

تحري أوجه التوسع الوعائي لخلاصة الأخيلية مقارنة بموسعات وعائية دوائية

سوسن الماضي**

وائل الأغواني*

أنطون اللحام***

الملخص

خلفية البحث وهدفه: تمت دراسة التأثير الموسع الوعائي في عدة مستويات للخلاصة الإيثانولية المحضرة من الأجزاء الهوائية لنبات الأخيلية *Achillea Fragrantissima* المنتمي للفصيلة المركبة *Asteraceae*، وذلك في الحلقات الأبهريّة المعزولة من الأرنّب.

مواد البحث وطرائقه: جرى تحري دور قنوات البوتاسيوم والمستقبلات الأدرينرجية β_2 باستعمال الحاصر النوعي لكل منهما على التوالي: الكاريبدوتوكسين *Charybdotoxine* والبروبرانولول *Propranolol*، وذلك في الحلقات مسبقّة التقلص بالفينيل إيفرين. وفي مجموعة أخرى من التجارب استعمل سائل كريبس الخالي من الكالسيوم وحقن الفينيل إيفرين متبوعاً بإعادة حقن أيونات الكالسيوم إلى الوسط، وهذا الإجراء أعيد بوجود الخلاصة لأجل تبيان تأثيرها في التقلص الأولي الناجم عن تحرر الكالسيوم من مخزّناته الداخلية (بفعل الفينيل إيفرين)، وفي التقلص الناجم عن دخول الكالسيوم من القنوات الخارجية بعد إعادة حقن الكالسيوم. أخيراً، جرى استعمال الدوائيين الموسعين: الديلتيازيم *Diltiazem* والبرازوسين *Prazocine* كمرجعين للمقارنة ولتقييم التأثير المرخي للخلاصة النباتية.

النتائج: أظهرت الخلاصة تأثيراً مرخياً للحلقات الأبهريّة مسبقّة التقلص بالفينيل إيفرين، واتضح أنّ جزءاً من هذا الفعل مرتبط بقنوات البوتاسيوم والمستقبلات الأدرينرجية β_2 . وفي مجموعة التجارب التي استعمل فيها سائل كريبس الخالي من الكالسيوم اتضح أنّ الخلاصة تثبيطاً للتقلص الأولي الناجم عن تحرر الكالسيوم من مخزّناته الداخلية (بفعل الفينيل إيفرين)، وعلى التقلص الناجم عن دخول الكالسيوم من القنوات الخارجية بعد إعادة حقن الكالسيوم، وهذا الأخير هو الأقوى، وفي ذلك تشابهت خلاصة الأخيلية مع تأثير الديلتيازيم. الاستنتاج: التأثير الموسع الوعائي للخلاصة الإيثانولية مرتبط إلى حد كبير - بقنوات الكالسيوم، وفي ذلك حاجة ملحة لعزل المكون أو المكونات الفعالة المسؤولة ودراسة تأثيرها على حدة.

الكلمات المفتاحية: الأخيلية *Achillea Fragrantissima*، الحلقات الأبهريّة، الفينيل إيفرين، الديلتيازيم والبرازوسين.

* قسم العلوم الصيدلانية - كلية الصيدلة - الجامعة الدولية الخاصة للعلوم والتكنولوجيا.

** أستاذ - قسم تأثير الأدوية والسموم - كلية الصيدلة - جامعة دمشق.

*** أستاذ - قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلية - كلية الصيدلة - جامعة دمشق.

Detection the Vasodilator Aspects of *Achillea Fragrantissima* Ethanolic Extract in Comparison with Vasodilator Drugs

Wael Al-Aghawani^{*}

Sawsan Al-Madi^{**}

Anton Al-Lahham^{***}

Abstract

The background and the aim: The vasodilator effect of ethanolic extract of *Achillea Fragrantissima* (Asteraceae) was detected at several levels in isolated and phenylephrine- precontracted rabbit aortic rings. **Materials and methods:** First, The role of potassium channels and β_2 receptors was determined by using the selective blockers for each of them: Charybdotoxine and Propranolol, respectively. Secondly, there was a set of experiments in which a Ca^{+2} free Krebs solution was used and phenylephrine contracted the rings following by re-injection of Ca^{+2} ions to the medium, this step was repeated in the presence of the extract. **The vasodilator drugs:** Diltiazem and Prazocine were used as reference and for evaluation. **Results:** This extract showed a profound relaxing effect on phenylephrine- precontracted aortic rings, which was partially related to potassium channels and β_2 receptors. In experiments that used Ca^{+2} free Krebs solution, the extract inhibited partially the first phase contraction (phenylephrine contraction) and the second phase contraction which is due for calcium entry via calcium channels, with more potent for the last one and this was similar to Diltiazem. **Conclusion:** the vasodilator effect of ethanolic extract of *Achillea Fragrantissima* is largely related to calcium channels and this emphasizes the need for isolation of related compound(s).

Key words: *Achillea Fragrantissima*, aortic rings, phenylephrine, Diltiazem and prazosin.

* Prof. Dept. of pharmaceutical science, Faculty of pharmacy, the International University For Science and technology.

** Prof. Dept. of toxicology and pharmacology, Faculty of pharmacy, Damascus University.

*** Prof. Dept. pharmaceutical technology, Faculty of pharmacy, Damascus University.

مقدمة Introduction

فيزيولوجية وتحويه كثير من النباتات الطبية، وتأتي الفلافونويدات في طليعة الزمر التي يحويها نبات الأخيلية (5) وخاصة المركبات: Apigenin، Luteolin، Quercetin، و Cirsiliol التي يعد كل منها بمفرده مادة فعالة ذات خصال مفيدة. وتشكل مركبات الكومارينات وعلى وجه التحديد مادة scopoletin مكوناً مهماً تعزى إليه فوائد شتى (6).

ومن بين النواحي المفيدة التي تحوزها الأخيلية تلك المرتبطة بالفعالية الوعائية، وتحديدًا الخاصة الموسعة للأوعية الدموية التي وجدت في بعض أنواعها (7). ومن هنا كان الدافع إلى إجراء هذه الدراسة والتحري عن التأثير الموسع للخلاصة الإيثانولية للأخيلية من نوع *fragrantissima*، ودور كل من قنوات البوتاسيوم، المستقبلات الأدرينرجية β_2 ، وأيونات الكالسيوم داخلية وخارجية المنشأ في الفعل الموسع، ومقارنة التأثير بالموسعات الدوائية النموذجية المرجعية، الديلتيازيم والبرازوسين، ليتم بعدها التحري عن التآزر الممكن بين هذه الموسعات وبين الخلاصة الإيثانولية للأخيلية.

الطرائق Methods

جمع النبات: جمع النبات بحالة طازجة وهو في أوج طور الإزهار خلال شهر آب من أماكن وجوده في المناطق الجبلية النائية في منطقة بلودان بريف دمشق، وتم التعرف إليه من خلال رائحته العطرية المميزة وشكل الأزهار والأوراق وبمساعدة بعض المصنفين النباتيين. جففت الأوراق، وهي الجزء المستعمل، بعد فصلها بدرجة حرارة الغرفة العادية وبالظلام ثم سحقت بشكل ناعم وحفظت في أكياس كتيمة ومعزولة بعيداً عن الضوء والحرارة والرطوبة إلى حين الاستعمال.

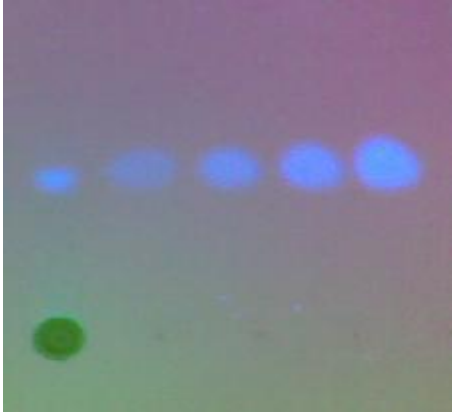
تحضير الخلاصة الإيثانولية: استخلص 100 غ من مسحوق الأوراق المجففة بـ 1000 مل مزيج إيثانول/

نبات الأخيلية *Achillea* من النباتات العطرية المنتشرة بوفرة في البيئة السورية ومعروف من قبل معظم السكان المحليين في أماكن وجوده في المناطق المرتفعة المعتدلة، أزهاره الصفراء الصغيرة ورائحته العطرية الفواحة تميزه وتشد الأنظار إليه أينما وجد. وهو نبات عشبي معمر، يراوح ارتفاعه بين 20 و 120 سم، أوراقه مركبة ريشية مضاعفة، يزهر في أشهر الصيف الأولى. وجنس الأخيلية العائد للفصيلة النباتية المركبة *Asteraceae* يحتوي على أكثر من 80 نوعاً ينمو العديد منها في سورية، وأهمها *fragrantissima*، الشكل 1.



الشكل 1: الأخيلية من نوع *Achillea fragrantissima*.

ونظراً إلى انتشاره فقد كانت هناك بعض الاستعمالات الشائعة له لحالات معينة كوقف الأنزفة الرئوية والهضمية ومعالجة القرحة المعدية (1)، وقد تعززت كثير من المعتقدات حوله بتأكيدات علمية أثبتت أن له فوائد ويمكن الاستفادة منه طبياً يمكن ذكر بعضها على سبيل المثال لا الحصر: الخاصية المضادة للالتهاب (2) والداعمة للمناعة (3) والخاصية الخافضة للسكر (4). ولعل هذه الخصائص غير الغريبة لهذا النبات الذي يحوي العديد من المكونات الفعالة المتنوعة وبعضها معروف بخصائص



الشكل 3: ترحيل الخلاصات الأربع على طبقة رقيقة يكشف عن وجود مادة السكوبوليتين بكميات معتبرة في الخلاصة. (سائل الترحيل: كلوروفورم 40، تولول 40، خلات الإيثيل 20، حمض الخل 2).

عزل الشريان الأبهر وتحضير الحلقات الوعائية Aortic rings: استخدمت أرانب ذكور بالغة بأعمار متقاربة من الفصيلة ذاتها، أوزانها تراوح بين 2.5-3 كغ. ضُحي بالحيوانات يوم التجربة بنحر الرقبة، وبعد فتح القفص الصدري تم مباشرة عزل كامل الشريان الأبهر وأخذ بعناية بدءاً من نقطة خروجه من القلب حتى منطقة الحجاب الحاجز ونُظف جيداً من الأنسجة الضامة والشحمية المحيطة به بعد وضعه في محلول كريبس، قطعت الحلقات من القسم الصدري النازل من الشريان thoracic aorta باستعمال الأدوات الجراحية الدقيقة (مقص وملقط شعري مجهري) وكان طول كل حلقة 1.5 ملم تقريباً.

تم العمل على جهاز الأعضاء المعزولة I.O.S المكون من أربعة حمامات مائية وجهاز ناقل حركة مرافق لكل حمام نوع Isometric transducer ومضخم إشارة ورأسمة ورقية تتيح تسجيل الحركة وحوض تسخين خارجي يتيح تدفق ماء التسخين الخارجي بين الحمامات المائية للحفاظ على درجة حرارة 37°م، وكل حمام مكون من حجرة داخلية سعتها 20 مل وضع بداخلها محلول كريبس ذو التركيب الآتي [mM]:

ماء (30 /70) بالنقع والرج في دورق مدة 24 ساعة بمعزل عن الضوء، ثم بخر الإيثانول بالخلاء بالمبخر الدوار ونقلت البقية المائية إلى دوارق جهاز التجفيد وأخضعت لعملية التجفيد مدة 24 ساعة انتهت بالحصول على مسحوق جاف تماماً.

الترحيل على طبقة رقيقة TLC Fingerprint:

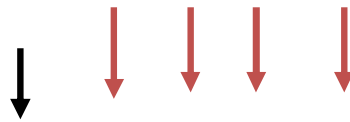
أجريت عملية التفريق اللوني على طبقة رقيقة TLC للخلاصات المستخدمة، وباستخدام سائل ترحيل مكون من: كلوروفورم/ خلات الإيثيل: 5/95، الشكل 2.



الشكل 2: ترحيل خلاصة الأخييلية الكحولية على صفيحة رقيقة.

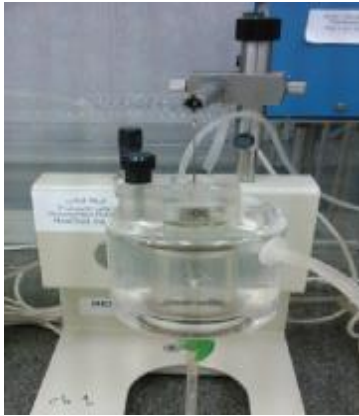
الترحيل على طبقة رقيقة يكشف عن وجود كميات معتبرة من السكوبوليتين في الخلاصات السابقة:

بناء على نتائج الفقرة السابقة، أجري الترحيل على طبقة رقيقة من جديد بهدف التحري عن مادة موجودة بكميات معتبرة وهي السكوبوليتين scopoletin، الذي جرى إحضارها على شكل مادة عيارية وترحيلها مع الخلاصات، وبالمقارنة نجد أن هذه المادة موجودة في الخلاصات، الشكل 3.



ستيل، الشكل 4. الخطاف العلوي يوصل مباشرة إلى ناقل الحركة السابق، أما الخطاف السفلي فهو ثابت لا يتحرك، الحركة التقلصية وتغيراتها كانت تقاس على الراسمة الورقية.

NaCl 119, KCl 4.7, NaHCO₃ 25, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1, KH₂PO₄ 1.2 and D-Glucose 11. نقلت كل حلقة وحدها إلى حمام مائي حارٍ لمحلول كريبس بدرجة 37°م ودرجة باهاء PH=7.4، مع ضخ الأكسجين إلى داخل الحمام بشكل مستمر عبر مسرب خاص. وعلقت بين خطافين على شكل حرف L من الستانليس



الشكل 4: الحلقة معلقة بين خطافين بداخل الحمام المائي.

جميعها. عدد الحلقات في كل تجربة 8 حلقات، وكل حلقة مأخوذة من حيوان مختلف. تحديد الفعل المرخي للخلاصة النباتية على الحلقات مسبقاً للتقلص بالفينيل إيفرين: استعملت مجموعة من الحلقات سليمة البطانة (8 حلقات)، فضلاً عن مجموعة شاهدة أبقيت المدة الزمنية نفسها المستغرقة في التجربة للمجموعات، وجرت الخطوة كما يأتي: بعد الحصول على تقلص ثابت الشدة ومديد للحلقات الوعائية سليمة البطانة باستخدام الفينيل إيفرين على النحو الذي ذكر سابقاً، بيتدئ العمل بالإضافة المتدرجة والتراكمية cumulatively (جرعة إثر جرعة) لمحلول الخلاصة النباتية المفحوصة إلى الحمام المائي المعلقة ضمنه الحلقة الأبهرية، ومن ثم ملاحظة التغيرات الحاصلة على منحني التقلص الأولي للحلقة. تمت الإضافات للخلاصة النباتية بعد إذابة 20 ملغ من

خطوات الدراسة Study protocol

التهيئة الأولية للحلقات: بعد تعليق الحلقات في الحمام المائي أخضعت إلى قوة شد سلبية Resting tension تعادل 1 غرام، وبعد مرور 30 دقيقة اختبرت قابلية الحلقات للتقلص بواسطة الفينيل إيفرين، ومن ثم فحص عمل البطانة بواسطة الأستيل كولين 3×10^{-6} M، يدل حدوث الاستجابة الارتخائية للاستيل كولين (ارتخاء 50% وأكثر) على الوجود الوظيفي للبطانة. وتمت المحافظة على سلامة البطانة في تجارب البحث كلها. غسلت بعد ذلك الحلقات بمحلول كريبس حتى العودة إلى مستوى التوتر الأولي، وبقيت بعده مدة توازن تبلغ 90 دقيقة. بعدها أضيف الفينيل إيفرين إلى الحمام المائي بحيث يكون تركيزه 10^{-6} M ضمن الحمام المائي، وتم الانتظار حتى الحصول على التقلص الأعظم ولتبدأ بعد ذلك الخطوات اللاحقة جميعها، فهذه الخطوة أساسية في مراحل العمل

إيفرين) يؤدي إلى تحرر الكالسيوم عبر هذين الطريقتين (9، 10)، ولأجل التفريق في التأثير المرخي للمواد أو الخلاصات النباتية على الطريقتين الداخلي والخارجي للكالسيوم أعد محلول كريبس خاص له مكونات محلول كريبس السابق نفسه إلا أيونات الكالسيوم فقد حذفت منه وأضيف إليه مركب EGTA كمادة مستخلبة لضمان خلو الكالسيوم تماماً. وعمد إلى حضان الحلقات الأبهريّة بذلك المحلول لنصف ساعة ثم أضيف الفينيل إيفرين بتركيز 10-6 مول فأحدث تقلصاً ضئيلاً ذا طور واحد عائد للكالسيوم داخلي المنشأ، وبعد ثبات منحنى التقلص عند مستوى ثابت أضيف إلى الحمام المائي أيونات الكالسيوم على شكل $CaCl_2$ بتركيز يعادل 2.5 ميلي مول، فعادت الحلقة وتقلصت تقلصاً إضافياً بشكل قوي ومديد وهذا التقلص مرده إلى دخول الكالسيوم عبر قنوات الكالسيوم المتمركزة على سطح غشاء الليف العضلي. وعدت الحلقات والحالة هذه شاهدة إيجابية لأنه بعد ذلك جرى غسلها عدة مرات حتى عادت إلى مستواها الأول قبل التقلص، وغمرت في المرة الأخيرة من الغسيل بمحلول كريبس الخالي من الكالسيوم، ثم حضنت بتركيز مختلفة من الخلاصة النباتية لمدة 20 دقيقة وأعيد الإجراء نفسه وفي ذلك تبيان لتأثير الخلاصة في تحرر الكالسيوم من مخزناته الداخلية، أو إعاقته دخوله عبر قنوات الكالسيوم المعتمدة على الكمون.

إعطاء الموسعات الوعائية المرجعية (الديلتيازيم والبرازوسين): جرى تنفيذ مجموعة تجارب أعطي فيها الموسعان الوعائيان: الديلتيازيم والبرازوسين اللذان يختلفان عن بعضهما بأية التأثير، وذلك بعد تجهيز الحلقات الأبهريّة وتقليصها بالفينيل إيفرين.

الديلتيازيم جرى حله في الماء المقطر، بعد التأكد من أنه حلول تماماً في الماء، وذلك بتركيز معين لتجري بعد ذلك الإضافة من هذا المحلول الأساسي إلى الحلقات الأبهريّة

المسحوق الجاف للخلاصة في 250 ميكرولتراً من سائل كريبس نفسه المستخدم، لتتم بعده الإضافة من هذا المحلول إلى الحمام المائي تدريجياً بواسطة الممص الآلي. أضيف إلى مجموعة الحلقات الشاهدة سائل كريبس فقط بالطريقة نفسها وبالأحجام نفسها المضافة إلى الحلقات المعالجة بالخلاصة.

تحديد دور قنوات البوتاسيوم و مستقبلات β_2 : لأجل تحري دور قنوات البوتاسيوم وخاصة من نوع المنشطة بالكالسيوم (large- conductance Ca^{2+} - activated K^+ channels) (BKC) جرت إضافة الحاصر النوعي إلى هذه القنوات وهو مركب Charybdotoxine (8). ولدراسة تواسط المستقبلات الأدرينرجية β_2 في العملية الإرخائية عمدنا إلى إضافة حاصر هذه المستقبلات وهو مركب البروبرانولول Propranolol. جرت إضافة المركبين السابقين إلى حمام كل حلقة معزولة في المجموعة المدروسة قبل 30 دقيقة من إضافة الفينيل إيفرين لإحداث التقلص، وبعد وصول التقلص إلى أقصاه أضيفت الخلاصة النباتية كما فعلنا سابقاً. الكاربيدوتوكسين حلول بالماء وحضر منه محلول أم بتركيز 10-4 مول في الماء المقطر وأخذت منه أحيذة بالميكروبيبيت أضيفت إلى الحمام المائي ليصبح تركيزه 10-7 مول. والشيء نفسه انطبق على البروبرانولول ولكن أضيف بتركيز نهائي في الحمام يعادل 10-5 مول.

التفريق في تأثير الخلاصة بين أيونات الكالسيوم خارجية المنشأ وتلك المنحرة من الشبكة الهيولية العضلية الداخلية: ما دامت أيونات الكالسيوم التي تسهم في عملية التقلص في الليف العضلي الأملس تأتي بواسطة طريقتين أساسيين: إما الدخول من خارج الليف العضلي عبر قنوات الكالسيوم المعتمدة على الكمون، أو التحرر من المخزونات الداخلية وهي الشبكة الهيولية؛ والتقلص بالمقلصات الوعائية التي تنبه مستقبلات α_1 (كالفينيل

الخاص بالمجموعات غير المستقلة حين دراسة التغيرات التي تطرأ على المجموعات نفسها نتيجة إخضاعها للمعالجة اللاحقة (حالة التجارب في محلول كريبس الخالي من الكالسيوم).

ويعتمد مستوى تقدير الأهمية الإحصائية P لتحديد الفروق المعتمد بها ما بين المجموعات المختلفة وإقرارها عند مستوى مساوٍ أو أقل من 5% ($P \leq 0.05$). ومن أجل تعبير مناسب واضح لقوة الخلاصة النباتية الإرخائية وتغيّر هذه القوة بتغير الظروف التجريبية المختلفة حسب جرعة الخلاصة المسببة لـ 50% من الارتخاء (IC50) بطريقة رياضية اعتماداً على الخط البياني والمعادلة اللوغاريتمية التي تربط بين المتغيرين الرئيسيين، الجرعة والنسبة المئوية للارتخاء.

النتائج Results

أ- الفعل المرخي للخلاصات النباتية في الحلقات مسبقة التقلص بالفينيل إيفرين:

أحدث تطبيق الفينيل إيفرين بجرعة M 10-6 على الحلقات الأبهريّة المعزولة تقلصاً وعائياً قوياً ومديداً، وحال وصول هذا التقلص إلى العتبة القصوى الثابتة Plateau تم البدء بإضافة الخلاصة النباتية المحضرة بتركيز متزايدة متراكمة (جرعة إثر جرعة)، الشكل 5. وقد أحدثت الخلاصة الإيثانولية ارتخاءً واضحاً لهذه الحلقات الأبهريّة المتقلصة مقارنة بمجموعة الشاهد ($P \leq 0.05$) التي تم تسريب الحامل المائي (سائل كريبس) لها فقط في حمام العضو المعزول، الشكل 6. وبلغت قيمة الـ IC50 292 ملغ/لتر.

المتقلصة. أمّا شأن البرازوسين فهو لا ينحل بالوسط المائي، وعليه جرت الاستعانة بمادة الـ DMSO لخله وتجهيز محلول منه جرت الإضافة منه فيما بعد إلى الحلقات الأبهريّة، وهذا ما استلزم إعداد مجموعة شاهدة خاصة بالبرازوسين أضيف فيها إلى الحلقات الأبهريّة مسبقاً التقلص مادة الـ DMSO فقط و الحجم والكميات المضافة إلى تلك المعالجة بالبرازوسين نفسها حتى ننفي أن الفعل المرخي للبرازوسين تشاركه فيه أو تؤثر هذه المادة المخلّة.

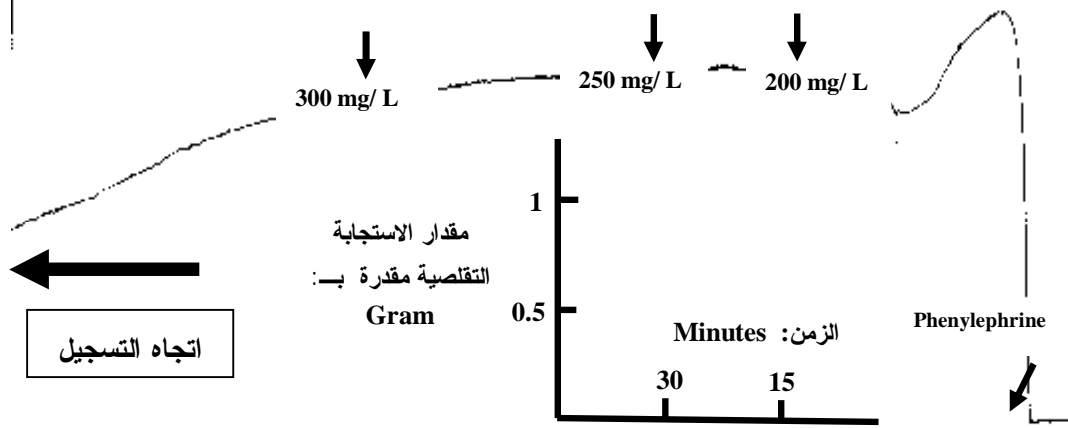
تحري التآزر الممكن بين خلاصة الأخبيلية والموسعات السابقة: هدف هذه التجارب كان تبيان الاستفادة من وجود خلاصة الأخبيلية الإيثانولية على الفعل للموسعات الوعائية السابقة: الديلتيازيم والبرازوسين، حيث حضنت الحلقات الأبهريّة بخلاصة الأخبيلية الإيثانولية (250 ملغ/لتر) مدة نصف ساعة وقبل تطبيق الفينيل إيفرين، وبعد وصول التقلص إلى مده الأقصى الثابت جرى البدء بحقن الموسعين السابقين كما أسلف ذكره.

الدراسة الإحصائية: قدمت النتائج على شكل نسب مئوية لتثبيط تقلص الفينيل إيفرين للحلقات بفعل تأثير الخلاصات بجرعاتها المختلفة (الارتخاء)، وكان التعبير عنها على الشكل التالي:

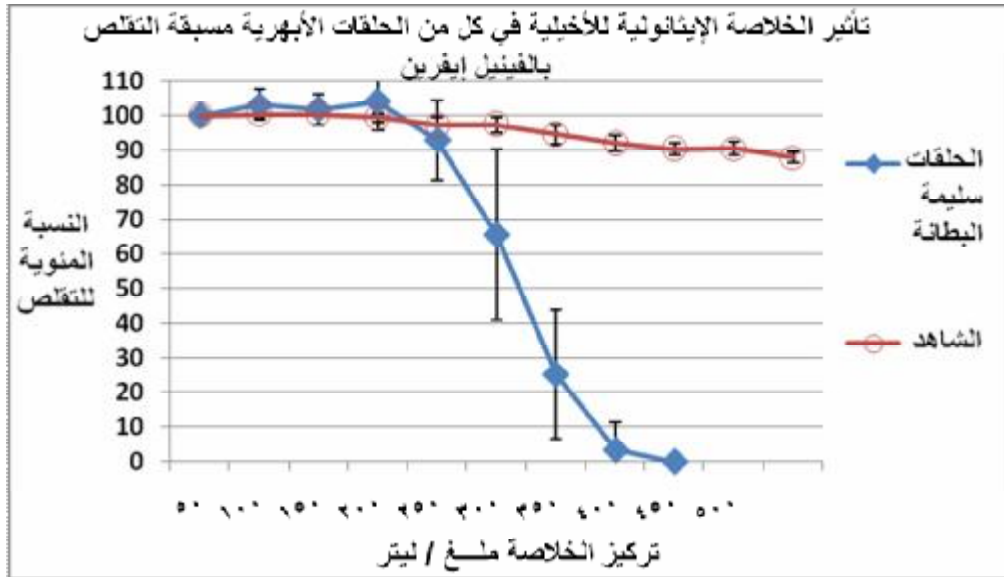
$$\text{الوسطي} \pm \text{الخطأ المعياري للوسطي} \pm \text{Mean}$$

Standard error of mean.

طبق اختبار ستينودنت للعينات صغيرة الحجم للمجموعات المستقلة عند المقارنة بين المجموعات المختلفة التي خضعت للمعالجة بالخلاصات النباتية التي خضعت لشروط تجريبية معينة (إعطاء الكاربيدوتوكسين والبروبرانولول). كما طبق الاختبار نفسه ولكن بنوعه



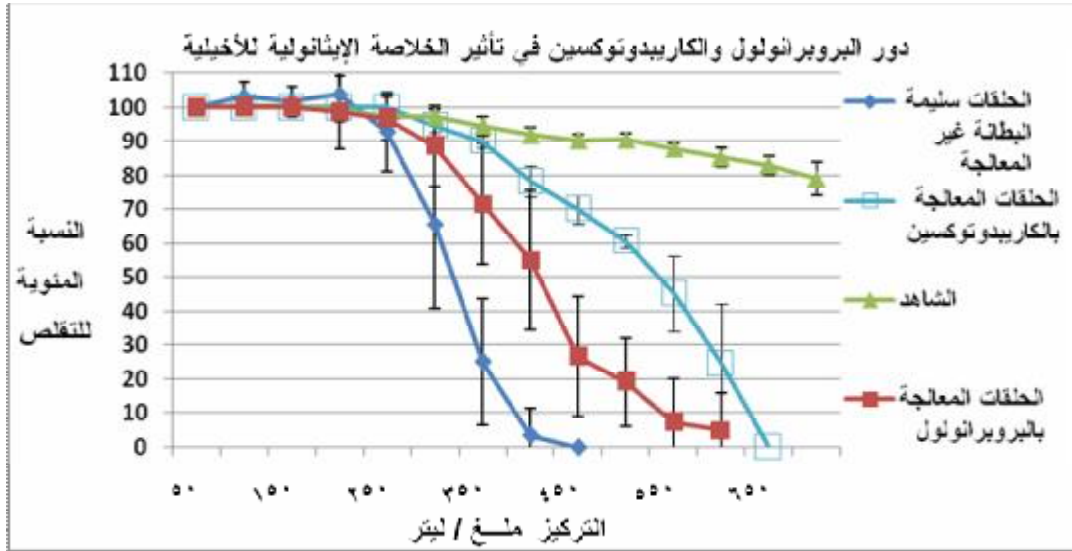
الشكل 5: الحقن المتتالي للخالصة الإيثانولية بسبب ارتخاء الحلقة مسبقة التقلص بالفينيل إيفرين.



الشكل 6: تأثير الخالصة الإيثانولية للأخيلية في الحلقات مسبقة التقلص بالفينيل إيفرين.

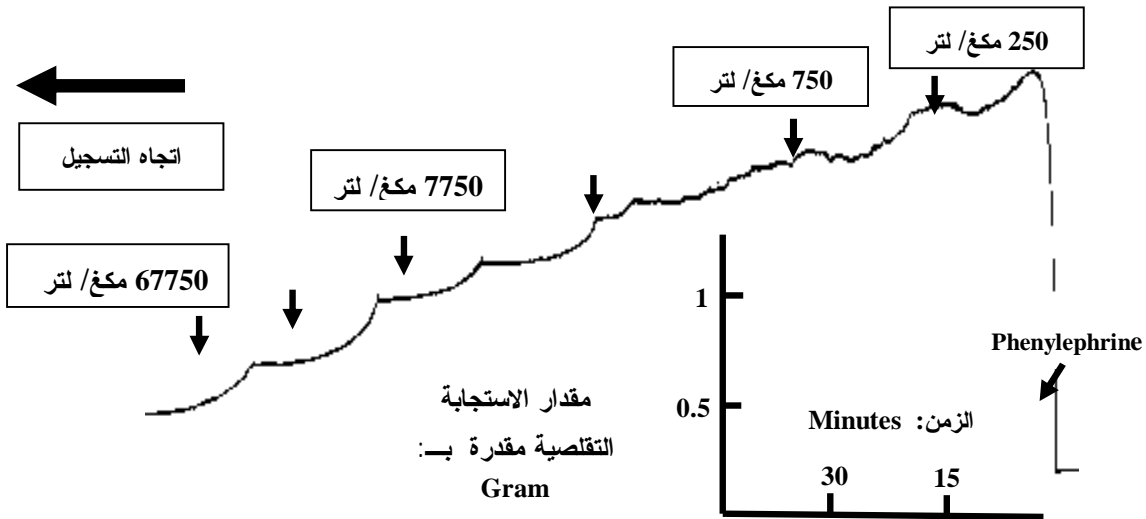
بذلك على تثبيط جزئي لفعل الخالصة الموسع (الشكل 7)، وهذا التأثير أوضح مع الكاربيدوتوكسين. والدلالة الواضحة أيضاً هي ارتفاع قيمة الـ IC50 التي بلغت 610 ملغ/لتر في حالة الكاربيدوتوكسين، و 370 ملغ/لتر في حالة البروبرانولول.

ب- تأثير مركبي الكاربيدوتوكسين والبروبرانولول في التأثير الموسع لخالصة الأخيلية: إن المعالجة المسبقة للحلقات بحاصر قنوات البوتاسيوم (الكاربيدوتوكسين)، وحاصر مستقبلات β_2 (البروبرانولول) أدى إلى انزياح واضح لمنحنى الاستجابة الارتخائية لخالصة الأخيلية إلى اليمين ($P \leq 0.05$)، دالة

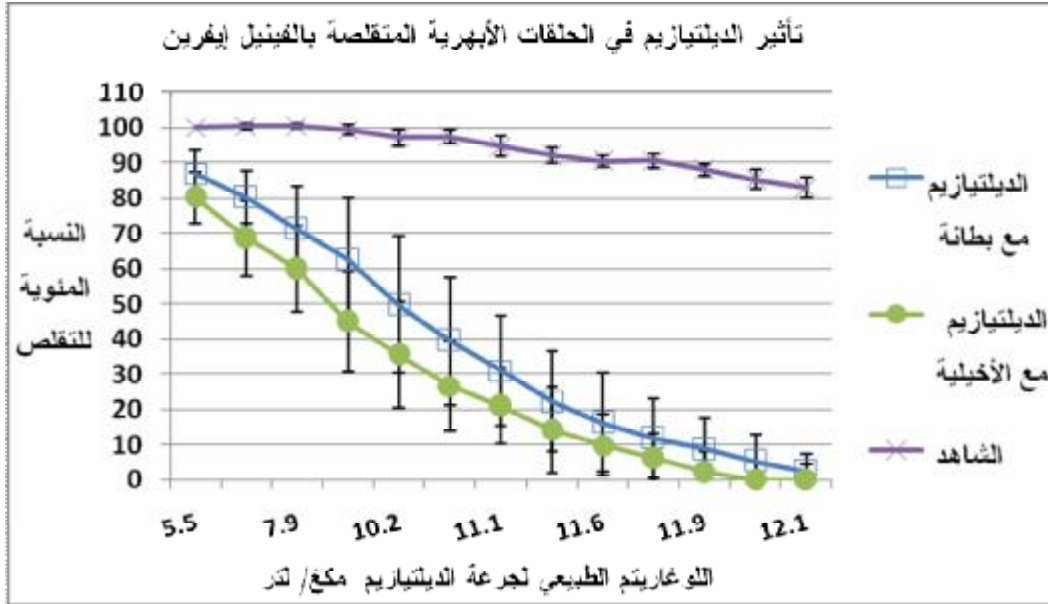


الشكل 7: تأثير البروبرانولول والكاربيدوتوكسين في الأثر المرخي لخلاصة الأخيلية.

ج- الفعل المرخي للديلتيازيم والبرازوسين في الحلقات مسبقة التقلص بالفينيل إيفرين: الديلتيازيم: أعطى الديلتيازيم تأثيراً ارتخائياً جيداً، وكان الارتخاء معتمداً تماماً على الجرعة كما يظهره الأثر التسجيلي في الشكل 8، وأعاد الحلقات إلى سابق عهدها قبل التقلص ($P \leq 0.05$)، وعزز وجود الأخيلية هذا الفعل المرخي، الشكل 9.

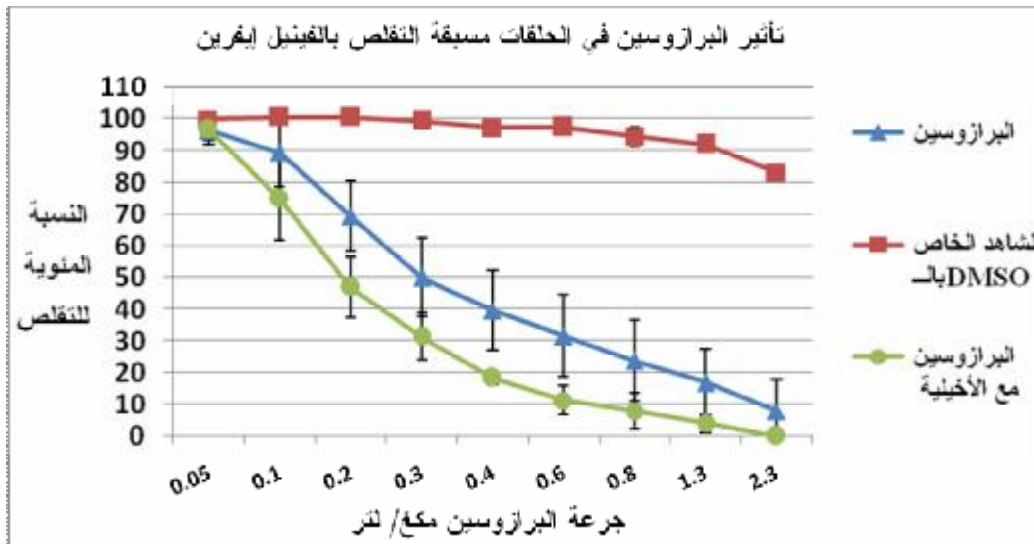


الشكل 8: الديلتيازيم يرخي الحلقات مسبقة التقلص بالفينيل إيفرين بطريقة نموذجية معتمدة على الجرعة.



الشكل 9: تبيان تأثير الديلتيازيم في كل من الحلقات الأبهرية المتقلصة بالفينيل إيفرين.

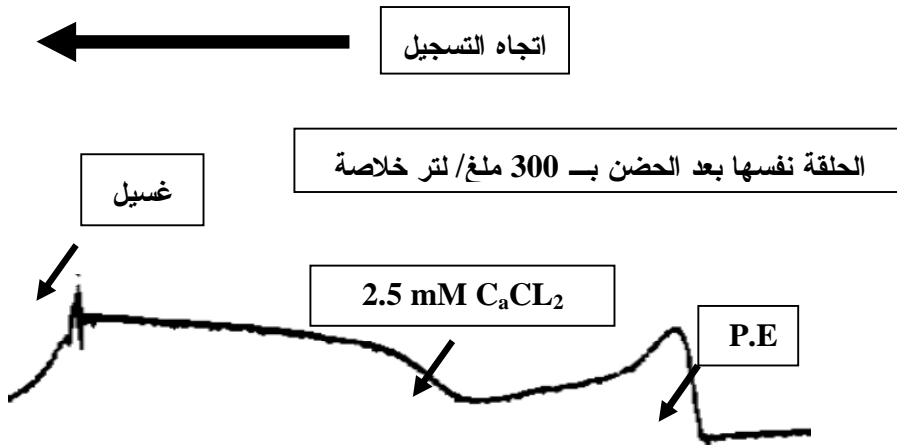
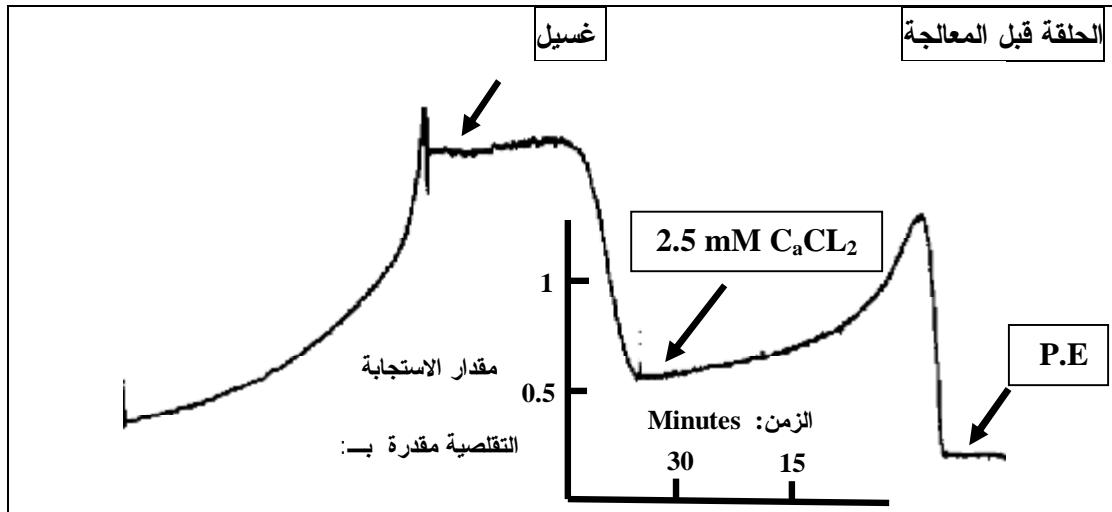
البرازوسين: أعطي البرازوسين للحلقات الأبهرية بعد حله بمادة الـ DMSO كما ذكرنا في طرائق العمل، ولذا كان هناك ضرورة لأن تكون هناك مجموعة شاهد خاص به تعطى هذه المادة وحدها، ويظهر الشكل 10 الفعل المرخي للبرازوسين في الحلقات الأبهرية المتقلصة بالفينيل إيفرين مقارنة بالشاهد الخاص به ($P \leq 0.05$). وعززت الإضافة المسبقة لخلاصة الأخيلية الإيثانولية (250 ملغ/ لتر) هذا الفعل المرخي وبفارق حقيقي أثبتته الاختبار الإحصائي ($P \leq 0.05$).



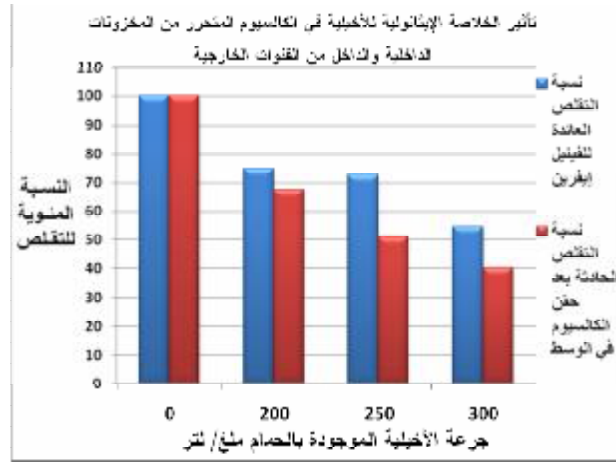
الشكل 10: تأثير البرازوسين في الحلقات الأبهرية المتقلصة ودور الأخيلية في دعم تأثيره.

تأثير الأخيلية في تدفق أيونات الكالسيوم خارجية المنشأ، وتلك المتحررة من الشبكة الهيولية العضلية الداخلية (التجارب ضمن محلول كريبس المخلئ من الكالسيوم): الخلاصة الإيثانولية للأخيلية:

ظهر تأثير هذه الخلاصة المثبط للتقلص الأولي الناتج عن تحرر الكالسيوم من مخزوناتة الداخلية، وفي التقلص



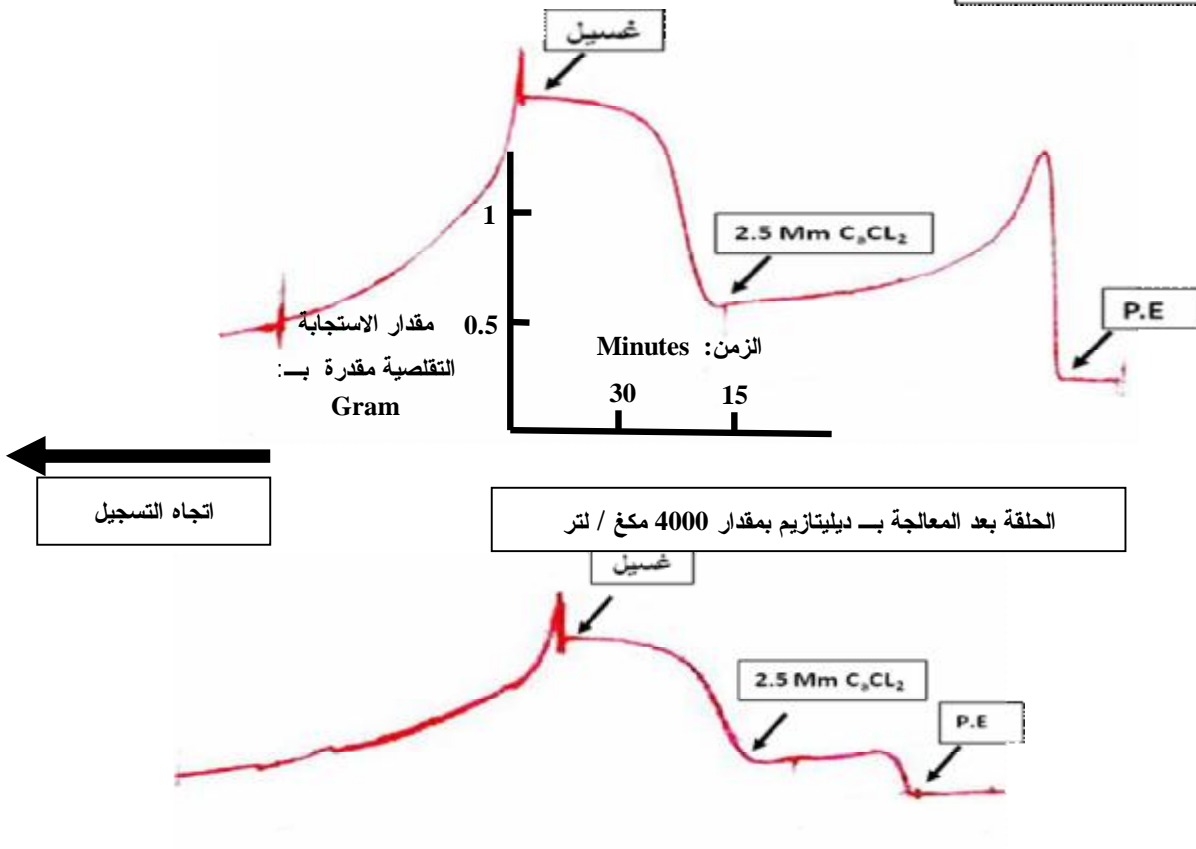
الشكل 11: تبيان تأثير خلاصة الأخيلية الإيثانولية في التقلص الحادث في الوسط الخالي من الكالسيوم (التقلص يعود في هذه المرحلة إلى تحرر الكالسيوم من الشبكة الداخلية)، وفي التقلص الحادث بعد إعادة حقن الكالسيوم في الوسط (التقلص يعود إلى دخول الكالسيوم من قنوات الكالسيوم الكائنة على السطح الخارجي).



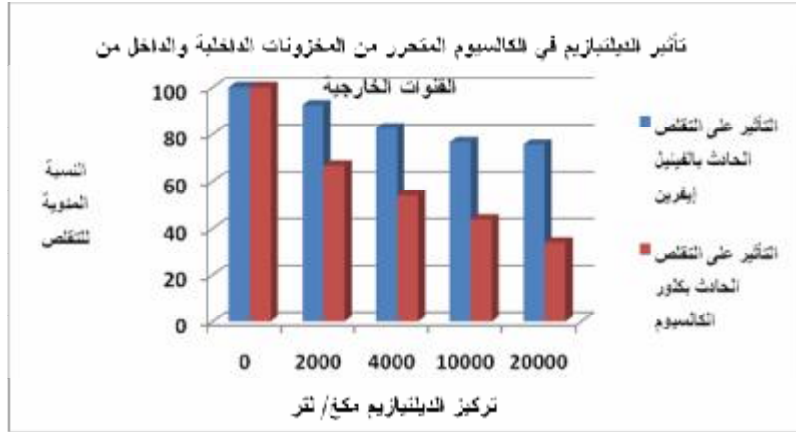
الشكل 12: تأثير خلاصة الأخيلية الإيثانولية على التقلص في وسط خالي الكالسيوم، وبعد إعادة الكالسيوم.

- تأثير الديلتيازيم: اختبر تأثير الديلتيازيم أيضاً لأنه من حاصرات الكالسيوم وهو مناسب جداً لهذا النوع من الاختبارات، وقد كان تأثيره في تثبيط النقل الناتج عن دخول الكالسيوم أقوى بكثير من تثبيط النقل الناتج عن الفينيل إيفرين، الشكلان 13 و 14.

الحلقة الشاهدة



الشكل 13: الديلتيازيم يثبط دخول الكالسيوم الخارجي.



الشكل 14: تأثير الديلتيازيم بتثبيط دخول كل من الكالسيوم الداخلي والخارجي.

أحد المحاور المفيدة في البحث هي قياس تأثير بعض الأدوية الموسعة، وبالطرائق المتبعة نفسها مع الخلاصات، وهذه الأدوية تمثل مرجعية دوائية لتقييم التأثير المرخي للخلاصة النباتية. وقد أعطى الديلتيازيم، وهو أحد الموسعات العائدة لحاصرات قنوات الكالسيوم، تأثيراً ارتخائياً جيداً ونموذجياً معتمداً على الجرعة، وأعاد الحلقات إلى سابق عهدها قبل التقلص. إن هذا الموسع يؤثر في قنوات الكالسيوم المعتمدة على الكيون المسؤولة بشكل أساسي عن إدخال الكالسيوم إلى داخل الليف العضلي، وهو يثبط هذا الدخول. شجعت النتائج السابقة على التفكير والمباشرة بتطبيق التآزر الممكن بين خلاصة الأخيلية والديلتيازيم وتحريه. وظهر أن لوجود الأخيلية أثراً واضحاً في زيادة الفعل الإرخائي للديلتيازيم، وحسب اختبار ستينودنت فإن هذا الفارق الجوهرى بين المجموعة المعالجة بالأخيلية والمجموعات الأخرى كان في البدايات، ثم تضاعف هذا الفارق حتى اختفى مع المضي قدماً مع تتابع إعطاء الجرعات المتزايدة من الديلتيازيم، الشكل 9. وربما يكون تفسير ذلك بأن هنالك قاسماً مشتركاً بين الديلتيازيم وخلاصة الأخيلية الكحولية، أو تشابهاً في آلية التأثير بين الاثنين. وذلك يمكن أن يقود في المستقبل إلى تطبيقات سريرية من خلال إنقاص جرعة الديلتيازيم اللازمة. أمّا البرازوسين فله آلية تأثير مختلفة عن الديلتيازيم، فهو حاصر قوي لمستقبلات α_1 ، وهي

المناقشة Discussion

أحدثت الخلاصة الإيثانولية تأثيراً مرخياً ملموساً أعاد الحلقات لمستوى توتر ما قبل إخضاعها للتقلص المديد. بلغت قيمة الـ IC_{50} 292 ملغ/ لتر. وقد أظهرت النتائج دور قنوات البوتاسيوم كخطوة في التأثير المرخي للخلاصة؛ وذلك من خلال التثبيط الجزئي للفعل المرخي بأحد أهم حاصرات هذه القنوات، الكاربيدوتوكسين *Charybdotoxine*، وهذا التثبيط كان قوياً كما ظهر بيانياً في الشكل 7 (ارتفعت قيمة الـ IC_{50} إلى 610 ملغ/ لتر وكانت 292 ملغ/ لتر قبل إضافة هذا الحاصر)، وإذا ما أخذنا بالحسبان أن قنوات البوتاسيوم المنشطة بالكالسيوم (Ca^{2+} -activated K^{+} (BKC) channels) تستجيب بشكل نوعي للحاصر السابق *Charybdotoxine*، الذي يعد أحد الحاصرات النوعية لها ويستعمل لهذه الغاية (8)، لأدركنا أن جزءاً مهماً من تأثير الخلاصة الإيثانولية يتعلق بالقناة السابقة المهمة فيزيولوجياً التي تسهم كثيراً في الحفاظ على كمون الغشاء الطبيعي ولها دور كبير في العمليات التقلصية الحادثة تجريبياً في العضلات الملساء الوعائية (11). أمّا التثبيط الجزئي الناتج عن استعمال البروبرانولول فيدل على تداخل محتمل لمستقبلات β_2 في الفعل المرخي للخلاصة السابقة.

بمعنى أنها تؤثر بشكل أكبر وتلجم دفع الكالسيوم الخارجي عبر قنوات الكالسيوم السطحية والمعتمدة على الكمون، الشكلان 11 و 12. إن هذه الطريقة مهمة جداً لفهم حركة أيونات الكالسيوم وتأثير المواد المفحوصة في هذه الحركة ومكانها (12). وإذا ما أخذنا النتائج الخاصة بتطبيق الديلتيازيم بهذه الطريقة نفسها (الشكل 14) التي ظهر فيها أنه يثبط النقل الناتج عن دخول الكالسيوم الخارجي (وذلك متوقع نظراً إلى أنه من حاصرات الكالسيوم)، لأدركنا جيداً التشابه الجزئي في آلية التأثير بين خلاصة الأخيلية الإيثانولية والديلتيازيم.

الاستنتاج: لخلاصة الأخيلية الإيثانولية تأثير موسع للشريان الأبهر مرتبط جزئياً بقنوات البوتاسيوم ومستقبلات β_2 ، وهذه الخلاصة تثبط اندفاع الكالسيوم الخارجي خلال إحداث العملية النقلية بدرجة أكبر من لجم تحرر الكالسيوم من مخزونه الداخلية. وآلية التأثير تحتاج أكثر إلى العمل على المركبات التي لا بد من عزلها من هذه الخلاصة فهذا سيعطي قيمة علمية أكثر وفهماً أدق لمجمل التأثير الموسع الوعائي.

المستقبلات نفسها التي يعتمد عليها الفينيل إيفرين لإحداث النقل. وظهر الفعل المرخي للبرازوسين في الحلقات الأبهريّة المتقلصة بالفينيل إيفرين مقارنة بالشاهد الخاص به وكان الارتخاء واضحاً ومنذ الإضافة الأولى حتى الوصول إلى الارتخاء الكامل. وعززت الإضافة المسبقة لخلاصة الأخيلية الإيثانولية هذا الفعل المرخي (250 ملغ/ لتر)، وبفارق حقيقي أثبتته الاختبار الإحصائي، الشكل 10. ونعيد ما سبق استنتاجه في حالة الديلتيازيم، من أن التأثير الواضح بين الخلاصة والبرازوسين قد يكون مرده إلى وجود جزئي مشترك في آلية التأثير بين الاثنين.

والنتائج الخاصة بالخطوة التي اختبر بها التأثير التفريقي للخلاصة بين تدفق أيونات الكالسيوم خارجية المنشأ وتلك المتحررة من الشبكة الهيولية العضلية الداخلية أعطت فكرة عن طبيعة تأثير الخلاصة وآليته، إذ كان هناك تثبيط للنقل الأولي الناتج عن تحرر الكالسيوم من مخزونه الداخلية (بفعل الفينيل إيفرين)، وفي النقل الناتج عن دخول الكالسيوم من القنوات الخارجية بعد إعادة حقن الكالسيوم في الوسط الخالي منه. وهذا الأخير هو الأقوى،

References

- 1-Nemeth E. and Bernath J. Biological activities of yarrow species (*Achillea* spp.), *Curr Pharm*; 2008, 14(29): 3151-67.
- 2-Hamzah M. Maswadeh, Mohammad H. Semreen and Ahmad R. Naddaf. Anti-inflammatory activity of achillea and ruscus topical gel on carrageenan-induced paw edema in rats. *Drug Research*; 2006, 63(4): 277-280.
- 3-Sharififar F; Pournourmohammadi S. and Arabnejad M. Immunomodulatory activity of aqueous extract of *Achillea wilhelmsii* C. Koch in mice. *Indian J Exp Biol*; 2009, 47(8): 668-71.
- 4-Al-Mustafa AH. and Al-Thunibat OY. Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pak J Biol Sci*; 2008, 11(3): 351-8.
- 5-Ali M. Al-Gaby and Reda F. Allam. Chemical Analysis, Antimicrobial Activity, and the Essential Oils from Some Wild Herbs in Egypt. *Journal of Herbs*; 2000, 7(1): 15-24.
- 6-Oliveira E.J; Romero M.A; Silva M.S; Silva B.A. and Medeiros I.A. Intracellular Calcium Mobilization as a Target for the Spasmolytic Action of Scopoletin. *Planta Med*; 2001, 67, 605-608.
- 7-Mustafa E.H; Abu zarga M; Sabri S. and Abdalla S. Effects of cirsiliol, a flavone isolated from *Achillea fragrantissima*, on rat isolated smooth muscle. *Inter. J of pharmacognosy*; 1995, 33(3): 204-209.
- 8-Huang Yu. Hydroxylamine-induced relaxation inhibited by K^+ channel blockers in rat aortic rings. *Euro. J of pharmacology*; 1998, 349, 53-60.
- 9-Huang Y. and Ho I.H.M. Separate activation of intracellular Ca^{2+} release, voltage-dependent and receptor-operated Ca^{2+} channels in rat aorta. *Chinese J of Physiology*; 1996, 39, 1-8.
- 10-Nakai T. Effects of diazoxide on KCl- and norepinephrine-induced contractions in isolated aorta. *J of Pharmaceutical Sciences*; 1994, 83, 838-841.
- 11-Brayden J.E. and Nelson MT. Regulation of calcium-activated potassium channels. *Science*; 1992, 256: 532-535.
- 12-Donald F. Sligh, Rosita Arvigo and Michael J. Balick. *Alseis yucatanensis*: a natural product from Belize that exhibits multiple mechanisms of vasorelaxation. *J of Ethnopharmacology*; 2004, 92, 297-302.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2011/1/3.

تاريخ قبوله للنشر 2011/4/25