونوئیدها بر تون معده موش، دریافتند که همه فلاونوئیدهای مورد آزمایش (اپیزین، جنیستین، کوئرستین و غیره) باعث شل‌شدگی معده می‌شوند (۱۲). هم‌چنین باید خاطر نشان کرد که از جمله فلاونوئیدهایی که در جعفری یافت شده‌اند، لوتئولین، اپیزین، کوئرستین و روتین می‌باشند (۱۹).

در مدل‌های آزمایشگاهی، برای بررسی فعالیت‌های ضد انقباضی و یا مکانیسم عمل عصاره‌های گیاهی، عموماً از KCl برای ایجاد انقباض استفاده می‌شود (۲۰)، زیرا یک ماده‌ی با ارزش برای تحریک عضله صاف است و این کار را از طریق تغییر در تعادل پتاسیم و نگه داشتن پتانسیل غشاء در بالاتر از سطح استراحت انجام می‌دهد (۲۱). در حقیقت KCl باعث دپولاریزاسیون فیبرهای عضله صاف و افزایش پتاسیم می‌شود. غلظت بالای پتاسیم، کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ (VDCC) را باز می‌کند و موجب انقباض عضله صاف می‌شود (۲۰). بر طبق گزارشات، نوع L این کانال‌ها در ایلئوم موش صحرایی وجود دارد. این نوع از کانال‌های کلسیمی از طریق یک دپولاریزاسیون قوی فعال می‌شوند (۲۲). هم‌چنین اظهارات بر این است که موادی که بتوانند انقباض عضله صاف ایجاد شده ناشی از KCl را کاهش دهند، از طریق مهار این کانال‌ها عمل می‌کنند (۱۲). بر این اساس فلاونوئیدهای کل برگ جعفری احتمالاً از طریق مهار این کانال‌ها و ممانعت از جریان کلسیم، سبب مهار انقباضات ناشی از KCl می‌گردند.

در ادامه این پژوهش، اثر عصاره فلاونوئیدی بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرید پتاسیم در حضور L-NAME که یک مهارکننده آنزیم NOS می‌باشد به منظور بررسی نقش NO بررسی شد. هم‌چنین مقایسه اثر عصاره فلاونوئیدی بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرید پتاسیم در حضور و غیاب L-NAME نیز مقایسه شد. فعالیت ریتمیک و خود به خودی عضلات صاف گوارشی از سلول‌های کاجال درون شبکه‌ای ناحیه میانتریکی لوله گوارش منشأ می‌گیرد (۱۱) و حرکت سیستم گوارشی به وسیله فاکتورهای

به هر حال گزارش‌های متناقضی از اثرات NO بر عضله صاف طولی دستگاه گوارش وجود دارد. در مطالعاتی که انجام شد، مشخص شد که در عملکرد ضد انقباضی عصاره آبی الکلی بذر جعفری دخالتی ندارد. هم‌چنین مطالعاتی که در زمینه نقش NO در اثر شل‌کنندگی سه گیاه شوید (۲۰)، رزماری (۲۷) و پیاز (۲۸) انجام شد، به عدم دخالت نیتریک اکساید منتج گردید. اما در مورد عصاره برگ سداب، نقش NO در اثر شل‌کنندگی عصاره، مثبت ارزیابی شد (۱۸).

### نتیجه‌گیری

مقایسه آماری اثر عصاره فلاونوئیدی بر انقباض ایلتوم ناشی از KCl در حضور و غیاب L-NAME نشان می‌دهد که L-NAME در غلظت‌های ۱، ۲، ۴ و ۸ توانسته به صورت وابسته به مقدار غلظت از اثرات شل‌کنندگی فلاونوئیدهای برگ جعفری بر انقباض ایلتوم ناشی از KCl جلوگیری کند، اما از نظر آماری معنی‌دار نبود. با این وجود، تفاوت در اثر مهارى غلظت ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره در حضور و غیاب L-NAME حاکی از آن است که عصاره فلاونوئیدی در مقادیر بالاتر برای ایجاد اثر شل‌کنندگی خود احتمالاً از طریق سیستم NO عمل می‌کند، اما در این آزمایش با توجه به محدودیت حجم حمام بافت برای استفاده از غلظت‌های بالاتر عصاره فلاونوئیدی، امکان استفاده از مقادیر بالاتر امکان‌پذیر نبود.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از یک کار پایان‌نامه است که توسط گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز حمایت مالی شده است. بدین وسیله محققان از این گروه کمال تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورند.

### منابع

1. Kagyung R, Gajurel P, Rethy P, Singh B. Ethnomedicinal plants used for gastro-intestinal diseases by Adi tribes of Dehang-Debang Biosphere Reserve in Arunachal Pradesh.

طریق فسفوریلاسیون تنظیم می‌شود (۱۱). پروتئین کیناز (PKG)G ورود کلسیم را مهار کرده و حساسیت عناصر انقباضی به کلسیم را نیز کاهش می‌دهد (۱۱، ۲۰). اثرات گشادکنندگی عروقی NO و دهنده‌های NO (مثل سدیم نیتروپروسید (SNP) از طریق cGMP، PKG و سوبستراهایی مثل MLC فسفاتاز و کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم صورت می‌گیرد. بخشی از این اثر، طی افزایش cGMP/PKG، مواردی از قبیل کانال‌های یونی وابسته به نوکلئوتیدهای حلقوی و فسفودی استرازاها را فعال می‌کند. در هر صورت، غلظت‌های ویژه‌ای که cGMP این مواد را به وسیله آن‌ها فعال می‌کند از نانومولکولی تا میکرومولکولی است.

cGMP به عنوان یک پیام رسان ثانویه در بسیاری از گونه‌ها از کپک تا انسان یافت شده است و عملکردهای بیولوژیکی متفاوت و متنوعی در بیولوژی پستانداران دارد؛ از جمله تجمع پلاکت‌ها، ارسال پیام در سیناپس‌ها، ترشح مایع گوارشی و شل‌شدگی عضلات عروقی (۲۵). مکانیسم‌های زیر برای شل‌شدگی ناشی از cGMP ذکر شده‌اند:

- ۱) کاهش جریان ورود کلسیم
  - ۲) افزایش جذب کلسیم از طریق شبکه سارکوپلاسمی
  - ۳) دخالت پروتئین کینازها
  - ۴) افزایش جریان پتاسیم فعال شده در اثر کلسیم
- بنابراین به نظر می‌رسد اثر مهارى cGMP بر حرکت عضله صاف با تنظیم همئوستازی کلسیم همراه است (۲۳). قابل ذکر است که مهم‌ترین عملکرد فیزیولوژیک NO، گشادسازی عروق و استراحت عضلات صاف عروقی در سیستم گردش خون می‌باشد. هم‌چنین NO سبب فعال‌سازی کلسیم ATPase شبکه سارکوپلاسمی و پایین آوردن سطح کلسیم سیتوزولی می‌گردد، از این رو در شرایط آزمایشگاهی به شکل وابسته به غلظت سبب شل شدن عضلات حلقوی می‌گردد که cGMP نیز در این شرایط این اثر را اعمال می‌کند (۲۶).

- Indian journal of traditional knowledge. 2010; 9(3):496-501.
2. Seyyednejad S, Maleki S, Damabi NM, Motamedi H. Antibacterial activity of *Prunus mahaleb* and Parsley (*Petroselinum crispum*) against some pathogen. *Asian J Biol Sci.* 2008; 1:51-5.
  3. Dey A, De JN. Ethnobotanical survey of Purulia district, West Bengal, India for medicinal plants used against gastrointestinal disorders. *Journal of ethnopharmacology.* 2012; 143(1):68-80.
  4. Hu J, Gao W-Y, Gao Y, Ling N-S, Huang L-Q, Liu C-X. M3 muscarinic receptor-and Ca<sup>2+</sup> influx-mediated muscle contractions induced by croton oil in isolated rabbit jejunum. *Journal of ethnopharmacology.* 2010; 129(3):377-80.
  5. Moazedi A, Mirzaie D, Seyyednejad S, Zadkarami M, Amirzargar A. Spasmolytic effect of *Petroselinum crispum* (Parsley) on rat's ileum at different calcium chloride concentrations. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS.* 2007; 10(22):4036-42.
  6. Dambros M, de Jongh R, van Koevinge GA. Low concentrations of the flavonoid galangin prevents bladder smooth muscle fatigue. *Urologica applicada.* 2008; 21(4): 259-67.
  7. Cushnie TT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents.* 2005; 26(5):343-56.
  8. Lipscombe D, Helton TD, Xu W. L-type calcium channels: the low down. *Journal of neurophysiology.* 2004; 92(5):2633-41.
  9. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Roghani Dehkordi F. The Involvement of L-type voltage-operated calcium channels in the vascular effect of quercetin in male rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* 2010:199-202.
  10. Guix F, Uribealago I, Coma M, Munoz F. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain. *Progress in neurobiology.* 2005; 76(2):126-52.
  11. Grasa L, Rebollar E, Arruebo M, Plaza M, Murillo M. The role of NO in the contractility of rabbit small intestine in vitro: effect of K<sup>+</sup> channels. *Journal of physiology and pharmacology.* 2005; 56(3):407-19.
  12. Amira S, Rotondo A, Mulè F. Relaxant effects of flavonoids on the mouse isolated stomach: Structure-activity relationships. *European journal of pharmacology.* 2008; 599(1):126-30.
  13. Naseri M, Yahyavi H. Antispasmodic effect of *Piper nigrum* fruit hot water extract on rat ileum. *Pak J Biol Sci.* 2008; 11(11):1492-6.
  14. Estrada-Soto S, Rodríguez-Avilez A, Castaneda-Avila C, Castillo-Espana P, Navarrete-Vázquez G, Hernández L, et al. Spasmolytic action of *Lepechinia caulescens* is through calcium channel blockade and NO release. *Journal of ethnopharmacology.* 2007; 114(3):364-70.
  15. Tanovic A, Jiménez M, Fernández E. Lack of effect of nitric oxide on KCl, acetylcholine and substance P induced contractions in ileal longitudinal muscle of the rat. *Life sciences.* 2000; 67(5):531-41.
  16. Farhadi M, Jameie SB, Hayat P. Study of the antioxidant effects of total and flavonoids extracts of *Cuscuta*. *Razi Journal of Medical Sciences* 2011; 18(90): 17-26.[Persian]
  17. Zarei M, Amiri O. Spasmolytic effect of *Vitis vinifera* leaf extract on rat colon. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2006; 14(4):203-7.
  18. Moazedi A, Dabir N, Naseri M, Zadkarami M. The role of NO and cGMP in antispasmodic activity of *Ruta chalepensis* leaf extract on rat ileum. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS.* 2010; 13(2):83-7.
  19. Patil RB, Vora RS, Pillai MM. Antioxidant effect of plant extracts on phospholipids levels in oxidatively stressed male reproductive organs in mice. *Iranian Journal of Reproductive Medicine.* 2009; 7(1):35-9.
  20. Ventura-Martínez R, Rivero-Osorno O, Gómez C, González-Trujano ME. Spasmolytic activity of *Rosmarinus officinalis* L. involves calcium channels in the guinea pig ileum. *Journal of ethnopharmacology.* 2011; 137(3):1528-32.
  21. Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. *American Journal of Physiology-Cell Physiology.* 2005; 288(4):C769-C83.



22. Albert A, Large W. Store-operated Ca<sup>2+</sup>-permeable non-selective cation channels in smooth muscle cells. *Cell calcium*. 2003; 33(5):345-56.
23. Kim YC, Choi W, Sung R, Kim H, You RY, Park S-M, et al. Relaxation patterns of human gastric corporal smooth muscle by cyclic nucleotides producing agents. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*. 2009; 13(6): 503-10.
24. Arzumani V, Stankevicius E, Laukeviciene A, Kevelaitis E. [Mechanisms of nitric oxide synthesis and action in cells]. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*. 2002; 39(6):535-41.
25. Ciganda C, Laborde A. Herbal Infusions Used for Induced Abortion: ARTICLE. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*. 2003; 41(3): 235-9.
26. Herrera MD, Zarzuelo A, Jiménez J, Marhuenda E, Duarte J. Effects of flavonoids on rat aortic smooth muscle contractility: structure-activity relationships. *General Pharmacology: The Vascular System*. 1996; 27(2):273-7.
27. Naseri MG, Heidari A. Antispasmodic effect of *Anethum graveolens* fruit extract on rat ileum. *Int J Pharmacol*. 2007; 3:260-4.
28. Gharib Naseri MK, Yahyavi H, Arabian M. Antispasmodic Activity of Onion (*Allium cepa* L.) Peel Extract on Rat Ileum. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2008; 7 (2): 155-9.[Persian]