

دراسة أثر التوسع الوعائي عند المستوى الجزيئي لخلاصات محضرة من نبات لبلاب الحقول في *Convolvulus arvensis* الحلقات الأبهريّة المعزولة*

سوسن الماضي***

وائل الأغواني**

أنطون اللحام****

الملخص

خلفية البحث وهدفه: جرت دراسة مستوى التأثير الموسع الوعائي في المستوى الجزيئي (قنوات البوتاسيوم والكالسيوم ومستقبلات α_1) للخلاصتين المائية والإيثانولية المحضرتين من الأجزاء الهوائية لنبات لبلاب الحقول *Convolvulus arvensis* المنتمي للفصيلة المتلفة convolvulaceae، وذلك في الحلقات الأبهريّة المعزولة من الأرنب ومسبقة النقل بالفينيل إيفرين Pheylephrine. مواد البحث وطرائقه: جرى بداية تحري دور قنوات البوتاسيوم في الأثر المرخي للخلاصتين باستعمال شواهد معيارية من حاصري قنوات البوتاسيوم المعروفة: الغليبنكلاميد Glibenclamide و Tetraethyl ammonium (TEA) وذلك في الحلقات مسبقة النقل بالفينيل إيفرين. تم أيضاً تقليص الحلقات الأبهريّة بتركيز عال من أيونات البوتاسيوم (35 ميلي مول) عوضاً عن الفينيل إيفرين ومن ثم تحري تأثير الخلاصتين السابقتين فيها بهدف معرفة دور قنوات الكالسيوم المعتمدة على الفولتاج (VGCC) في الفعل المرخي. أخيراً، جرى إنشاء منحنى جرعة- استجابة تقلصية للفينيل إيفرين على الحلقات الأبهريّة قبل إضافة الخلاصات السابقة وبعدها بتركيز مختلفة لتحري أي دور محتمل لمستقبلات α_1 الأدرينرجية.

* أعد البحث في سياق رسالة الدكتوراه للطالب وائل الأغواني بإشراف الأستاذة الدكتورة سوسن الماضي وبمشاركة الأستاذ الدكتور أنطون اللحام.

** كلية الصيدلة- جامعة دمشق.

*** أستاذ- كلية الصيدلة- جامعة دمشق.

**** أستاذ- كلية الصيدلة- جامعة دمشق.

النتائج: لوحظ وجود دور جزئي لقتوات البوتاسيوم المعتمدة على الكالسيوم (BK_{Ca}) في الفعل المرخي للخلاصة الإيثانولية، في حين في حالة الخلاصة المائية لم يلحظ دور لقتوات البوتاسيوم. أما النتائج الخاصة باستعمال محلول كريبس عالي البوتاسيوم فدلّت على أنه للخلاصتين السابقتين تأثير مثبط متفاوت على دخول الكالسيوم الخارجي المحدث للتقلص إلى داخل الليف العضلي. أخيراً فإن لمستقبلات α_1 الأدرينرجية دوراً أكيداً في التأثير المرخي للخلاصتين وبدرجة أكبر للخلاصة المائية التي أنقصت الاستجابة للحلقات الأبهريّة الأعظمية (E_{max}) للفينيل إيفرين، وفي ذلك تشابه هذا التأثير مع حاصر هذه المستقبلات البرازوسين *Prazosin* الذي استعملناه كمرجع معياري. الاستنتاج: يشكل هذا التفاوت في قوة التأثير المرخي واختلاف آلياته ما بين الخلاصتين دليلاً على احتواء نبات لبلاب الحقول على مواد متعددة مسؤولة عن الفعل المرخي، بما يؤكد الحاجة الملحة لفصل المكونات الفعالة ذات العلاقة ومعايرتها في الخلاصتين السابقتين.

الكلمات المفتاحية: لبلاب الحقول *Convolvulus arvensis*، الحلقات الأبهريّة، الفينيل إيفرين، البرازوسين.

Study the Vasodilator Effect at Molecular Level of Convolvulus Arvensis in Isolated Aortic Rings

Wael Al Aghawani*

Sawsan Al-Madi**

Anton Al- Alahham***

Abstract

background and aim: The study was performed to examine the molecular level (K^+ and Ca^{+2} channels and α_1 receptors) of vasodilator action of both ethanolic and aqueous extract of Convolvulus arvensis (convolvulaceae) in isolated and phenylephrine- precontracted rabbit aortic rings. **Materials and methods:** first, The role of potassium channels was determine by using two potassium channels blockers: Glibenclamide and Tetraethyl ammonium (TEA). Second, the aortic rings were contracted by using high K^+ Krebs solution in order to test the role of voltage gated calcium channels (VGCC). Finally, concentration- response curves of phenylephrine in rings were constructed before and after added the previous two extracts in different doses and that was to examine role of α_1 receptors. **Results:** The data showed that calcium-dependent K channels (BK_{Ca}) has a partial role in the relaxing effect of the ethanolic extract, while the K^+ channels did not exhibit role in case of aqueous extract. When using high K^+ Krebs, the two extracts exhibited relaxing effect due to reducing the entry of calcium ions from outside. Finally, the adrenergic receptor α_1 has a role but with different magnitude between the previous extracts, with high degree for aqueous one that reduced the maximum response (E_{max}) of aortic rings to phenylephrine, and this was similar to α_1 -blocker prazosin that we used in this study. **Conclusion:** These differences in the potency of relaxing effect present evidence that Convolvulus arvensis has several compounds responsible for vasodilator effect, so further investigation should performed to isolate the related pure substance.

Key words: Convolvulus arvensis, aortic rings, pheylephrine, prazosin.

*Dept. Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of dentistry, Damascus University.

** Prof. Dept. Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of dentistry, Damascus University.

*** Prof. Dept. Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of dentistry, Damascus University.

مقدمة Introduction:

للجهاز القلبي الوعائي أهمية قصوى في الحياة، وذلك ما يتطلب وجود هذا الجهاز في أعلى درجات الجاهزية والخلو من الآفات لأداء المهام. والأوعية الدموية كجزء من هذا الجهاز تكمل عمل القلب وتتيح له الاستمرار في المهمة، ولذلك فهي تتمتع بصفات مميزة وظيفياً لأداء دورها (1). ومن أهم تلك الصفات المرونة والقابلية الفيزيائية للتوسع لتلقي سيل الدم الوارد ومن ثم نقله إلى باقي الجسم. وأي تقصير في عمل الأوعية أو عدم قدرتها على تغيير قطرهما حسب الضرورة يعني حدوث خلل أكيد تترتب عليه عواقب وخيمة ولو بعد حين (2). ولذا فإنّ اللجوء إلى الخيار الدوائي هو نهاية المطاف حينما تعجز هذه الأوعية عن التحكم بذاتها والتوسع اللازم لنقل الدم وضبط الضغط الشرياني. وللغاية تلك استعملت الموسعات الوعائية المختلفة (التاجية، الإكليلية، ..) بنجاح في حالات وأمراض وعائية كثيرة من أهمها ارتفاع الضغط الشرياني ونقص التروية القلبية (3)، وأضحت سريراً متداولة على نطاق واسع. وعلى منحنى آخر، فإنّ توجه الأنظار لم ينقطع صوب الطبيعة وما يمكن أن تقدمه في هذا المجال، إذ إنّ هناك كثيراً من النباتات الطبية ومكوناتها عرف لها تأثير محدث للتوسع الوعائي، والبحوث حولها مستمرة لإثبات تأثيراتها في الأوعية الدموية من حيث توسع الأوعية أو تضيقها ومن ثم كشف آلية التأثير لضرورة تحديد الفائدة العلاجية المطلوبة (4-6).

حاولنا في دراسة نبات لبلاب الحقول *Convolvulus arvensis* معرفة هذه التأثيرات بصورة أعمق بعد أن ظهر لخلاصتيه المائية والإيثانولية تأثير موسع وعائي ثبت سابقاً أنه غير معتمد على البطانة (7). وهذا النبات المنتمي إلى الفصيلة الملتفة *convolvulaceae* ينتشر كثيراً في البيئة المحلية وخاصة عند أطراف الحقول المرورية والمناطق الجبلية الخصبة، ويمتد في الظروف المناسبة معطياً منظراً مميزاً بأوراقه السهمية وأزهاره الزهرية الفاتحة اللون، الشكل 1.



الشكل 1: نبات لبلاّب الحقول

ورغم انتشاره الواسع فإنّ استعمالاته العامة أو الشعبية تكاد تكون معدومة، وهذا أيضاً حال الدراسات العلمية عليه فهي نادرة رغم احتوائه العديد من الزمر الفعالة كالفلافونويدات flavonoides والجليكوزيدات Glucosides (8)، ومن أبرز ما نشر عنه دراسة أفادت أنّ لخالصته المائية تأثيراً مضاداً للورم المحدث عند الفئران (9)، وأخرى كشفت عن فعالية مضادة لتشنج العضلات الملساء الحشوية (10). و دراستنا الراهنة تأتي كامتداد لبحث سابق تحرينا فيه عن الخاصية الموسعة لخالصات هذا النبات على الشريان الأبهرى المعزول من الأرنب (7) ظهر فيه أنّ هناك فعلاً مرخياً لا يعتمد على البطانة. لذا فقد انصب عملنا الآن عن محاولة كشف مستوى التأثير للخالصتين المدروستين سابقاً: المائية والإيثانولية، من خلال تفحص دور قنوات البوتاسيوم وقنوات الكالسيوم ومستقبلات ألفا α_1 في الفعل المرخي.

طرائق العمل Methods

مواد العمل:

المواد الكيميائية والدوائية: استعملت المواد الآتية: الفينيل إيفرين على شكل هيدرو كلورايد Phenylephrine hydrochloride، أسيتيل كولين Acetylcholine، الغلينكلاميد Glibenclamide، تيترا إينيل أمونيوم كلورايد hydrochloride.

Tetraethyl Ammonium Chloride (TEA)، البرازوسين Prazocin (جميعها من
تحضير شركة سيجما Sigma).

واستخدمنا في تحضير المحاليل الفيزيولوجية المواد والأملاح المعدنية التالية:
NaCl, KCl, CaCl₂, NaHCO₃, NaH₂PO₄.2H₂O, (NaOH, HCl), D⁺
Glucose.

وجميعها من شركة Merck - ألمانيا.

MgSO₄.7H₂O: وهو من شركة BDH - انكلترا.

واستخدمنا أيضاً الدائرة Hepes N-[Hydroxy Ethyl] piperazine-n-[2-
Ethane sulfonic acid] ، وهو من شركة Q Biogene - فرنسا.

التجهيزات:

§ الجهاز الأساسي في العمل هو جهاز العمل على أعضاء
معزولة IOS (Isolated Organ System) طراز (Dei lierre (electronique)
فرنسا. ويتضمن هذا الجهاز 4 أحواض تجريبية، و4 نواقل، ووحدة تغذية ووتكبير
4 مخارج، ووراسمة طراز Recorder Company من شركة CP / أمريكا.

§ حوض حمام مائي مع ترموستات طراز Bioblock (Polystat 86602) / فرنسا.

§ مكبرة مجسمة طراز Warszawa (PZO 25997) مزودة بوحدة
تغذية (Power Supply ZM(50) / بولونيا، منبع نور بارد (KL 1500
/ Electronic) OSI / فرنسا.

§ مجموعة أدوات تشريح مجهرية (خاصة بالجراحة العينية) من شركة Moria
فرنسا، الملاقط طراز C 7850، المقصات D 2164.

§ مقياس الحموضة PH-meter طراز inolab (inolab PH/cond level 1) / ألمانيا.

§ مجموعة ماصات عادية + مجموعة ميكروبيبت BRAND / ألمانيا.

§ خلاط مع سخان موديل 32 شركة Labinco BV / فرنسا.

§ ميزان حساس طراز Sartorius (0.000) (BC-1201) / ألمانيا.

جمع النبات والتعرف عليه: جرى أولاً البحث عن الأماكن المحتملة التي يوجد فيها لبلاب الحقول *Convolvulus arvensis* والعائد للفصيلة الملتفة convolvulaceae، وجمع العديد من العينات النباتية كاملة التي تحوي الأوراق والأزهار والجذور، حيث قام بالتعرف على النبات بدقة وتمييزه عن الأنواع المشابهة الموجودة معه كل من الدكتور عماد القاضي من كلية العلوم والدكتور محمد عودات في قسم الوقاية بهيئة الطاقة الذرية وذلك اعتماداً على أجزاء النبات المختلفة والقرائن الوصفية. وبعدها جمع النبات بحالة غضة ومن مكان ووقت واحد في أحد أطراف الحقول الجبلية البعيدة عن التلوث في بلدة جباتا الخشب في محافظة القنيطرة منتصف شهر تموز عام 2008.

تحضير الخلاصات النباتية: عقب جمع النبات فصلت الأوراق مباشرةً وهي الجزء المستعمل وغسلت بتيار من الماء المقطر البارد مدة قصيرة ثم تركت بعد نشرها على مساحة واسعة في الظلام الدامس وضمن درجة حرارة الغرفة التي كانت جيدة التهوية وخالية من الرطوبة وذلك مدة خمسة عشر يوماً حتى الجفاف التام والتأكد من ذلك بثبات وزن الأوراق خلال ثلاث عمليات وزن متعاقبة، ثم حولت إلى مسحوق ناعم مرر على منخل ذي فتحة 0.16 ملي متر وحفظت في أكياس كتيمة ومعزولة عن الضوء والحرارة والرطوبة إلى حين الاستعمال.

حضرت خلاصات مائية وإيثانولية من مسحوق الأوراق السابق على النحو الآتي:

1- تحضير الخلاصة المائية: أخذت 10 غرامات من مسحوق الأوراق المجففة ووضعت في عمود ترحيل مناسب. غمر المسحوق الموجود في العمود بمقدار كافٍ من الماء المقطر وترك مدة أربع وعشرين ساعة بمعزل عن الضوء. بعد ذلك جمعت الخلاصة المائية الزاحلة من العمود حتى انتهاء الاستخلاص واستنفاد المسحوق. أخذت الخلاصة المائية تحت ضغط منخفض وبدرجة حرارة 55 درجة مئوية بالمبخر الدوار مدة 20 دقيقة، ونقلت البقية المائية إلى دوارق جهاز التجفيد وأخضعت لعملية التجفيد حتى الحصول على مسحوق جاف تماماً.

2- تحضير الخلاصة الإيثانولية: تم استخلاص 10 غ من مسحوق الأوراق المجففة بـ 100 مل مزيج إيثانول/ ماء (30/70) حيث وضع المزيج في عمود ترحيل مناسب، وجمعت بعد ذلك الخلاصة الزائلة حتى استنفاد المسحوق. تم تبخير الإيثانول تحت ضغط منخفض وبدرجة حرارة 55 درجة مئوية بالمبخر الدوار مدة 20 دقيقة، ونقلت البقية المائية إلى دوارق جهاز التجفيد وأخضعت لعملية التجفيد حتى الحصول على مسحوق جاف تماماً.

تحضير الحلقات الوعائية من الشريان الأبهر Aortic rings: استخدمت أرناب ذكور بالغة أعمارها متقاربة ومن الفصيلة ذاتها، ويتراوح وزنها ما بين 2.5 - 3 كلغ. ضُحِّي بالحيوانات يوم التجربة بنحر الرقبة، وتم مباشرة عزل وأخذ القسم الصدري النازل من الشريان الأبهر thoracic aorta ونُظف جيداً من الأنسجة الضامة والشحمية المحيطة به، ثم قطع إلى حلقات طول كل منها 1.5 ملم تقريباً.

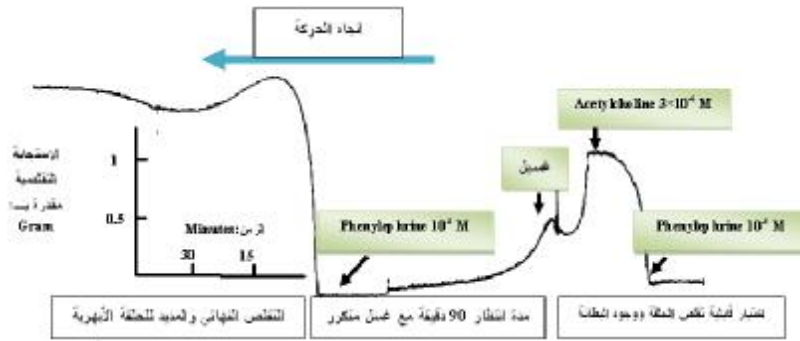
تم العمل على جهاز الأعضاء المعزولة I.O.S أنف الذكر الذي يتكون من أربعة حمامات وكل حمام مكون من حجرة داخلية سعتها 20 مل، يوضع بداخلها محلول كريبس Krebs solution ذو التركيب الآتي بالملي مول [mM]:
NaCl 119, KCl 4.7, NaHCO₃ 25, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1, KH₂PO₄ 1.2 and D-Glucose 11.

وضعت كل حلقة وحدها في الحمام مائي بدرجة 37°م ودرجة باهاء PH=7.4، مع ضخ الأكسجين إلى داخل الحمام بشكل مستمر عبر مسرب خاص. علقت الحلقة بين خطافين على شكل حرف L من الستانليس ستيل، الخطاف العلوي يوصل مباشرة إلى ناقل الحركة السابق، أما الخطاف السفلي فهو ثابت لا يتحرك. قياس الحركة التقلصية وتغيراتها يتم على الراسمة الورقية.

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 تم اختبار قابلية الحلقات

للتقلص بواسطة الفينيل إيفرين. 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 لننتهي بالخطوات اللاحقة. و كانت هذه الخطوة أساسية في مراحل العمل جميعها، الشكل 2. عدد الحلقات في كل تجربة 8 حلقات، بحيث تكون كل حلقة مأخوذة من حيوان مختلف.



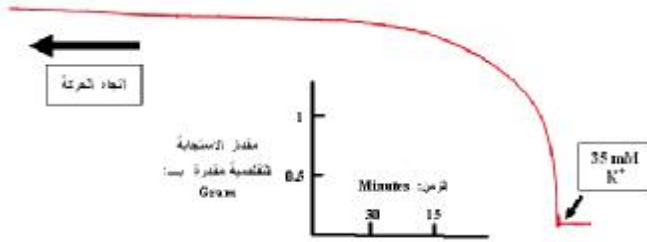
الشكل 2: إجمالي مراحل تجهيز الحلقة الأبهريّة للدراسة: التقلص الاختباري الأولي للحلقة واختبار البطانة، ثم مدة انتظار 90 دقيقة يجري خلالها الغسل المتكرر كل 20 دقيقة، بعدها يتم الحقن الثاني والأخير للفينيل إيفرين للحصول على تقلص نهائي وثابت الشدة لإجراء الفحوص اللاحقة على المواد والخلاصات المختبرة.

أ- تحديد دور قنوات البوتاسيوم في توسط الفعل المرخي للخلاصتين السابقتين:
جرى استخدام الخلاصتين السابقتين لأوراق اللبلا (مائية وإيثانولية) في الحلقات سليمة البطانة، واستعملت حاصرات قنوات البوتاسيوم المعتمدة والمدروسة سابقاً (11)، (12) وهي: Tetraethyl Ammonium Chloride (TEA) و Glibenclamide، حيث جرت إضافة كل حاصر إلى حمام كل حلقة معزولة في المجموعة المدروسة قبل 15 دقيقة من إضافة الفينيل إيفرين لإحداث التقلص، وبعد وصول التقلص إلى أقصاه أضيفت الخلاصة النباتية كما سبق. بالنسبة إلى مادة TEA حضر منه محلول أم بتركيز 10^{-2} مول في الماء المقطر وأخذت منه أحيذة بالميكروبييت مقدارها 20

ميكرو ليتر إلى الحمام المائي الحاوي للحلقة الأبهريّة ليصبح تركيزه النهائي 10^{-5} مول. أما مركب Glibenclamide فهو غير قابل للحل بالماء لذا حلّ في مركب الـدي ميثيل سلفوكسيد DMSO بتركيز 10^{-2} مول، أخذ منه بواسطة الميكروبيبيت 20 ميكرو ليتر وأضيفت إلى حمام الحلقة الأبهريّة فأصبح التركيز النهائي للغليبنكلاميد في الحمام 10^{-5} مول، إذ إنّ هذه الأخذة الصغيرة من مركب الـDMSO ستحل تماماً في الوسط المائي للحمام وجرى التأكد من ذلك تجريبياً.

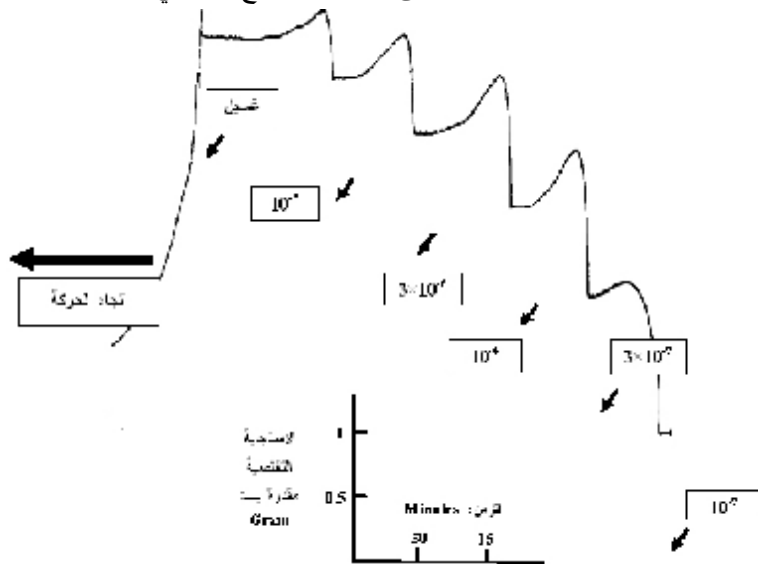
ب- الفعل المرخي للخلاصتين في التقلص المديد للحلقات الأبهريّة بتركيز عالٍ من أيونات البوتاسيوم:

أعد محلول كريبس يحوي تركيزاً مرتفعاً من أيونات البوتاسيوم بتركيز 35 ميلي مولاً ممثلة بـكلور البوتاسيوم، وجرى ذلك برفع تركيز كلور البوتاسيوم إلى 35 ميلي مولاً يقابله تخفيض بالمقدار المولي نفسه من ملح كلور الصوديوم للحفاظ على توازن الضغط الحلوي. إن وجود تركيز مرتفع من أيونات البوتاسيوم سيؤدي إلى تقلص مديد للعضلات الملساء الوعائية نتيجة تدفق أيونات الكالسيوم عبر قنواتها إلى داخل الليف العضلي، وهذا التقلص لا يقل سعة وقوة عن ذلك الناجم عن الفينيل إيفرين، الشكل 3. بعد وصول هذا التقلص إلى السعة القصوى الثابتة جرت الإضافة التدريجية والمتراكمة للخلاصة النباتية بالطريقة السابقة نفسها (حالة الفينيل إيفرين).



الشكل 3: تقلص الحلقة الأبهريّة بفعل تركيز عالٍ من أيونات البوتاسيوم (35 ميلي مول).

ج- تأثير الخلاصتين السابقتين في منحنى جرعة استجابة للفينيل إيفرين: في مجموعة التجارب التي صممت لأجل تحري تأثير الخلاصات في الاستجابة التقلصية للحلقات الأبهريّة للتركيز المتزايدة من الفينيل إيفرين، جرى أولاً إنشاء منحنى استجابة تقلصية للحلقة الأبهريّة لتركيز متزايدة ومتراكمة من الفينيل إيفرين وفقاً للتركيز التالية: 10^{-7} ، 3×10^{-7} ، 10^{-6} ، 3×10^{-6} و 10^{-5} مول. إذ عدت الحلقات في هذه الحالة شاهدة إيجابية، الشكل 4، ثم غسلت الحلقات نفسها وأضيف إليها الخلاصة النباتية بتركيز مختلفة: 300، 400 و 500 ملغ/ لتر. وأعيد المنحنى السابق نفسه بعد مدة حضانة بوجود الخلاصة بلغت 30 دقيقة، حيث يتبين لنا تأثير الخلاصة التنبيطي في حال وجوده في استجابة الحلقات الأبهريّة للفينيل إيفرين. وفضلاً عما سبق فقد تم أيضاً إعداد مجموعة أخرى من الحلقات الأبهريّة عوملت بالمعاملة السابقة نفسها، ولكن أعيد المنحنى بوجود الموسع الوعائي: البرازوسين.



الشكل 4: الاستجابة التقلصية المتزايدة للحلقة الأبهريّة بفعل حقن تراكيز متدرجة من الفينيل إيفرين

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

الوسطي \pm الخطأ المعياري للوسطي Mean \pm Standard error of mean.

طبق اختبار ستودنت (Student Test) للعينات صغيرة الحجم والمستقلة عند المقارنة بين المجموعات المختلفة التي خضعت للمعالجة بالخلاصات النباتية في ظل شروط تجريبية معينة (إعطاء حاصرات قنوات البوتاسيوم). كما طبق الاختبار نفسه ولكن بنوعه الخاص بالمجموعات غير المستقلة حين دراسة التغيرات التي تطرأ على المجموعات نفسها نتيجة إخضاعها للمعالجة اللاحقة (حالة منحنى تقلص الفينيل إيفرين وتغيراته مع الخلاصات والأدوية).

ويعتمد مستوى تقدير الأهمية الإحصائية P لتحديد وإقرار الفروق المعتمد بها ما بين المجموعات المختلفة 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 (IC_{50}) بطريقة رياضية اعتماداً على الخط البياني والمعادلة اللوغاريتمية التي تربط ما بين المتغيرين الرئيسيين، الجرعة والنسبة المئوية للارتخاء.

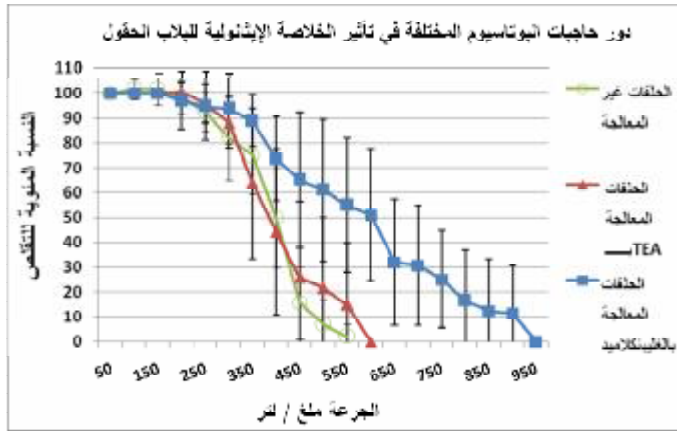
النتائج Results:

أ- تحديد دور قنوات البوتاسيوم في توسط الفعل المرخي للخلاصتين السابقتين:

مع الخلاصة الإيثانولية:

سببت المعالجة المسبقة للحلقات بحاصر قنوات البوتاسيوم Glibenclamide انزياحاً واضحاً لمنحنى الاستجابة الارتخائية للخلاصة الإيثانولية إلى اليمين، فهذا الحاجب أدى إلى تثبيط جزئي لفعل الخلاصة المرخي، الشكل 5، ($P \leq 0.05$). ودلّ على ذلك ارتفاع قيمة الـ IC_{50} إلى 495 ملغ/ لتر. أما الحاصر الآخر الذي استعمل وهو

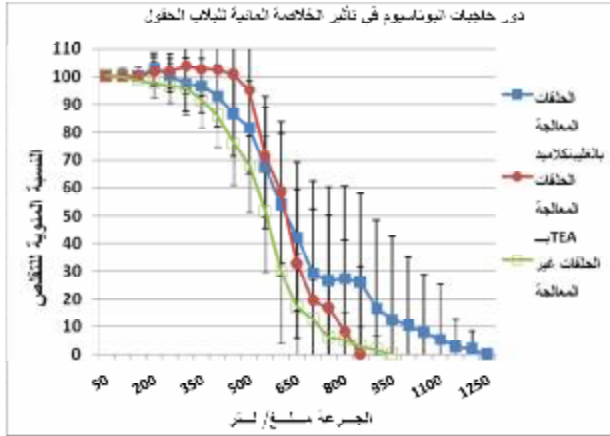
TEA، فلم يكن لوجوده أي شأن في تعديل الفعل المرخي للخلاصة الإيثانولية، الشكل
.5



الشكل 5: دور حاصرات قنوات البوتاسيوم المختلفة في التأثير المرخي للخلاصة الإيثانولية للبلاد الحقول.

مع الخلاصة المائية:

أمّا الحاصر TEA، فإنه لم يفعل شيئاً للتأثير المرخي للخلاصة المائية، الشكل 6. ولم يختلف الأمر إلا قليلاً مع الغلينكلاميد، إذ ظهر الفارق الجوهري في التأثير مع الحلقات غير المعالجة متأخراً ومع تتابع إعطاء الجرعات وخاصة حينما كان هذا الفعل المرخي ينحو نحو نهو نهايته، إذ سبب الغلينكلاميد حينها بطناً في الفعل المرخي، الشكل 6.

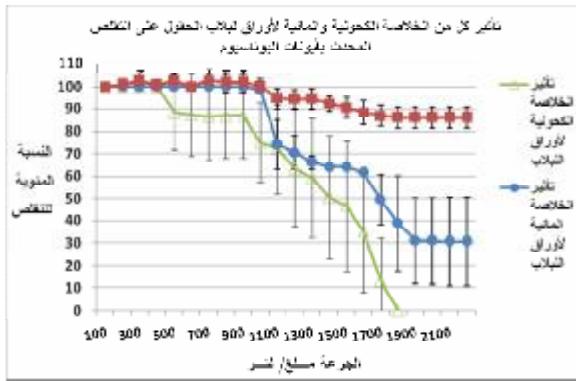


الشكل 6: حاصرات قنوات البوتاسيوم والتأثير المرخي للخلاصة المائية للبلاب الحقول.

ب- الفعل المرخي للخلاصات في الحلقات المقلصة بتركيز عالٍ من البوتاسيوم (35 ميلي مولاً):

أدت كل من الخلاصتين السابقتين لأوراق لبلاب الحقول (الإيثانولية والمائية) إلى تثبيط التقلص الناتج عن التركيز العالي من أيونات البوتاسيوم، ولكن بقدرة إرخائية مختلفة لكل منهما.

فبالخلاصة الإيثانولية كان لها تأثير مرخٍ مقارنة بالشاهد، واستمر هذا التأثير حتى عودة الحلقات إلى حالتها الأولى قبل تقلصها، الشكل 7، ($IC_{50} = 1556 \text{ mg/L}$). ولكن الخلاصة المائية لم يكن لها هذه القوة في التأثير المرخي، فاحتاج ذلك إلى جرعات أكبر، كما أن التأثير توقف عند حد معين لم ترتخ الحلقات المتقلصة معه أكثر من ذلك رغم حقن الجرعات المتزايدة، ($IC_{50} = 2153 \text{ mg/L}$)، الشكل 7.



الشكل 7: تأثير الخلاصتين الإيثانولية والمائية في التقلص بأيونات البوتاسيوم.

ج- تأثير الخلاصتين السابقتين في منحنى جرعة استجابة للفينيل إيفرين:

ثبطت كل من الخلاصتين المائية والإيثانولية لأوراق لبلاب الحقول استجابة الحلقات الأبهريية للفينيل إيفرين الشكلان 8 و 9، والجدولان 1 و 2. ومن الملفت أن الخلاصة المائية لهذا النبات كانت الأشد تأثيراً في هذه الحالة من الخلاصة الإيثانولية بشكل جلي جداً، الشكل 10 والجدول 3.

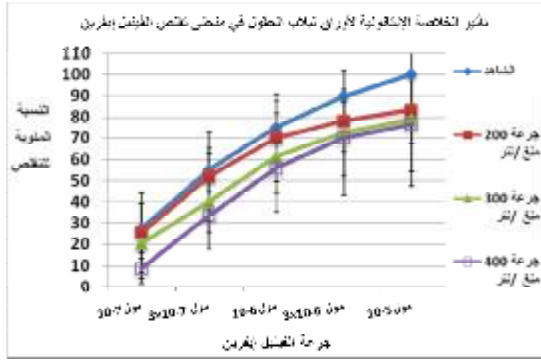
| مقدار الاستجابة العظمى E_{max} للفينيل إيفرين | الحلقات الخاضعة للتقلص المتزايد بالفينيل إيفرين |
|---|---|
| 100 % | قبل المعالجة |
| 83.3 ± 5.3 % | بعد المعالجة بـ 200 ملغ/ لتر |
| 79 ± 11.2 % | بعد المعالجة بـ 300 ملغ/ لتر |
| 76.5 ± 8.5 % | بعد المعالجة بـ 400 ملغ/ لتر |

الجدول 1: تأثير الخلاصة الإيثانولية للبلاب الحقول في مقدار الاستجابة العظمى E_{max} للفينيل إيفرين

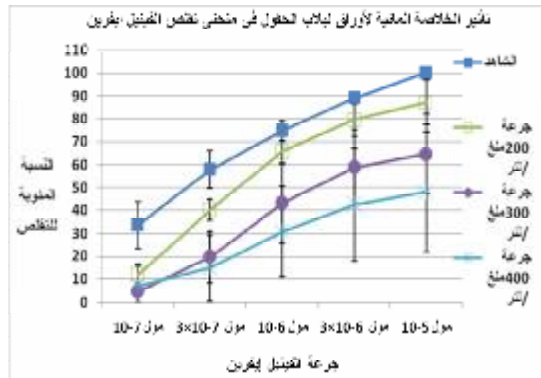
| مقدار الاستجابة العظمى E_{max} للفينيل إيفرين | الحلقات الخاضعة للتقلص المتزايد بالفينيل إيفرين |
|---|---|
| 100 % | قبل المعالجة |
| 87.2 ± 3.7 % | بعد المعالجة بـ 200 ملغ/ لتر |
| 64.7 ± 6.8 % | بعد المعالجة بـ 300 ملغ/ لتر |
| 48 ± 9.2 % | بعد المعالجة بـ 400 ملغ/ لتر |

الجدول 2: تأثير الخلاصة المائية للبلاب الحقول في مقدار الاستجابة العظمى E_{max} للفينيل إيفرين

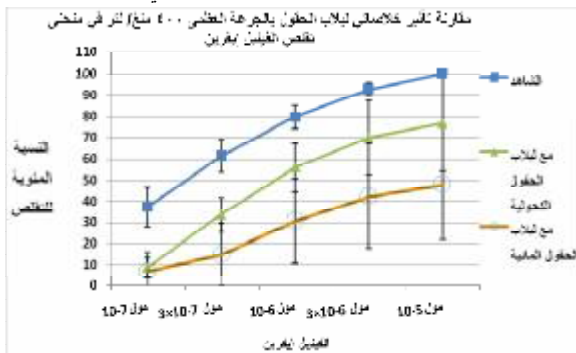
دراسة أثر التوسع الوعائي عند المستوى الجزيئي لخلاصات محضرة من نبات لبلاب الحقول
 في الحلقات الأبهريّة المعزولة
 Convolvulus arvensis



الشكل 8: الخلاصة الإيثانولية لنبات لبلاب الحقول تثبط منحنى الاستجابة للفينيل إيفرين.



الشكل 9: تثبيط الخلاصة المائية لنبات لبلاب الحقول لمنحنى الاستجابة للفينيل إيفرين.



الشكل 10: مقارنة ما بين تأثير خلاصتي لبلاب الحقول الإيثانولية والمائية بجرعة 400 ملغ/لتر في منحنى تثبيط الفينيل إيفرين.

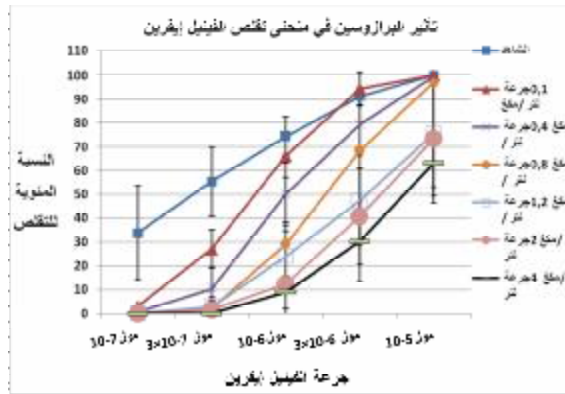
| | |
|---|---|
| الحلقات الخاضعة للتقلص المتزايد بالفينيل إيفرين | مقدار الاستجابة العظمى E_{max} للفينيل إيفرين |
| قبل المعالجة | 100 % |
| خلاصة اللبالب الإيثانولية | 76.5 ± 8.5 % |
| خلاصة اللبالب المائية | 48 ± 9.2 % |

الجدول 3: مقارنة التأثير التثبيطي للخلاصتين السابقتين بجرعاتهما العظمى (400 ملغ/ لتر) في

منحنى تقلص الفينيل إيفرين.

تأثير البرازوسين في منحنى تقلص الفينيل إيفرين:

البرازوسين ثبت بطريقة ممتازة ومعتمدة على الجرعة الاستجابة التقلصية للفينيل إيفرين، وذلك متوقع نظرا إلى التضاد في آلية التأثير الدوائي بين المركبين (البرازوسين من حاصرات α ، والفينيل إيفرين منبه قوي لها). الشكل 11 والجدول 5.



الشكل 11: البرازوسين مثبط قوي لاستجابة الحلقات الأبهريّة لمنحنى الفينيل إيفرين.

| | |
|---|---|
| الحلقات الخاضعة للتقلص المتزايد بالفينيل إيفرين | مقدار الاستجابة العظمى E_{max} للفينيل إيفرين |
| قبل المعالجة بالبرازوسين | 100 % |
| مع 0,2 مكغ/ لتر | 98.4 ± 1.6 % |
| مع 0,6 مكغ/ لتر | 96.9 ± 2 % |
| مع 1,2 مكغ/ لتر | 75.4 ± 10.8 % |
| مع 2 مكغ/ لتر | 73.3 ± 11 % |
| مع 4 مكغ/ لتر | 63.1 ± 5.6 % |

الجدول 5: تأثير البرازوسين بجرعات مختلفة في مقدار الاستجابة العظمى E_{max} للفينيل إيفرين

المناقشة Discussion:

من أهم أهداف هذا البحث التحري عن التأثير الموسع الوعائي في الشريان الأبهر لخلاصتي أوراق لبالب الحقول المائية والإيثانولية؛ وما أظهرته النتائج أنّ لقنوات

البوتاسيوم دوراً جزئياً في الفعل المرخي للخلاصتين. فقد سببت المعالجة المسبقة للحلقات بحاصر قنوات البوتاسيوم Glibenclamide انزياحاً واضحاً لمنحنى الاستجابة الارتخائية لخلاصة لبلاب الحقول الإيثانولية إلى اليمين، أي أنّ هذا الحاجب أدى إلى تثبيط جزئي لفعل الخلاصة المرخي، ودل على ذلك ارتفاع قيمة الـ IC_{50} إلى 495 ملغ/لتر. أما الحاصر الآخر الذي استعمل وهو TEA، فلم يكن لوجوده أي شأن في تعديل الفعل المرخي للخلاصة الإيثانولية، الشكل 5. وإذا أخذنا بالحسبان أنّ كل حاصر من هذين الحاصرين يثبط نوعاً مختلفاً من قنوات البوتاسيوم، فمركب TEA يثبط قنوات البوتاسيوم المنشطة بالكالسيوم Ca^{2+} -conductance (large-activated K^+ (BK_{Ca}) channels) أما الغليبنكلاميد فهو حاصر نوعي لقنوات البوتاسيوم المعتمدة على الـ ATP-sensitive K^+ (K_{ATP}) channels. وعليه يمكن القول: إنّ جزءاً من الفعل المرخي لتلك الخلاصة يتعلق بقناة البوتاسيوم المعتمدة على الـ K_{ATP} ATP ولا يتعلق بقناة البوتاسيوم المنشطة بالكالسيوم K_{Ca} . وحين نرى عدم تأثير الخلاصة المائية بالحاصر TEA، وتأثيرها المحدود والمتأخر بالغليبنكلاميد، نكاد نتيقن من أنّ فعلها المرخي الأقل تأثيراً من الإيثانولية لا علاقة له بقنوات البوتاسيوم من نوع K_{Ca} من جهة، وعلاقته محدودة بالقنوات من نوع K_{ATP} من جهة أخرى. ويمكن القول بشكل مبدئي: إنّ هناك تشابهاً واختلافاً في المواد التي تحويها كل من الخلاصتين والمسؤولة عن الفعل المرخي على مستوى قنوات البوتاسيوم، ولاسيما حين الأخذ بالحسبان أنّ الخلاصة الإيثانولية كانت أشد فعالية من المائية.

أما دراسة تأثير الخلاصة في تدفق أيونات الكالسيوم إلى داخل الليف العضلي الأملس فهي خطوة مهمة في كشف أوجه التأثير الموسع الوعائي، وتجري عبر إحداث تقلص مديد للحلقات الأبهريّة بتركيز مرتفع من أيونات البوتاسيوم وملخص آلية التقلص أنّ التركيز المرتفع من أيونات البوتاسيوم خارج الغشاء يعني إنقاص التدرج الطبيعي الإلكتروني كهربائي للبوتاسيوم من الداخل إلى الخارج، ومن ثمّ عدم خروج أيونات البوتاسيوم إلى الخارج كما في الحالة الطبيعية مما يتسبب في زوال استقطاب غشاء الخلية Depolarization وتثبيط قنوات الكالسيوم المعتمدة على الكهربية Voltage-gated calcium channels متيحة لأيونات الكالسيوم الاندفاع للداخل وإحداث التقلص. وهذه العملية تشكل خطوة مهمة عند تحري التأثيرات الموسعة لكثير من الخلاصات والمركبات (15، 16). فحين حدوث تثبيط للتقلص الحادث بتركيز مرتفع من أيونات البوتاسيوم فهذا معناه أنّ ثمة تأثيراً في تدفق الكالسيوم الخارجي إلى الداخل (16). أظهرت الخلاصة الإيثانولية لنبات لبلاب الحقول تأثيراً مرخياً لهذه الحلقات المتقلصة بأيونات البوتاسيوم مقارنة بالحلقات الشاهدة، ولكن الفعل المرخي بمجمله للخلاصة الإيثانولية قد احتاج إلى جرعات أكبر مقارنة بالحلقات مسبقة

التقلص بالفينيل إيفرين، وبلغت قيمة الـ IC_{50} في هذه الحالة 1556 ملغ/ لتر. أما الخلاصة المائية فلم يكن لها هذه القوة في التأثير المرخي، حيث احتاج ذلك إلى جرعات أكبر، كما أن التأثير توقف عند حد معين لم ترتخ الحلقاات المتقلصة معه أكثر من ذلك رغم حقن الجرعات المتزايدة، ($IC_{50} = 2153 \text{ mg/L}$). وهذا ما يدفع للقول: إنَّ هناك مواد في الخلاصة لها دور أكيد مباشر في تثبيط دخول أيونات الكالسيوم إلى داخل الليف العضلي عبر قنوات الكالسيوم المعتمدة على الفولتايج. يختلف تركيز هذه المواد ما بين الخلاصتين، أو تختلف طبيعتها بين الخلاصتين.

يمثل إجراء منحنى جرعة استجابة للفينيل إيفرين خطوة مهمة إلى الأمام لتبيان وجود الفعل وآليته للخلاصات السابقة (16). وقد أظهرت الخلاصتان السابقتان نسبا متقاربة في تثبيط المنحنى التقلصي المتزايد للفينيل إيفرين، ولكنها استطاعت تثبيط هذا المنحنى بشكل ملحوظ، الأشكال 8، 9 و 10. ويدل التثبيط السابق على وجود تثبيط تنافسي لتأثير الفينيل إيفرين عند المستقبلات α_1 ، وهو الاحتمال الأكثر قبولا لدى بعضهم في مثل هذه الحالات (17). كما يمكن تفسيره أيضاً بأن هناك تثبيطاً جزئياً تنافسياً غير عكوس لمستقبلات α_1 ، أو تأثيراً تنافسياً بتضاد الفعل الدوائي، إذ إنَّ الفينيل إيفرين وبعد تثبيته للمستقبلات السابقة يعمل على تحرير الكالسيوم من مخزنها الداخلية، والخلاصات السابقة قد تعاكس التأثير الفيزيولوجي اللاحق لتحرير الكالسيوم، ويدعم الذهاب إلى أكثر من احتمال حول ماهية آلية التأثير الخاصة بتثبيط منحنى الاستجابة للفينيل إيفرين، حقيقة النتيجة أن الخلاصة المائية التي أظهرت نتيجة ارتخائية متواضعة في الحالات السابقة مقارنة بتلك الإيثانولية، كانت الأشد تثبيطاً لهذا المنحنى من الإيثانولية ذاتها. ومرة أخرى تؤكد النتائج السابقة أن الخلاصات المستعملة تحوي عديداً من المركبات تؤثر بالارتخاء بصورة مختلفة عن بعضها بعضاً. فالخلاصة التي كانت ضعيفة نسبياً في مراحل سابقة أظهرت الآن شدة في تثبيط منحنى الفينيل إيفرين. أما تثبيط البرازوسين القوي والمعتمد على الجرعة للاستجابة التقلصية للفينيل إيفرين فهو متوقع نظراً إلى التضاد في آلية التأثير الدوائي بين المركبين (البرازوسين من حاصرات α ، والفينيل إيفرين منبه قوي لها)، وقد جاء استعماله هنا كمرجع دوائي لتقييم التأثير التثبيطي الناجم عن الخلاصة النباتية.

الاستنتاج: يتعلق التأثير المرخي (الموسع الوعائي) لخلاصتي نبات لبلاب الحقول السابقتين جزئياً بقنوات البوتاسيوم والكالسيوم والمستقبلات الأدرينرجية α_1 ، والاختلاف فيما بينهما بشدة هذا التأثير قد يعود إلى اختلاف محتوى كل منها من المواد الفعالة سواء بالنوع أو بالتركيز. وعليه فإن هناك حاجة علمية ملحة لعزل المكونات الفعالة المسؤولة عن الفعل المرخي وكشفها للخلاصتين وتحديد تركيزها وآلية التأثير.

المراجع

- 1-Guyton and Hall. Text book of Medical Physiology. W.B.Saunders Compan, Philadelphia, pages: 161-205, 1996.
- 2- Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Versari D, Salvetti A. Endothelium, aging, and hypertension. Curr Hypertens Rep; 8(1):84-9, 2006
- 3- Howland R.D and Mycek M.J. Pharmacology 3rd edition. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, Pages: 207-226, 2006.
- 4- Toru Ilzuka, Seiji Nagumo, Hideomi Yotsumoto and Hiroyos Moriyama. Vaorelaxant Effects of Acer nikoense Extracts and isolated coumarinolignans on Rat Aortic rings. Biol. Pharm. bull; 30(6): 1164-1166, 2007.
- 5- Donald F. Slish, Hiroko Ueda, Rosita Arvigo, Michael J. Balick. Ethnobotany in the search for vasoactive herbal medicines. Journal of Ethnopharmacology, 66:159-165, 1999.
- 6- Chien Ming Hu et al. Mechanisms underlying the induction of vasorelaxation in rat thoracic aorta by Sanguinarine. JPN.J.Pharmacol, 85, 47-53, 2001.
- 7- د وائل الأغواني، د سوسن الماضي، د أنطون اللحام ود غسان عليا. التأثيرات الموسّعة الوعائية لنبات اللبلاّب *Convolvulus arvensis* على الشريان الأبهري المعزول من الأرنب. المجلة العربية للعلوم الصيدلانية، العدد التاسع، المجلد الثالث: 39-48، شباط 2009.
- 8- Todd FG, Stermitz FR, Schultheis P, Knight AP, Traub-Dargatz J. Tropane alkaloids and toxicity of *Convolvulus arvensis*. Phytochemistry; 39 (2):301-3, 1995.
- 9-Meng XL, Riordan NH, Casciari JJ, Zhu Y, Zhong J, González MJ, Miranda- Massari JR, Riordan HD. Effects of a high molecular mass *Convolvulus arvensis* extract on tumor growth and angiogenesis. P R Health Sci J; 21(4):323-8, 2002.
- 10- Atta AH. And Mouneir SM. Antidiarrhoeal activity of some Egyptian medicinal plant extracts. J Ethnopharmacol; 92(2-3): 303-9, 2004.
- 11 -Yu Huang, Nickie Wai Kei Chan. Involvement of endothelium in relaxant action of glibenclamide on the rat mesenteric artery. European journal of pharmacology, (343) 27-33, 1998.
- 12- Wang R, Wu L. The chemical modification of K_{Ca} channels by carbon monoxide in vascular smooth muscle cells. J Biol Chem; 272:8222-8226, 1997.
- 13- Aguilar-Bryan L, Clement JP, Gonzalez G, Kunjilwar K, Babenko A. and Bryan J. Toward understanding the assembly and structure of K_{ATP} channels. Physiol Rev; 78:227-245, 1998.
- 14- Quayle JM, Nelson MT, Standen NB. ATP-sensitive and inwardly rectifying potassium channels in smooth muscle. Physiol Rev; 77:1165-1232, 1997.
- 15- Guedes D.N; Silva D.F; Barbosa-Filho J.M. and Medeiros I.A. Calcium antagonism and the vasorelaxation of the rat aorta induced by rotundifolone. Braz J Med Biol Res; 37(12) 1881-1887, 2004.
- 16- Wing-Huang KO et al. Vasorelaxation and antiproliferation effects of berberine. European Journal of Pharmacology, 399:187-196, 2000.
- 17- Olmez, E., Ilhan, M. Evaluation of the alpha-adrenoceptor antagonistic action of berberine in isolated organs. *Arzneimittelforschung*, 42:1095-1097, 1992.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق: 2009/12/24.

تاريخ قبوله للنشر: 2010/6/24.