



Original Article

## Vascular effects of aqueous *Crocus sativus* petals' extract in the hypertensive rats

**Khadijeh Farrokhfall** <sup>1</sup>, **Zahra Fatehi Hassanabad**  <sup>2</sup>, **Zahra Gholamnejad**  <sup>3</sup>

### ABSTRACT

**Background and Aim:** *Crocus sativus* (*C. sativus*) petals attenuates smooth muscle tension and blood pressure in control animals. However the antihypertensive effect and its mechanisms haven't been recognized. This study investigates the antihypertensive effects of *C. sativus* petals' aqueous extract in hypertensive rats and also responses of the rat isolated perfused mesenteric bed.

**Materials and Methods:** The interventional experimental study was performed on 20 male rats (divided to 5 and 15 rats for in vivo and in vitro studies respectively). Hypertension was induced by DOCA-salt injection (20 mg/kg, twice weekly, for 5 weeks, S.C) and water was replaced by NaCl (1%). Five weeks later, animals were anaesthetized with sodium thiopental (30 mg intraperitoneal). Then systemic arterial blood pressure was measured by cannulation of carotid artery following administration of different doses of aqueous extract of *C. sativus*. Isolated mesenteric beds precontracted with KCl (40 mM), and the tension was measured in presence of different concentrations of the aqueous extract. Finally, various doses of *C. sativus* extract were applied after incubation by L-NAME or indomethacin. The mesentry was perfused with pump and the recordings were done by physiograph.

**Results:** Mean arterial blood pressure in hypertensive rats was  $231 \pm 6$  mmHg. Administration of aqueous extracts of *C. sativus* reduced the blood pressure in a dose-dependent manner. In mesenteric beds preparation, addition of *C. sativus* reduced the contractile effects of KCl. Incubation with L-NAME but not indomethacin abolished hypotension effect of the extract.

**Conclusion:** It was proposed that the antihypertensive effects of *C. sativus* petals' extract are through the reduction in total peripheral resistance following nitric oxide production.

**Key Words:** Crocus Sativus Petals, Hypertension, Rat, Mesenteric Artery



**Citation:** Farrokhfall Kh, Fatehi Hassanabad Z, Gholamnejad Z. [Vascular effects of aqueous *Crocus sativus* petals' extract in the hypertensive rats] J Birjand Univ Med Sci. 2020; 27(3): 265-274. [Persian].

**DOI** <http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.105>

**Received:** July 17, 2019

**Accepted:** November 10, 2019

<sup>1</sup> Cardiovascular Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

<sup>2</sup> Imam Zaman Hospital, Mashad, Iran.

<sup>3</sup> Physiology Department, Faculty of Medicine, Mashad University of Medical Sciences, Mashad, Iran

**Corresponding author:** Cardiovascular Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

Tel: +985632381566

Fax: +985632433004

Email: kfarrokhfall@yahoo.com

## بررسی اثرات عروقی عصاره آبی گلبرگ زعفران در موش صحرایی با فشار خون بالا

خدیجه فرخ فال<sup>۱</sup>, زهرا فاتحی حسن‌آباد<sup>۲</sup>, زهرا غلام‌نژاد<sup>۳</sup>

### چکیده

زمینه و هدف: گلبرگ زعفران، تانسیون عضله صاف احتشایی را کاهش میدهد و نیز فشار خون نرمال را کم می‌نماید؛ اما اثر خدمت فشار خونی و مکانیسم آن شناخته نشده است. در این مطالعه، اثرات ضد فشار خونی عصاره گلبرگ زعفران با بررسی پاسخ‌های انقباضی بستر عروقی مزانتر در حیوانات فشار خونی مطالعه شد.

روش تحقیق: این مطالعه تجربی مداخله‌ای بر روی ۲۰ رت نر (۵ رت برای مطالعه درون تنی و ۱۵ رت برای مطالعه برون تنی) انجام شد. فشار خون با نمک دزوکسی کورتیکواسترون استات (۲۰ mg/kg، زیرجلدی دو بار در هفته و بهمدت ۵ هفته) و جایگزینی آب با محلول کلرید سدیم یک درصد ایجاد گردید. بعد از ۵ هفته، بیهوشی با تیوبیتان سدیم (۳۰ mg/kg، داخل صفاقی) ایجاد و فشار خون شریانی بهدبال تجویز دوزهای مختلف عصاره آبی زعفران با لوله‌گذاری شریان کاروتید اندازه‌گیری شد؛ سپس مزانتر ایزوله با کلرید پتاسیم (۴۰ میلی‌مولا) منقبض شد و غلظت‌های مختلف عصاره اضافه گردید. در نهایت در حضور L-NAME و ایندومتاسن، نیروی انقباضی مزانتر با غلظت‌های مختلف عصاره بررسی شد. تانسیون مزانتر، توسط فیزیوگراف ثبت گردید.

یافته‌ها: فشار خون متوسط شریانی در رت‌های مبتلا به فشار خون  $231 \pm 6$  mmHg بود. تجویز عصاره آبی گلبرگ زعفران، فشار خون شریانی را به صورت وابسته به دوز کاهش داد. عصاره، نیروی انقباضی بستر عروقی مزانتر را کاهش داد. مجاورت بافت با L-NAME و نه ایندومتاسن، پاسخ کاهنده‌گی فشار عصاره را از بین برداشت.

نتیجه‌گیری: اثرات ضد فشار خونی عصاره گلبرگ زعفران احتمالاً از طریق کاهش مقاومت کل محیطی به‌واسطه نیتریک اسید اعمال می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: گلبرگ زعفران، پر فشاری خون، رت، بستر عروقی مزانتر

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۹؛ ۲۷: ۲۶۵-۲۷۴.

دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۲۶ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۹

<sup>۱</sup> مرکز تحقیقات بیماری‌های قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

<sup>۲</sup> بیمارستان امام زمان، مشهد، ایران

<sup>۳</sup> گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

\*نویسنده مسؤول؛ مرکز تحقیقات بیماری‌های قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- مرکز تحقیقات بیماری‌های قلب و عروق

تلفن: ۰۵۶۳۳۸۱۵۶۶. نامبر: ۰۵۶۳۳۴۳۳۰۰۴. پست الکترونیکی: kfarrokhfall@yahoo.com

## مقدمه

مثل قطعات برش‌خورده هندوانه بسیار مؤثر است (۱۰). در جستجوی مقالات در منابع علمی، ما تنها یک مطالعه را پیدا کردیم که در ارتباط با اثر گلبرگ زعفران بر فشار خون انجام شده است. در این مطالعه اثر عصاره آبی گلبرگ زعفران بر انقباض عضله صاف احشایی و فشار خون سیستمیک مورد بررسی قرار گرفته است (۱۱). در مطالعه اشاره شده مشخص گردید که عصاره آبی گلبرگ زعفران قادر است فشار خون را در رت‌های شاهد با فشار خون طبیعی کاهش دهد و همچنین انقباض ایجاد شده در عضله صاف احشایی را کاهش دهد، ولی اثر این عصاره بر عضله صاف عروق مشخص نشده است (۱۱).

فشار خون شریانی بالا (هیپرتانسیون<sup>۱</sup>، مهمترین معضل درمانی در کشورهای توسعه‌یافته و همچنین در کشور ماست. حدود ۳۰ درصد جمعیت شهری و روستایی ایران مبتلا به فشار خون بالا می‌باشند (۱۲). در سال ۲۰۱۰ حدود ۱/۳۹ بیلیون نفر در دنیا مبتلا به پرفشاری خون بوده‌اند که ۱/۰۴ بیلیون نفر آنها در کشورهای کمدرآمد و با درآمد متوسط زندگی می‌کرده‌اند. فشار خون بالا، تهدیدکننده حیات است و بیماری‌زایی بالایی دارد؛ از جمله عوارض آن، حمله‌های قلبی و مغزی است که شایع‌ترین علت مرگ و میر در دنیا به‌شمار می‌رود (۱۳).

با وجود داروهای متعدد ضد فشار خون، کنترل دقیق و صحیح آن به سختی انجام می‌شود. زعفران، گیاهی است که به فراوانی در استان خراسان کشت می‌شود و همیشه گلبرگ‌های آن بدون مصرف مانده و دور ریخته می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات فارماکولوژیکی عصاره آبی گلبرگ زعفران بر سیستم عروقی رت‌های دچار فشار خون بالا و همچنین بر عضلات صاف عروق (بستر عروقی مزانتر) بود.

زعفران (*Crocus sativus*) گیاهی چند ساله، به ارتفاع ۱۰–۳۰ سانتی‌متر و دارای پیازی سخت، مدُر و گوشت‌دار و پوشیده از غشاها نازک و قهوه‌ای رنگ است. منشأ اصلی آن، نواحی مختلف آسیا می‌باشد ولی امروزه با توسعه‌ای که پرورش آن پیدا کرده است در نواحی مختلف یافت می‌گردد. در ایران پرورش زعفران در نواحی مختلف خراسان صورت می‌گیرد. گل‌های زعفران، ظاهر لوله‌ای باریک و دراز منتهی به شش تقسیم بزرگ به رنگ بنفش دارد. قسمت مورد استفاده گیاه، ناحیه انتهای خامه و کلاله است که تحت عنوان زعفران وارد بازار تجارت می‌شود. تکثیر این گیاه به‌وسیله پیاز و در اواسط تیرماه صورت می‌گیرد (۱).

تاکنون مطالعات فراوانی بر روی زعفران انجام شده و خواص درمانی متعددی به زعفران نسبت داده شده است (۲) که در اینجا به نتایج برخی از آنها به‌ویژه مطالعاتی که در رابطه با خواص گلبرگ زعفران صورت گرفته است، به اختصار اشاره می‌شود. برای مثال، طی چند مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره گلبرگ زعفران مورد بررسی قرار گرفته که در همه آنها بالاترین محتوای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین مربوط به گلبرگ زعفران گزارش گردیده است (۳–۶). گلبرگ زعفران دارای قدرت احیاکنندگی بالایی است؛ همچنین در سیستم بتاکاروتن / لینوئیک اسید توانایی بالایی در کاهش اکسیداسیون دارد، به‌طوری که گلبرگ زعفران می‌تواند به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی (۶) جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنایع غذایی باشد. اثرات آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیک عصاره گلبرگ زعفران نیز اثبات شده است (۷). گلبرگ زعفران خواص حفاظتی بر کبد بدون ایجاد عوارض جانبی یا سمیت تا دوز ۴۵۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن در رت شاهد دارد (۸)؛ همچنین در رت‌های دیابتی با استرپتوزوتوبسین، سبب کاهش قند خون و بهبود نشانه‌های بافت‌شناسی نفوropاتی دیابتی می‌گردد (۹) و نیز به‌عنوان نگهدارنده، در حفظ مواد غذایی

<sup>۱</sup> Hypertension

عرض غلظت‌های مختلف عصاره آبی گلبرگ زعفران ( $1\text{, }2\text{ و }4\text{ mg/ml}$ ) قرار گرفت.

(۲) گروه ایندومتاسین: مزانتر این حیوانات جدا شد و پس از مجاورت با ایندومتاسین ( $10\text{ میکرومولار}$ ، با کلرید پتاسیم منقبض گردید؛ سپس در معرض غلظت‌های مختلف عصاره آبی گلبرگ زعفران ( $1\text{, }2\text{ و }4\text{ mg/ml}$ ) قرار گرفت.

(۳) گروه L-NAME: مزانتر این حیوانات جدا شد و پس از مجاورت با L-NAME ( $100\text{ میکرومولار}$ ، با کلرید پتاسیم منقبض گردید؛ سپس در معرض غلظت‌های مختلف عصاره آبی گلبرگ زعفران ( $1\text{, }2\text{ و }4\text{ mg/ml}$ ) قرار گرفت.

هیپرتانسیون شریانی، توسط تزریق دزوکسی کورتیکواسترون استات (دوکا،  $20\text{ میلیگرم بهازای هر کیلوگرم از وزن بدن به صورت تزریق زیرجلدی}$ ، در ناحیه شکمی و کنار داخلی محل اتصال پاهای عقبی به شکم حیوان، هفت‌های دو بار به مدت ۵ هفته) به همراه جایگزینی آب معمولی با آب حاوی نمک طعام (یک درصد) ایجاد گردید. (۱۶)

در کل دوره آزمایش، حیوانات به طور آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. پس از ۵ هفته، حیوانات با تزریق تیوپنتال‌سدیم ( $30\text{ میلیگرم بهازای هر کیلوگرم از وزن بدن حیوان}$ ) بیهوش گردیدند؛ سپس شریان کاروتید و ورید گردنی حیوان کانول گذاری شد که از کانول وریدی برای تزریق عصاره استفاده شد و کانول شریانی برای ثبت فشار خون به مبدل (Narco Bio-Systems, Inc., transducer) فشار (Houston, TX, USA) وصل شد؛ به این ترتیب فشار سیستول، فشار دیاستول و نیپس در تمامی حیوانات ثبت گردید (۱۷)؛ سپس دوزهای مختلفی از عصاره (به ترتیب:  $3\text{, }10\text{ و }17\text{ میلیگرم بهازای هر کیلوگرم وزن رت و حداقل با حجم }3/0\text{ میلیلیتر}$ ) به حیوانات از طریق ورید گردنی تزریق شد. قابل ذکر است ابتدا دوز کم تزریق و به دنبال از

## روش تحقیق

در این مطالعه،  $20$  عدد از موش‌های صحرایی نر نژاد Sprague-Dawley (با وزن  $200\text{-}250\text{ گرم}$ ) تهیه شده از مؤسسه سرم‌سازی رازی مشهد، استفاده شد. حیوانات تا زمان انجام آزمایش در اتاقی با دمای  $22\pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت  $55\pm 5$  درصد و در شرایط  $12$  ساعت روشنایی و  $12$  ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند و تغذیه آنها نیز با غذای استاندارد انجام می‌شد. در این مطالعه ملاحظات اخلاقی در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی نظیر بیهوشی و جراحی، انجام شد.

پس از تهیه گلبرگ زعفران (شماره هرباریوم:  $1-0319$ ) از منطقه بیرجند و تمیزتمودن آن (جدا کردن پرچم، کالله و ساقه‌های بلند احتمالی به گونه‌ای که فقط گلبرگ آن باقی بماند)، گلبرگ‌ها در تاریکی خشک و به صورت پودر در آورده شد؛ سپس  $50\text{ گرم از گلبرگ خشک شده زعفران در }100\text{ میلیلیتر آب مقطرا به مدت }48\text{ ساعت خیسانده و در }40\text{ درجه سانتی‌گراد به مدت }72\text{ ساعت روی دستگاه چرخاننده قرار داده شد. درنهایت عصاره حاصل، از کاغذ صافی واتمن شماره  $14$  عبور داده شد و برای حذف حلال در دستگاه بن‌ماری با دمای  $45$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا پودر خشک شده به دست آید (۱۴, ۱۵).$

در قسمت درون‌تنی، فشار خون در  $5$  رت به روی که در ادامه بیان می‌گردد اندازه‌گیری شد و اثر دوزهای مختلف زعفران ( $3\text{, }10\text{ و }17\text{ میلیگرم بهازای هر کیلوگرم وزن بدن رت}$ ) بر فشار خون بررسی گردید؛ بدین منظور هر سه دوز زعفران به هر حیوان تزریق شد.

در قسمت برون‌تنی، مطالعه بر روی  $15$  عدد موش صحرایی فشار خونی (این حیوانات در شرایط درون‌تنی تزریق زعفران نداشتند) انجام شد. این موش‌ها به طور تصادفی به سه گروه  $5$  تایی به ترتیب زیر تقسیم شدند:

(۱) گروه فشار خون: مزانتر این حیوانات جدا شد و پس از انقباض با کلرید پتاسیم ( $40\text{ میلی مولار}$ ، در

بافت به مدت ۲۰ دقیقه در مجاورت ایندوماتاسین با غلظت ۱۰ میکرومولار (۱۸) و یا L-NAME با غلظت ۱۰۰ میکرومولار (۱۹) قرار گرفت.

لازم به ذکر است داروهای دزکسی کورتیکواسترون استات (شرکت ایران هورمون)، ایندوماتاسین، و نیترو ال آرژنین متیل استر (L-NAME) از شرکت سیگما؛ کلرید سدیم، کلرید پتاسیم، منیزیم سولفات، کربنات سدیم، گلوکز، پتاسیم‌دی‌هیدروژن ارتوفسفات و کلرید سدیم از شرکت Merck و تیوپتال سدیم از شرکت Biochemie اتریش در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

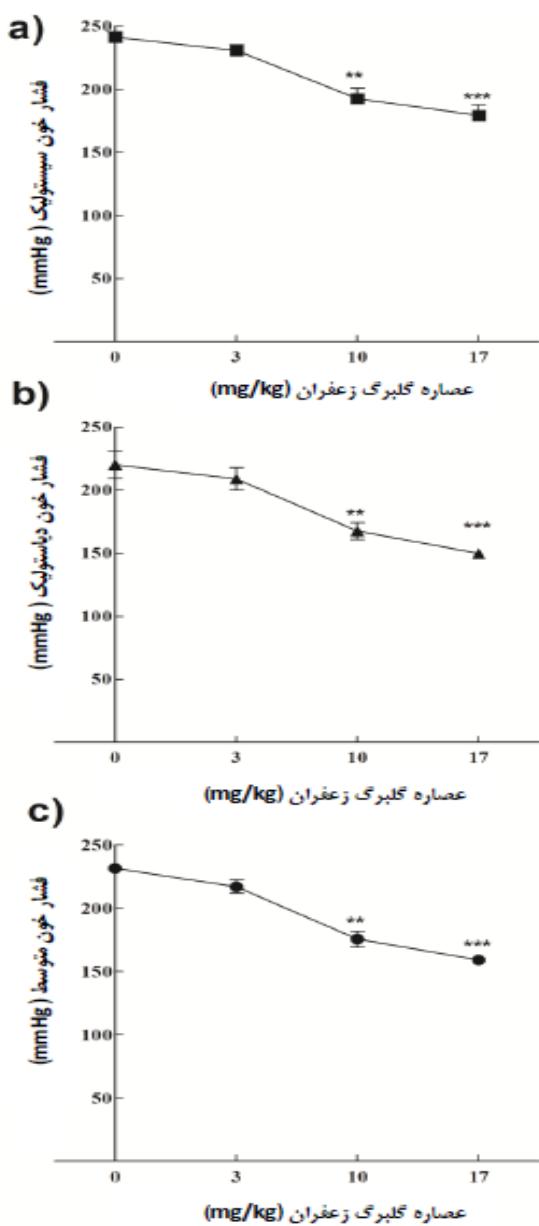
در این آزمایش نتایج بر حسب میانگین  $\pm$  انحراف از معیار بیان شده است. P کمتر از ۰/۰۵ نیز به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای آنالیز داده‌های مربوط به اثر عصاره بر فشار خون متوسط شریانی و فشار پروفوزیون بستر عروقی مزانتر، آزمون repeated ANOVA انجام شد و در صورت معنادار شدن، تست تعقیبی Bonferroni مورد استفاده قرار گرفت. در ارتباط با نقش ایندوماتاسین و L-NAME در اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر فشار پروفوزیون مزانتر، آزمون two-way ANOVA Bonferroni انجام شد. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار آماری Prism (ویرایش ۷) و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۵) صورت گرفت.

## یافته‌ها

### بررسی اثرات عصاره آبی گلبرگ زعفران بر فشار خون و ضربان‌های قلبی حیوانات:

تجویز عصاره آبی گلبرگ زعفران به حیوانات هیپرتانسیونی (بیهوش شده توسط تیوپتال سدیم)، سبب کاهش فشار خون شریانی (سیستولیک، دیاستولیک و متوسط) گردید؛ برای مثال تزریق داخل وریدی ۱۰ mg/kg عصاره، فشار خون سیستولیک، دیاستولیک و متوسط را به ترتیب از:  $۲۴۰ \pm ۴$ ،  $۲۳۱ / ۵ \pm ۳ / ۱$  و  $۲۲۰ / ۸ \pm ۶$  میلیمتر جیوه به

بین رفتن اثر دارو و برگشت فشار خون به وضعیت قبل از تزریق (تقریباً پس از ۱۰ دقیقه)، دوز بعدی تزریق گردید. قبل از باز نمودن شکم، ۱۰۰۰ واحد هپارین از طریق ورید ژوگلار به رت‌ها تزریق شد. بستر عروقی مزانتر پس از باز کردن حفره شکم با یک برش T شکل، و سپس کانول گذاری در شریان مزانتریک از محل اتصال به روده‌ها به دقت جدا شد (۱۷)؛ به این صورت که شاخه‌های پانکراتیکوڈئونال، ایلیوکولیک و کولیک شریان مزانتریک فوقانی گره زده شد. سپس شریان مزانتریک فوقانی از بافت‌های اطراف در ناحیه آئورت جدا و لوله پلاستیکی از ناحیه دیستال شروع شریان از آئورت به آن وارد شد. در حالی که شریان مزانتریک فوقانی لوله‌گذاری شده بود (لوله در داخل شریان کاملاً به شریان با نخ گره زده شده بود)، با برش نزدیک به حاشیه روده‌ای مزانتر، مزانتر از روده‌ها جدا گردید و به پتری‌دیش حاوی محلول کربس منتقل شد. در طول مدت آزمایش، مزانتر ایزوله به پمپ پروفوزیون مزانتر متصل بود (Gilson Minipuls 2, Villiers, France) و توسط کربس تغذیه می‌گردید. محتویات کربس بر حسب میلی‌مولاً شامل: کلرید سدیم (۱۱۸/۴)، کلرید پتاسیم (۱۱۸/۴)، منیزیم سولفات (۱/۲)، بیکربنات سدیم (۰/۵)، گلوکز (۰/۱)، پتاسیم دی‌هیدروژن ارتوفسفات (۰/۲) و کلرید کلسیم (۰/۵) بود (۱۷). دمای محلول کربس  $37^{\circ}\text{C}$  بود و با سرعت ثابت ۲ میلی‌لیتر در دقیقه در حالی که توسط اکسیژن (۹۵٪) و دی‌اکسید کربن (۵٪) گازدهی می‌شد، به مزانتر وارد می‌گردید. برای جلوگیری از تجمع کربس در بشقابک حاوی بافت، مایع خارج شده از انتهای روده‌ای مزانتر با سرعت ۲ میلی‌لیتر در دقیقه به خارج تخلیه می‌شد. به مدت ۳۰ دقیقه به بافت اجازه داده شد که با شرایط عادت نمایند. بافت‌ها توسط کلرید پتاسیم (به میزان ۴۰ میلی‌مولاً) منقبض گشته و غلظت‌های متفاوتی از عصاره به کربس اضافه شد. برای مشخص نمودن اینکه آیا اثرات عصاره از طریق پروستاگلاندین‌ها و یا نیتریک اکساید اعمال می‌گردد یا خیر،

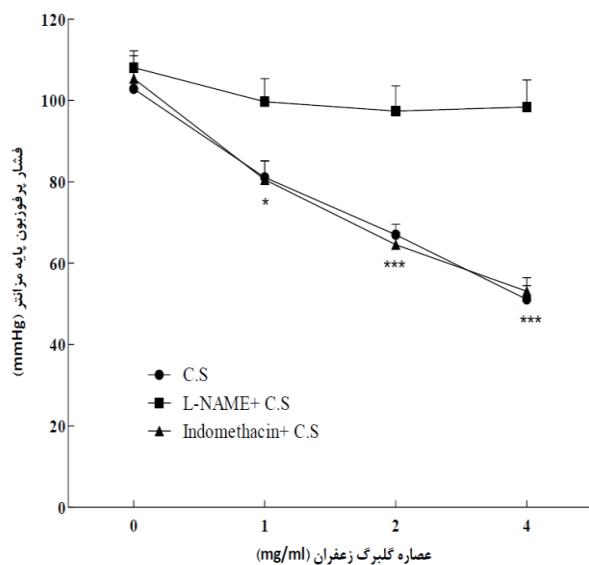


نمودار ۱ - اثر دوزهای مختلف عصاره آبی (۳، ۱۰ و ۱۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) گلبرگ زعفران (C.S) بر فشار خون سیستولیک (۱a)، دیاستولیک (۱b) و فشار خون متوسط شریانی (۱c)، پس از بیهوش کردن حیوانات توسط تیوپتال (۳۰ mg/kg، به صورت داخل صفاقی)، دوزهای مختلفی از عصاره آبی به آنها تزریق گردید (تعداد حیوان: ۵ رت فشار خون بالا). نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. انجام آزمون تست تعقیبی Bonferroni پس از آزمون repeated ANOVA، نشان دهنده سطح معنی داری کاهش فشار خون  $P < 0.001$ ،  $***P < 0.01$ ،  $**P < 0.05$  در مقایسه با قبل از تزریق عصاره بود.

۱۶۷±۸/۶، ۱۹۲±۸/۵ و ۱۷۵/۵±۶/۳ میلیمتر جیوه کاهش داد (میانگین ± انحراف معیار) ( $P < 0.001$ ، نمودار ۱a، ۱b، ۱c). با توجه به اینکه فشار خون متوسط شریانی در سیستم قلبی - عروقی نشان دهنده فشار خون به طور کلی می باشد، در ادامه بیشتر در رابطه با فشار متوسط بحث می شود (حداکثر افت فشار در غلظت ۱۷mg/kg ایجاد شده است). نبض حیوانات مورد آزمایش در گروه فشار خونی  $40.7 \pm 15$  بود که به دنبال تزریق دوزهای ۳، ۱۰ و ۱۷ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن رت از این عصاره به ترتیب به:  $30.6 \pm 13$ ،  $38.9 \pm 10$  و  $38.8 \pm 12$  کاهش یافت که از نظر آماری معنی دار نبود.

#### ۴ بررسی اثرات عصاره آبی گلبرگ زعفران بر بستر عروقی مزانتر:

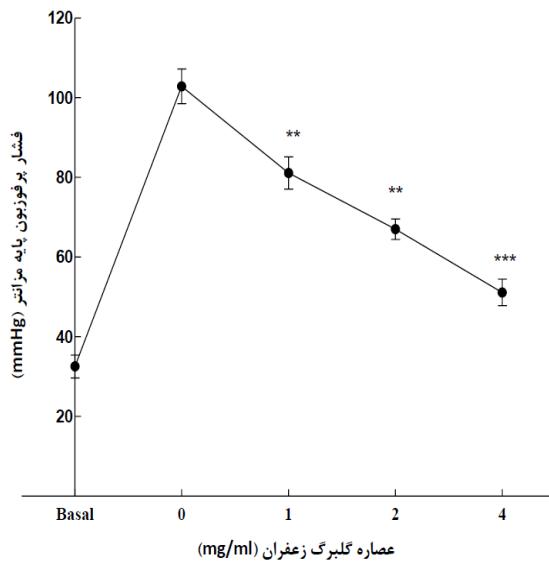
بستر عروقی مزانتر توسط کلرید پتاسیم (۴۰ mM) منقبض شد. به دنبال انقباض، فشار پروفوزیون مزانتر از  $32 \pm 3/2$  میلیمتر جیوه به  $10.3 \pm 4.6/5$  میلیمتر جیوه افزایش یافت (شکل ۲). اضافه نمودن غلظت‌های مختلفی از عصاره گربس، سبب کاهش انقباض ناشی از کلرید پتاسیم گردید؛ برای مثال اضافه نمودن غلظت ۲ mg/ml از عصاره، فشار پروفوزیون بستر عروقی مزانتر را از  $10.3 \pm 6.7$  به  $10.3 \pm 6$  کاهش داد ( $P < 0.001$ ، شکل ۲) اثر غلظت‌های مختلفی از عصاره را بر فشار پروفوزیون مزانتر نشان می دهد.



نمودار ۳ - اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی (۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) گلبرگ زعفران (C.S) بر بستر عروقی مزانتر منقبض شده با کلرید پتاسیم (۴۰ میلی‌مولار)، بعد از مجاورت با ۱۰-۴ مولار، به مدت ۲۰ دقیقه، مربع توپر) و ایندومتاوین (۱۰-۵ مولار، به مدت ۲۰ دقیقه، مثلث توپر). تعداد حیوان مورد آزمایش در هر گروه ۵ بود. نتایج به صورت میانگین ± انحراف از میانگین بیان شده است. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون تعییبی two way ANOVA و به دنبال آن تست تعییبی Bonferroni نشان‌دهنده سطح معنی‌داری کاهش تانسیون مزانتر  $P < 0.001$  و  $*P < 0.05$  در مقایسه با قبل از تزریق عصاره باشد.

## بحث

همانطور که در قسمت نتایج اشاره شد تزریق داخل وریدی عصاره آبی گلبرگ زعفران، فشار خون شربانی را در رت‌های مبتلا به هیپرتانسیون کاهش داد. کاهش فشار خون شربانی، با یک برادی کاردی غیر معنی‌دار همراه بود که با نتایج حاصل از تأثیر همین عصاره بر فشار خون موش‌های گروه کنترل (موش‌های با فشار خون طبیعی) همخوانی داشت. این نتیجه با نتایج مطالعه دیگری در این زمینه همسو است (۱۱). این کاهش فشار خون می‌تواند ناشی از اثر عصاره روی قلب و یا مقاومت عروق محیطی و یا هر دو باشد. با توجه به نتایج مطالعه، چون این عصاره روی ضربان قلب تأثیر چندانی ندارد، بنابراین به نظر می‌رسد که اثر این عصاره روی مقاومت عروق محیطی مهمتر باشد.



نمودار ۲ - اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی (۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) گلبرگ زعفران (C.S) بر بستر عروقی مزانتر منقبض شده با کلرید پتاسیم (۴۰ میلی‌مولار). تعداد حیوان مورد آزمایش ۵ عدد رت فشار خونی بود. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون تعییبی Bonferroni پس از آزمون repeated ANOVA با استفاده از آزمون تانسیون مزانتر  $P < 0.001$ ،  $**P < 0.01$  در مقایسه با قبل از تزریق عصاره بود.

## بررسی اثرات عصاره آبی گلبرگ زعفران بر بستر عروقی مزانتر در حضور ایندومتاوین و L-NAME

بستر عروقی مزانتر پس از مجاورت با ایندومتاوین (به میزان  $10^{-5}$  مولار به مدت ۲۰ دقیقه) توسط کلرید پتاسیم ( $40 \text{ mM}$ ) منقبض شد که در پاسخ‌های ناشی از عصاره آبی گلبرگ زعفران در این بافت تعییری ایجاد نکرد (شکل ۳)؛ ولی مجاورت بافت با  $10^{-4}$  مولار به مدت ۲۰ دقیقه، پاسخ‌های ناشی از عصاره آبی گلبرگ زعفران را در این بافت کاهش داد (شکل ۳ اثر غلظت‌های مختلف عصاره L-NAME و ایندومتاوین مزانتر پس از مجاورت آن با این داروها نشان می‌دهد).

گیرنده سبب انقباض عضله صاف عروق می‌گردد (۲۵) و با توجه به آثار مشاهده شده از غلظت‌های مختلف عصاره، می‌توان پیشنهاد نمود که احتمالاً عصاره آبی گلبرگ زعفران با انسداد این کانال‌ها سبب کاهش ورود این یون و در نتیجه موجب کاهش انقباض ناشی از کلرید پتاسیم می‌شود. پس در نهایت قسمتی از اثرات عصاره از طریق مهار کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ است. این اثر بهویژه در طی فشار خون بالا که حساسیت این کانال‌ها افزایش می‌یابد (۲۶) اهمیت بیشتری دارد.

با توجه به اینکه گلبرگ زعفران خاصیت آنتی‌اکسیدانی (ترکیبات فولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین) قوی دارد و از طرفی القای فشار خون با نمک دزوکسی کورتیکواسترون با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد همراه است (۲۷)، شاید قسمتی از اثرات کاهنده فشار خونی این عصاره به خواص آنتی‌اکسیدانی آن مرتبط باشد.

### نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد عصاره گلبرگ زعفران از طریق مسیر نیتریک اکساید سبب کاهش مقاومت کل محیطی و کاهش فشار خون می‌شود. پی‌بردن به مکانیسم دقیق ضد فشار خونی گلبرگ زعفران نیاز به تحقیقات تکمیلی در این زمینه دارد. بهدلیل انجام مطالعات تکمیلی در این زمینه، با توجه به سالم‌بودن گلبرگ زعفران در دوزهای بالا، می‌توان پیشنهاد نمود که در جریان هیپرتانسیون مورد استفاده قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

این مطالعه با کد طرح مصوب ۸۳۰۰۳ دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد.

### تضاد منافع

نویسنده‌گان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

همچنین در مطالعه حاضر عصاره آبی گلبرگ زعفران، فشار پروفوژیون مزانتر منقبض شده با کلرید پتاسیم را نیز به طور معنی‌داری کاهش داد. با توجه به اینکه بستر عروقی مزانتر دارای عروق مقاومتی (شریانچه‌ها) فراوانی است، کاهش فشار پروفوژیون در آن نشان‌دهنده اتساع این عروق است؛ بنابراین با تأیید مجدد، احتمالاً اثرات ضد فشار خون گلبرگ زعفران از طریق کاهش مقاومت عروق محیطی ایجاد می‌گردد. در مطالعه قبلی، اثر شلکننده این عصاره روی واژوفران جدا شده موش و ایلیوم خوکچه هندی اثبات گردید که مؤید اثرات آنتاگونیستی این عصاره روی گیرنده‌های آدرنرژیک واژوفران جدا شده رت است (۱۱). در این مطالعه برای درک مکانیسم‌های احتمالی اثر متسع‌کننده عروقی این عصاره، از بستر جدا شده مزانتر استفاده گردید. نشان داده شده است که در این مدل فشار خون، شلی وابسته به اندوتیلیوم در بستر عروقی مزانتر مختل می‌شود (۲۰). شلی وابسته به اندوتیلیوم توسط مکانیسم‌هایی ایجاد می‌گردد که با دخالت فاکتورهای تولیدشده توسط سلول‌های اندوتیلیال شامل: نیتریک اکساید، پروستاگلاندین‌ها (به طور اختصاصی تر پروستاسایکلین) و فاکتور هایپر پولاریزان مشتق از اندوتیلیوم (EDHF)<sup>۱</sup> صورت می‌گیرد (۲۳-۲۱). در مطالعه فعلی، ایندوماتاسین به عنوان یک مهارکننده غیراختصاصی سنتز پروستاگلاندین‌ها (آنتاگونیست آنزیم سیکلو اکسیژناز) قادر نبود که تغییری را در پاسخ‌های عصاره آبی گلبرگ زعفران در بستر عروقی مزانتر ایجاد نماید و از طریق چون L-NAMه به عنوان یک مهارکننده سنتز نیتریک اکساید (۲۴)، اثر کاهنده‌گی فشار ناشی از این عصاره را مهار کرد، پس می‌توان ادعا کرد که اثرات ضد فشار خونی عصاره آبی گلبرگ زعفران از طریق سنتز نیتریک اکساید و نه پروستاگلاندین‌ها اعمال می‌گردد. همچنین با توجه به اینکه کلرید پتاسیم از شناخته‌شده‌ترین عوامل بازکننده کانال کلسیمی وابسته به ولتاژ می‌باشد که با اثر مستقیم بر عضله صاف و مستقل از

<sup>1</sup> Endothelial Derived Hyperpolarizing Factor

## منابع:

- 1- Zargari A. Medicinal plants. 6<sup>th</sup> ed. Tehran: Tehran university publications; 1997. [Persian]
- 2- Srivastava R, Ahmed H, Dixit RK, Dharamveer, Saraf SA. *Crocus sativus L.*: A comprehensive review. *Pharmacogn Rev.* 2010; 4(8): 200-8.
- 3- Goupy P, Vian MA, Chemat F, Caris-Veyrat C. Identification and quantification of flavonols, anthocyanins and lutein diesters in tepals of *Crocus sativus* by ultra performance liquid chromatography coupled to diode array and ion trap mass spectrometry detections. *Ind Crops Prod.* 2013; 44: 496-510.
- 4- Jadouali SM, Atifi H, Mamouni R, Majourhat K, Bouzoubaâ Z, Laknifli A, et al. Chemical characterization and antioxidant compounds of flower parts of Moroccan *crocus sativus* L. Chemical characterization and antioxidant compounds of flower parts of Moroccan *crocus sativus* L. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.* 2019; 18(4): 476-80. doi: 10.1016/j.jssas.2018.03.007
- 5- Montoro P, Maldini M, Luciani L, Tuberoso CI, Congiu F, Pizza C. Radical scavenging activity and LC-MS metabolic profiling of petals, stamens, and flowers of *Crocus sativus* L. *J Food Sci.* 2012; 77(8): C893-900. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02803.x.
- 6- Zeka K, Ruparelia KC, Continenza MA, Stagos D, Vegliò F, Arroo RRJ. Petals of *Crocus sativus* L. as a potential source of the antioxidants crocin and kaempferol. *Fitoterapia.* 2015; 107: 128-34. doi: 10.1016/j.fitote.2015.05.014.
- 7- Tuberoso CI, Rosa A, Montoro P, Fenu MA, Pizza C. Antioxidant activity, cytotoxic activity and metabolic profiling of juices obtained from saffron (*Crocus sativus* L.) floral by-products. *Food Chem.* 2016; 199: 18-27. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.11.115.
- 8- Babaei A, Arshami J, Haghparast AR, Danesh Mesgaran M. Effects of *Crocus Sativus* Petals Extract on Blood Parameters in Rat. *J Arak Uni Med Sci.* 2013; 16(6): 14-21. [Persian]
- 9- Zarezadeh M, Vazifeshenas- Darmiyan K, Afshar M, Valavi M, Serki E, Hosseini M. Effects of Extract of *Crocus sativus* Petal on Renal Function in Diabetic Rats. *J Mazand Univ Med Sci.* 2017; 27(147): 11-24. [Persian]
- 10- Kaveh H. Effect of saffron petal extract on retention quality of fresh-cut watermelon cubes. *Saffron Agronomy & Technology.* 2016; 4(4): 301-12. doi: 10.22048/jsat.2016.38667 .[Persian]
- 11- Fatehi M, Rashidabady T, Fatehi-Hassanabad Z. Effects of *Crocus sativus* petals' extract on ratblood pressure and on responses induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea-pig ileum. *J Ethnopharmacol.* 2003; 84(2-3): 199-203. doi: 10.1016/S0378-8741(02)00299-4 .
- 12- Delavari AR, Horri N, Alikhani S, Gouya MM, Mahdavi AR, Hosseini SM, et al. Prevalence of Hypertension in Iranian Urban and Rural Populations Aged over 20 years in 2004. *J Mazandaran Univ Med Sci.* 2007; 17(58): 79-86. [Persian]
- 13- Mills KT, Bundy JD, Kelly TN, Reed JE, Kearney PM, Reynolds K, et al. Global Disparities of Hypertension Prevalence and Control. A Systematic Analysis of Population-Based Studies From 90 Countries. *Circulation.* 2016; 134(6): 441-50. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018912
- 14- Pajohi-Alamoti M, Yadollahi-baghlooyi M, Bazargani-gillani B. The Effect of Water Extract of *Rhus Coriaria* L. on the Pathogenic Bacteria at Different Temperatures. *J Babol Univ Med Sci.* 2016; 18(2): 41-7. [Persian]
- 15- Shariat HS. Qualitative and Quantitative evaluation of the active Coxstiuents and control methodes for medicinal Plants. 2<sup>nd</sup> ed. Esfahan: Mani publications; 2007. [Persian]
- 16- Bockman CS, Jeffries WB, Pettinger WA, Abel PW. Reduced contractile sensitivity and vasopressin receptor affinity in DOCA-salt hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1992; 262(6): H1752-8. doi: 10.1152/ajpheart.1992.262.6.h1752
- 17- Fatehi M, Anvari K, Fatehi-Hassanabad Z. The beneficial effects of protein kinase inhibition on the circulatory failure induced by endotoxin in the rat. *Shock.* 2002; 18(5): 450-5. doi: 10.1097/00024382-200211000-00011
- 18- Flower RJ. Drugs Which Inhibit Prostaglandin Biosynthesis. *Pharmacol Rev.* 1974; 26(1): 33-67.

- 19- Amerini S, Mantelli L, Ledda F. Enhancement of the vasoconstrictor response to KCl by nitric oxide synthesis inhibition: A comparison with noradrenaline. *Pharmacological Research.* 1995; 31(3-4): 175-81. doi: 10.1016/1043-6618(95)80015-8
- 20- Adeagbo AS, Joshua IG, Falkner C, Matheson PJ. Tempol, an antioxidant, restores endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated vasodilation during hypertension. *Eur J Pharmacol.* 2003;481(1):91-100. doi: 10.1016/j.ejphar.2003.09.005
- 21- Goto K, Ohtsubo T, Kitazono T. Endothelium-Dependent Hyperpolarization (EDH) in Hypertension: The Role of Endothelial Ion Channels. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(1): 315. doi: 10.3390/ijms19010315.
- 22- Lind L, Granstam SO, Millgård J. Endothelium-dependent Vasodilation in Hypertension: A Review. *Blood Pressure.* 2000; 9(1): 4-15.
- 23- Lind L. Lipids and endothelium-dependent vasodilation—A review. *Lipids.* 2002; 37(1): 1-15. doi: 10.1007/s11745-002-0858-6.
- 24- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991; 43(2): 109-42.
- 25- Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2005; 288(4):C769-83.
- 26- Jackson WF. Ion Channels and Vascular Tone. *Hypertension.* 2000; 35(1): 173-8. doi: 10.1161/01.HYP.35.1.173
- 27- Somers MJ, Mavromatis K, Galis ZS, Harrison DG. Vascular Superoxide Production and Vasomotor Function in Hypertension Induced by Deoxycorticosterone Acetate–Salt. *Circulation.* 2000; 101(14): 1722-8. doi: 10.1161/01.cir.101.14.1722.