

اثر آویشن بر انقباضات ایزوتونیک ناشی از استیل کولین در ایلئوم موش صحرائی نر

سیدحسین حجازیان^{۱*}، محمد گلزار^۲

(۱) گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

(۲) مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

(۳) دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۸

تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۷

چکیده

مقدمه: در طب سنتی، استفاده از گیاهان دارویی برای معالجه بیماری های مختلف گوارشی از جمله اسپاسم صورت می گیرد، بعضی از این گیاهان دارای آثار گوارشی می باشند که از آن جمله، آثار ضد اسپاسمی را می توان نام برد و در روغن های فرار بعضی از گیاهان وجود دارد یکی از این گیاهان که در طب سنتی ایران از آن یاد شده آویشن است. مطالعه حاضر نقش اسانس آویشن را بر فعالیت مکانیکی عضلات صاف ایلئوم جدا شده از موش صحرائی مورد بررسی قرار داده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه جهت بررسی آثار اسپاسمولیتیک اسانس آویشن، محلول های مختلف را پس از اعمال استیل کولین 10^{-4} مولار، به حمام بافت اضافه کردیم و هم چنین جهت بررسی آثار آنتی اسپاسمودیک آن، محلول های مختلف را قبل از اعمال استیل کولین 10^{-6} تا 10^{-3} مولار اضافه کردیم و سپس با استفاده از دستگاه فیزیوگراف و حمام بافت، انقباضات ایزوتونیک ایلئوم را در گروه های کنترل، آزمون و شاهد مورد بررسی قرار گرفت.

یافته های پژوهش: نتایج به دست آمده از اثر غلظت های مختلف این اسانس بر انقباض ناشی از استیل کولین 10^{-4} مولار در ایلئوم موش نشان داد غلظت 50 نانوگرم/میلی لیتر و بالاتر آن منجر به کاهش انقباض ناشی از استیل کولین به میزان 95 درصد شد که از لحاظ آماری معنی دار می باشد ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری: اسانس آویشن دارای آثار اسپاسمولیتیک و آنتی اسپاسمودیک می باشد. این آثار ممکن است ناشی از وجود تیمول در اسانس باشد که باعث کاهش فعالیت کلسیم و رهايش آن از شبکه سارکوپلاسمی می شود.

واژه های کلیدی: اسانس آویشن، اسپاسمولیتیک، استیل کولین، ایلئوم

* نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران-گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه

علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

Email: hejaziansh@yahoo.com

مقدمه

انقباض عضلات صاف وابسته به کلسیم بوده که به وسیله کانال های کلسیمی دریچه دار وابسته به ولتاژ به سمت داخل حرکت می کند تا بدین ترتیب غلظت کلسیم آزاد سیتوپلاسمی افزایش یابد. افزایش کلسیم سارکوپلاسمی در عضلات صاف می تواند بر اثر تحریک عصبی، تحریک هورمونی، کشش فیبر یا حتی تغییرات محیط شیمیایی فیبر به وجود آید که ترکیب یون های کلسیم با کالمودولین و فعال شدن میوزین کیناز و فسفریلاسیون سر میوزین را به دنبال دارند و حاصل آن انقباض می باشد. بنا بر این، نیروی انقباض عضله صاف معمولاً بستگی زیادی به غلظت یون کلسیم مایع خارج سلولی دارد که این نیرو به صورت ایزوتونیک و ایزومتریک در عضله وجود دارد به طوری که در انقباضات ایزوتونیک عضله به هنگام انقباض کوتاه شده و باری را جا به جا می کند که کمیت آن ثابت بوده و در طول عمل انقباض تغییر نمی کند و زمانی که به صورت شدید و غیر عادی وجود داشته باشد، می تواند باعث اسپاسم شده و منجر به درد شود (۱). در طب سنتی، استفاده از گیاهان دارویی برای معالجه بیماری های مختلف گوارشی از جمله اسپاسم صورت می گیرد، بعضی از این گیاهان دارای آثار گوارشی می باشند که از آن جمله می توان به تاثیرات ضد اسپاسمی رازک اشاره کرد (۲). هم چنین آثار ضد اسپاسمی مواد دیگری را می توان نام برد که در روغن های فرار آن ها وجود دارد (۳،۴). در بررسی دیگری که به وسیله حجازیان و همکاران صورت گرفته نشان می دهد اسانس بادیان رومی انقباضات ناشی از استیل کولین را در ایلئوم موش بزرگ آزمایشگاهی کاهش داده است (۵). مطالعه حاضر، بررسی آثار ضد اسپاسمی یکی از گیاهان دارویی است که از دیرباز در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته است؛ این گیاه آویشن آذربایجانی است که نام علمی آن *Thymus migricus* (TM) می باشد. آویشن آذربایجانی یکی از ۱۴ گونه مختلف از جنس آویشن و خانواده نعناع (Lamiaceae) است که در سرماخوردگی، دیابت و فشارخون کاربرد دارد (۶). گیاهان جنس آویشن به طور گسترده ای در مناطق مختلف جهان به عنوان نوشیدنی

(چای)، طعم دهنده غذایی (ادویه و چاشنی) و داروی گیاهی به کار می روند (۷). آویشن دارای اثرات آنتی اکسیدان (۸)، آنتی باکتریال (۹) و ضد قارچ (۱۰) می باشد. در بررسی دیگری که بر روی نوع ترکیبات اسانس شیمیایی آویشن آذربایجانی (TM) انجام شده است مشخص شده که تیمول درصد بالایی از این گیاه را تشکیل داده است (۱۱). تیمول دارای اثر اینوتروپیک منفی بر عضلات قلب بوده و ذخائر کلسیم شبکه سارکوپلاسمی را کم می کند این تاثیر در غلظت های کم تیمول نیز مشاهده می شود این تحقیق نیز نقش مداخله کننده تیمول را در فعالیت های انقباضی بیان می کند که در عضلات اسکلتی و صاف نیز مشاهده می شود (۱۲). بررسی Hisayama در مورد اثر تیمول بر کلسیم درون سلولی در عضله اسکلتی نیز نشان می دهد تیمول مستقیماً بر رهاش کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی اثر داشته و برداشت کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی را کاهش داده که بر روند طبیعی انقباض اثر گذاشته که نشان دهنده نقش ATP در تنظیم کار تیمول می باشد (۱۳). بنا بر این هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ضد اسپاسمی اسانس آویشن آذربایجانی در عضلات صاف ایلئوم می باشد و با توجه به غلظت بالای تیمول در این اسانس، اثر ضد اسپاسمی تیمول با اسانس آویشن آذربایجانی مقایسه گردیده است.

مواد و روش ها

جهت تهیه اسانس ابتدا ۱۰۰ گرم گیاه آویشن آذربایجانی که مورد تایید کارشناس مرکز تحقیقات کشاورزی یزد بوده و شماره هر باریوم آن ۱۵۹۴-TARI می باشد. تهیه شد و سپس به طور کامل خرد شد و در فلاسک تقطیر قرار گرفت و با عبور دادن بخار آب در میان آن به روش (Clevenger) عملیات تقطیر به آرامی شروع شد که جمعاً ۵ میلی لیتر اسانس روغنی از آن جدا گردید. جهت انجام آزمایش ابتدا رت های نر با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم که در بخش حیوانات دانشکده پزشکی نگهداری می شدند انجام شد حیوانات در طول دوره آزمایش در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲۵-۲۲ درجه سانتی گراد در قفس های تمیز و شرایط یکسان نگهداری و

اسپاسمولیتیک هر محلول بر روی ۶ نمونه بافتی بررسی شده و تجزیه و تحلیل آماری بر روی میانگین در صد انقباض ناشی از استیل کولین صورت گرفته است.

ب: آثار آنتی اسپاسمودیک، در این بخش از آزمایش ابتدا در آزمون، غلظت ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر اسانس به حمام بافت اضافه گردید و پس از ۷ دقیقه غلظت های مختلف استیل کولین (از 10^{-9} تا غلظت 10^{-2} مولار) به صورت تجمعی به حمام بافت اضافه شد و اثر انقباضی آن ثبت گردید. در این بخش نیز بعد از هر دوره آزمایش بافت مورد نظر به وسیله محلول تیروید شست و شو شد و پس از پایدار شدن سیستم آزمایش دوره بعد تکرار گردید. این آثار نیز بر روی ۶ نمونه بافتی بررسی شده و تجزیه و تحلیل آماری بر روی میانگین در صد انقباض ناشی از استیل کولین صورت گرفته است.

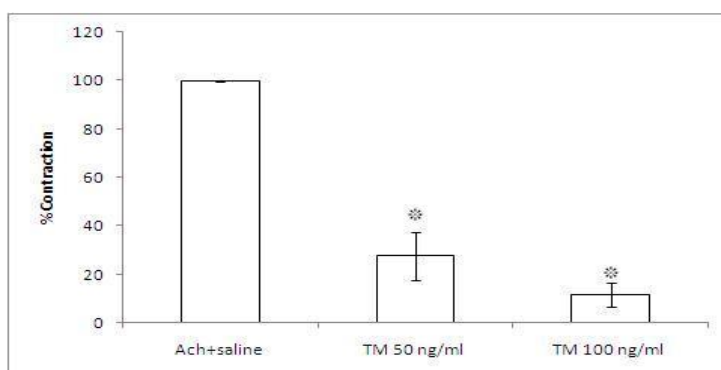
برای آنالیز داده ها از نرم افزار SPSS استفاده شد و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار درصد تغییر وضعیت انقباضی برای هر محلول تعیین گردید و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون توکی مقایسه گردید. و ارزش ($P < 0.05$) به عنوان معیاری برای معنی دار بودن اختلاف در نظر گرفته شده است.

یافته های پژوهش

الف: آثار اسپاسمولیتیک، نتایج به دست آمده از اثر اسانس روغنی آویشن آذربایجانی با غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر بر انقباض ناشی از استیل کولین 10^{-4} مولار نشان می دهد غلظت ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر و بالاتر آن منجر به کاهش انقباض ناشی از استیل کولین می شود، به طوری که غلظت ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر آن، ۸۹ درصد انقباضات و غلظت ۵۰ نانوگرم/میلی لیتر آن، ۷۲ درصد انقباضات ناشی از استیل کولین را کاهش می دهد که این کاهش در هر دو غلظت نسبت به گروه کنترل سالین معنی دار می باشد ($P < 0.05$) (نمودار شماره ۱).

به غذا و آب آشامیدنی دسترسی آزادانه داشتند به روش تصادفی انتخاب و در سه گروه کنترل، آزمون و شاهد قرار گرفتند و پس از کشتن آن قطعاتی از بخش انتهایی روده (ایلئوم) جدا گردید و پس از تمیز نمودن تا انجام آزمایش در محلول تیروید نگهداری می شد. جهت بررسی انقباضات ایلئوم قطعات یک سانتی متری از روده را جدا کرده و یک طرف آن را توسط نخ به قسمت پائین محفظه داخلی حمام بافت متصل نمودیم که حاوی محلول تیروید بوده و از مواد NaCl, KCl, MgCl₂, NaH₂PO₄, NaHCO₃ and CaCl₂, D.glucose با غلظت های مختلف تشکیل یافته است و سر دیگر آن را به یک ترانسدیوسر ایزوتونیک که با دستگاه فیزیوگراف مرتبط بود وصل نمودیم. در تمام طول آزمایش، محلول تیروید توسط مخلوطی از ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد گاز کربونیک (۵) هوادهی می شد و پس از حدود ۲۰ دقیقه که برای رسیدن دستگاه به وضعیت تعادل لازم بود انقباضات ایزوتونیک ایلئوم توسط دستگاه فیزیوگراف یک کاناله (bioscience ocillograph) ثبت می شد. در هر دوره آزمایش یکی از محلول های مورد آزمایش با غلظت مورد نظر به حمام بافت اضافه شد و اثر آن بر انقباض ایلئوم ثبت گردید. پس از هر دوره آزمایش، بافت مورد نظر با محلول تیروید تازه شست و شو و در صورت فعال بودن بافت، آزمایشات بعدی انجام می شد. در این روند دو مسیر آزمایش اسپاسمولیتیک و آنتی اسپاسمودیک به صورت زیر انجام شد.

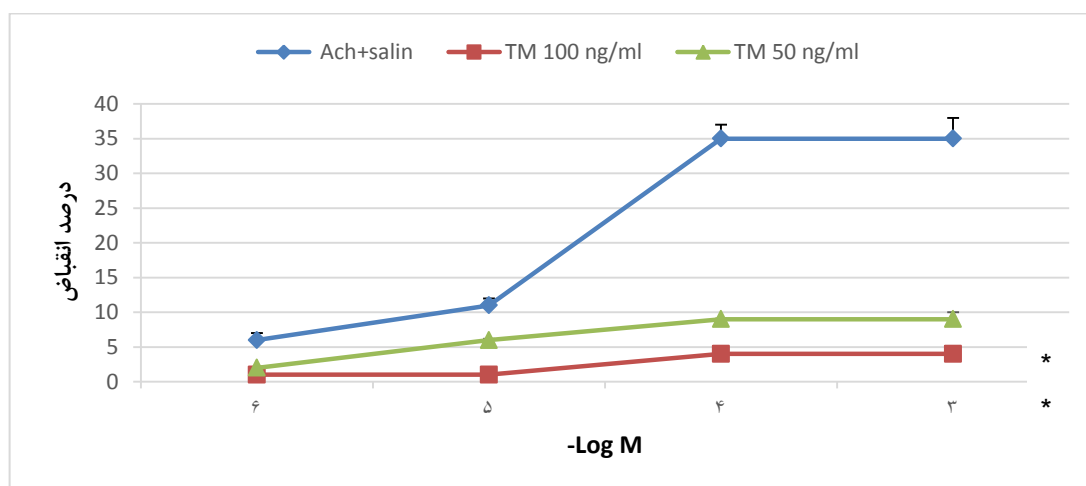
الف: آثار اسپاسمولیتیک، در این روش ابتدا با استفاده از غلظت 10^{-4} مولار استیل کولین به بافت ایزوله در حمام بافت، ابتدا حد اکثر انقباضات ایزوتونیک ایلئوم را ثبت کردیم و سپس در هر دوره آزمایش محلول های مختلف آزمون (نرمال سالین و اسانس) را با غلظت های مورد نظر اسانس (۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر) به حمام بافت اضافه شد و اثر آن ها بر انقباضات ایلئوم ناشی از استیل کولین ثبت گردید. پس از هر دوره آزمایش بافت مورد نظر به وسیله محلول تیروید شست و شو شد و پس از رسیدن سیستم به حالت پایدار آزمایش دوره بعد تکرار گردید. اثر



نمودار شماره ۱. بررسی اثر اسپاسمولیتیک اسانس روغنی آویشن آذربایجانی بر انقباض ناشی از استیل کولین (10^{-4} Ach) مولار که نشان دهنده کاهش شدت انقباض به میزان ۸۹ درصد در حضور غلظت ۵۰ نانوگرم/میلی لیتر و ۷۲ درصد در حضور غلظت ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر می باشد (n=6). علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروه استیل کولین (10^{-4} Ach) مولار + سالین می باشد (P<0.05)

شده و متناسب با افزایش غلظت آن، افزایش می یابد که در غلظت 10^{-4} مولار استیل کولین به حداکثر می رسد. در این بررسی، اثر استیل کولین 10^{-4} مولار در حضور سالین و غلظت های مختلف اسانس آویشن آذربایجانی مقایسه شد که نشان داد غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر اسانس به ترتیب موجب کاهش انقباضی به میزان ۷۴/۳ درصد و ۸۸/۶ درصد شد که از لحاظ آماری معنی دار می باشد (نمودار شماره ۲).

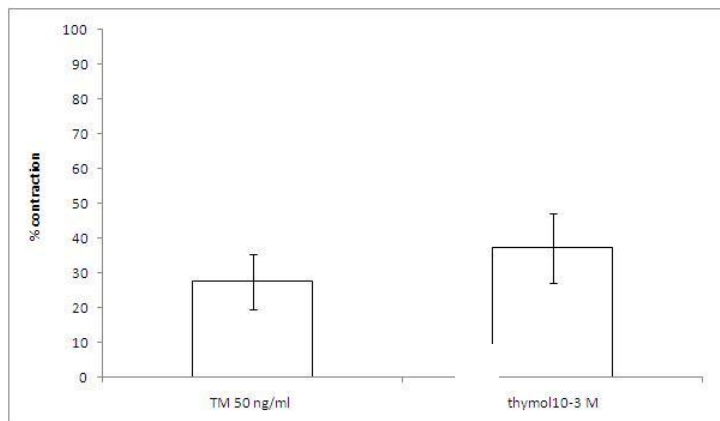
ب: آثار آنتی اسپاسمودیک، در این روش، پس از اعمال نرمال سالین به عنوان حلال عصاره، بافت مورد نظر در معرض غلظت های تجمعی استیل کولین (Ach) (10^{-6} تا 10^{-3} مولار) قرار گرفته و سپس در گروه آزمون نیز ۷ دقیقه پس از اعمال غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر اسانس آویشن آذربایجانی، بافت ایلئوم در معرض غلظت های تجمعی استیل کولین 10^{-6} تا 10^{-3} مولار (-Log M) قرار گرفت که نشان داد اثر انقباضی استیل کولین از غلظت 10^{-5} مولار شروع



نمودار شماره ۲. بررسی آثار آنتی اسپاسمودیک اسانس آویشن آذربایجانی (TM) بر انقباض ناشی از استیل کولین که ۷ دقیقه پس از اعمال غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر اسانس آویشن آذربایجانی، بر بافت ایلئوم در معرض غلظت های تجمعی استیل کولین 10^{-6} تا 10^{-3} مولار (-Log M) قرار گرفت که نشان داد غلظت های مختلف اسانس مانع از اثر استیل کولین شده و کاهش اثر انقباضی استیل کولین با غلظت 10^{-4} مولار و در حضور غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم/میلی لیتر اسانس به ترتیب موجب کاهش انقباضی به میزان ۷۴/۳ درصد و ۸۸/۶ درصد شد که از لحاظ آماری معنی دار می باشد (n=6). (P<0.05)

ج: مقایسه اثر آنتی اسپاسمودیک تیمول با اسانس آویشن آذربایجانی (TM) بر انقباض ناشی از استیل کولین نشان می دهد اثر اسانس آویشن آذربایجانی با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر بر انقباض ناشی

از استیل کولین در مقایسه با اثر تیمول با غلظت 10^{-3} مولار تفاوت معنی داری نداشته و از لحاظ آماری معنی دار نمی باشد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳. مقایسه اثر آنتی اسپاسمودیک تیمول با غلظت 10^{-3} مولار و اسانس آویشن آذربایجانی (TM) با غلظت ۵۰ نانوگرم بر میلی لیتر بر انقباض ناشی از استیل کولین (ACh). که از لحاظ آماری معنی دار نمی باشد (n=6).

بحث و نتیجه گیری

تحقیق حاضر نشان می دهد که غلظت های مختلف اسانس آویشن آذربایجانی دارای اثر ضداسپاسمی بر ایلئوم می باشند به طوری که غلظت ۵۰ نانوگرم/میلی لیتر و بالاتر آن، موجب مهار انقباض ناشی از استیل کولین 10^{-4} مولار در حدود ۹۵ درصد شده است. این اسانس حاوی در صد بالایی از تیمول می باشد (۱۱،۱۲). انقباض عضلات صاف وابسته به کلسیم می باشد غشای عضله صاف دارای کانال های کلسیمی دريچه دار وابسته به ولتاژ است و کلسیم در جهت شیب الکتروشیمیائی خود از طریق کانال های کلسیمی به سمت داخل حرکت می کند تا بدین ترتیب غلظت کلسیم آزاد سیتوپلاسمی افزایش یابد. کلسیم افزایش یافته به پروتئین های متصل شونده به کلسیم (کالمودلین) اتصال یافته و آن ها را فعال می کند. خروج یون های کلسیم داخل سلولی از رتیکولوم سارکوپلاسمیک نیز به افزایش قدرت انقباضی عضلات صاف کمک می کند. افزایش کلسیم سارکوپلاسمی در عضلات صاف می تواند بر اثر تحریک عصبی، تحریک هورمونی، کشش فیبر یا حتی تغییرات محیط شیمیایی

فیبر به وجود آید که ترکیب یون های کلسیم با کالمودولین و فعال شدن میوزین کیناز و فسفریلاسیون سر میوزین را به دنبال دارند و حاصل آن انقباض می باشد. هنگامی که غلظت یون کلسیم مایع خارج سلولی به حدود یک سوم تا یک دهم مقدار طبیعی سقوط می کند انقباض عضله صاف معمولاً قطع می شود. هر عاملی که بتواند موجب کاهش ورود کلسیم به داخل سلول های عضلانی شود پاسخ انقباضی آن را کاهش می دهد (۱۳). مکانیسم های متعددی واسطه عمل انقباضی عضلات صاف دستگاه گوارش می باشند. که مهم ترین آن ها عبارتند از: مهارکننده های کولینرژیک، که از طریق رسپتورهای موسکارینی M2 و M3 بر ایلئوم اثر گذاشته و هدایت کلسیم را به داخل سلول کم می کند (۱۴). مهارکننده های گیرنده های هیستامینرژیک نیز در کاهش انقباض عضلات صاف نقش دارند که به وسیله کاهش هدایت کلسیم و جلوگیری از استفاده عضلات صاف از کلسیم اثر خود را اعمال می کنند (۱۵،۱۶). تعدیل کننده های آدرنرژیک با اثر بر گیرنده های بتا موجب مهار انقباض شده که با واسطه گیرنده های آدرنرژیک بتا-۲ نقش مهار

شده که از مسیر میتوکندری اعمال می شود (۲۳). بررسی Ito بر روی فعالیت های الکتریکی و مکانیکی عضلات نشان می دهد تیمول انقباض ناشی از پتاسیم را کاملاً از بین می برد در حالی که انقباض ناشی از استیل کولین و کلسیم در حضور غلظت کم تیمول هم چنان وجود دارد و غلظت زیاد آن انقباض کولینرژیک را نیز محو می کند (۲۴). بررسی Tamura و همکاران نشان می دهد تیمول بر بافت انقباضی عضله اثر می گذارد و فعالیت آنزیمی ATPase را مهار می کند از طرف دیگر باعث کاهش فعالیت کلسیم و اختلال در رها شدن آن از شبکه سارکوپلاسمی می شود تیمول واسطه عمل هیدرولیز ATP در سیکل انقباضی است و تولید انرژی ATP را کم می کند (۲۴). مطالعات فوق مبین این واقعیت است که کلسیم مهم ترین واسطه انقباض عضلانی است و تیمول باعث کاهش فعالیت کلسیم و رهایش آن از شبکه سارکوپلاسمی می شود. بررسی انجام شده در خصوص تیمول با بررسی انجام شده حاضر در مورد اسانس آویشن هم خوانی داشته و نشان می دهد غلظت های پائین اسانس روغنی توانسته اند آثار ضد اسپاسمی قابل توجهی نشان دهند و از آن جایی که تیمول از مهم ترین ترکیبات موجود در اسانس آویشن می باشد آثار ضد انقباضی این اسانس ممکن است ناشی از وجود تیمول در آن باشد.

کنندگی از خود نشان می دهند (۱۷،۱۸)، هم چنین گیرنده های پورینرژیک نیز واسطه مهار انقباض عضلات صاف قرار می گیرند و از طریق فعال کردن کانال های پتاسیمی، غشاء را هیپرپلاریزه کرده و ورود کلسیم به داخل سلول را کاهش می دهند (۱۹). بنا بر این مکانیسم های فوق هدایت کلسیم را واسطه عمل انقباضی عضلات صاف دانسته که با کم شدن آن فعالیت انقباضی دستگاه گوارش را کم می کنند (۲۰،۲۱). از طرفی مطالعات متعدد اثر ضد کولینرژیک و شل کنندگی عضلات صاف را با واسطه تیمول گزارش کرده اند که در بررسی Begrow و همکاران نشان می دهد ترکیبات معطر که حاوی تیمول می باشند دارای اثر ضد اسپاسمی بر عضلات صاف نای موش سفید آزمایشگاهی می باشد که وابسته به دوز بوده و بر انقباضات ناشی از استیل کولین موثر است (۲۲). بررسی Chang و همکاران نقش تیمول طبیعی را بر غلظت کلسیم سیتوزولی سلول بررسی نموده که نشان می دهد تیمول به صورت جزئی کلسیم خارج سلولی را کم می کند و این اثر تیمول بر ورود آن به وسیله نیفیدین مهار می شود. افزایش اثر تیمول نتیجه فعالیت فسفولیپاز C وابسته به رهایش کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی بوده و از طریق پروتئین کیناز C بر کانال های کلسیمی اثر گذاشته و آن را زیاد می کند این اثر در سلول ها منجر به مرگ سلولی یا آپوپتوز

References

1. Aftab K, Attaurrahman, Usmanghani K. Blood pressure lowering action of active principle from *Trachyspermum ammi* (L.) sprague. *Phytomedicine* 1995;2:35-40.
2. Hejazian SH, Bagheri SM, Dashti RMH. Relaxant effect of *Humulus lupulus* extracts on isotonic rats ileum contractions. *Avi J Phytomed* 2014;4:53.
3. Mahdavi SMB, Morshedi A, Rezvani ME, Ali SA, Ali MS. Does essential oil of *Carum copticum* affect acetylcholine-induced contraction in isolated rat's Ileum? *African J Pharm Pharmacol* 2011;5:1432-5.
4. Shah AJ, Gilani AH, Abbas K, Rasheed M, Ahmed A, Ahmad VU. Studies on the chemical composition and possible mechanisms underlying the antispasmodic and bronchodilatory activities of the

- essential oil of *Artemisia maritima* L. *Arc Pharmacol Res* 2011;34:1227-38.
5. Hejazian SH, Bagheri SM, Safari F. Spasmolytic and anti spasmodic action of *trachyspermum ammi* essence on rats ileum contraction. *North American J Med Sci* 2014;6:643.
6. Peter SR, Peru KM, Fahlman B, McMartin DW, Headley JV. The application of HPLC ESI MS in the investigation of the flavonoids and flavonoid glycosides of a Caribbean Lamiaceae plant with potential for bioaccumulation. *J Environ Sci Health Part B* 2015;50:819-26.
7. Manjili HK, Jafari H, Ramazani A, Davoudi N. Anti leishmanial and toxicity activities of some selected Iranian

- medicinal plants. *ParasitolRes* 2012;111:2115-21.
8. Youdim KA, Deans SG. Dietary supplementation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil during the lifetime of the rat: its effects on the antioxidant status in liver, kidney and heart tissues. *Mech Age Dev* 1999;109:163-75.
9. Juven B, Kanner J, Schved F, Weisslowicz H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J Appl Bacteriol* 1994;76:626-31.
10. Rasooli I, Abyaneh MR. Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Con* 2004;15:479-83.
11. Yavari A, Nazeri V, Sefidkon F, Hassani ME. Chemical composition of the essential oil of *thymus migricus* klokov and desj shost from Iran. *J Ess Oil Bear Plant* 2010;13:385-9.
12. Yavari A, Nazeri V, Sefidkon F, Hassani ME. Influence of some environmental factors on the essential oil variability of *Thymus migricus*. *Natur Produc Com* 2010;5:943-8.
13. Hisayama T, Takayanagi I. Increased 45Ca^{2+} efflux from smooth muscle microsomes by a rise in an extramicrosomal Ca^{2+} ion concentration, and the effect of thymol. *J Pharm Pharmacol* 1983;35:532-3.
14. Unno T, Matsuyama H, Izumi Y, Yamada M, Wess J, Komori S. Roles of M2 and M3 muscarinic receptors in cholinergic nerve-induced contractions in mouse ileum studied with receptor knockout mice. *British J Pharmacol* 2006;149:1022-30.
15. Sanunes A, Corrado A, Baruffi M, Faccioli L. Disodium cromoglycate prevents ileum hyperreactivity to histamine in *Toxocara canis*-infected guinea pigs. *Pharmacological Res* 2003;48:451-5.
16. Boskabady MH, Tabanfar H, Gholamnezhad Z, Sadeghnia HR. Inhibitory effect of *Zataria multiflora* Boiss and carvacrol on histamine (H1) receptors of guinea-pig tracheal chains. *Fund Clin Pharmacol* 2012;26:609-20.
17. Boskabady M, Jafari Z, Pouraboli I. The effect of carvacrol on muscarinic receptors of guinea-pig tracheal chains. *Phytotherapy Res* 2011;25:530-5.
18. Propping S, Neue M, Kaumann AJ, Wirth MP, Ravens U. Mucosa of murine detrusor impairs β_2 -adrenoceptor-mediated relaxation. *Neurourol Urodynam* 2015;34:592-7.
19. Vancrombrugge K, Van Nassauw L, Timmermans JP, Lefebvre R. Inhibitory purinergic P2 receptor characterisation in rat distal colon. *Neuropharmacology* 2007;53:257-71.
20. Shirole R, Shirole N, Saraf M. In vitro relaxant and spasmolytic effects of essential oil of *Pistacia integerrima* Stewart ex Brandis Galls. *J Ethnopharmacol* 2015;168:61-5.
21. Tarjus A, Belozertseva E, Louis H, El Moghrabi S, Labat C, Lacolley P, et al. Role of smooth muscle cell mineralocorticoid receptor in vascular tone. *Pflug Arch European J Physiol* 2015;467:1643-50.
22. Begrow F, Engelbertz J, Feistel B, Lehnfeld R, Bauer K, Verspohl EJ. Impact of thymol in thyme extracts on their antispasmodic action and ciliary clearance. *Plant Med* 2010;76:311-8.
23. Chang HT, Hsu SS, Chou CT, Cheng JS, Wang JL, Lin KL, et al. Effect of thymol on Ca^{2+} homeostasis and viability in MG63 human osteosarcoma cells. *Pharmacology* 2011;88:201-12.
24. Ito Y, Kuriyama H. Effects of thymol on the electrical and mechanical properties of the guinea-pig taenia coli. *J Physiol* 1974;236:143.
25. Tamura T, Iwamoto H. Thymol a classical small-molecule compound that has a dual effect (potentiating and inhibitory) on myosin. *Biochem Biophys Res Com* 2004;318:786-91.

The Effect of Thymus Migricuson Isotonic Contraction Induced by Acetylcholine on Male Rats Ileum

Hejazian H^{*1,2}, Golzar M³

(Received: January 28, 2015

Accepted: September 29, 2015)

Abstract

Introduction: Herbal plants have been used for the treatment of different abnormalities such as spasm disorders. Some of these plants have gastro intestinal property. One of these herbs in iranian traditional medicine is Thymus migricus which used for antispasmodic activity and its effects present in essential oil. The present study was designed to find out the effects of Thymus migricusessence on mechanical activity of the isolated rat's ileum.

Materials & methods: In this study, for evaluation of spasmolythic property of essence, different doses of the solution were added to organ bath after acetylcholine (Ach) with concentration of 10⁻⁴ molar (M) and for assessment of its antispasmodic, different doses of the solution were added to the organ bath before Ach with concentration of 10⁻⁶upto 10⁻³ M, then isotonic contraction of ileum were

recorded in three groups of control, test and shamthrough an isolated tissue chamber in an organ bath by using isotonic transducer and oscillographic device.

Findings:The results from different concentration of Thymus migricusessence on Ach 10⁻⁴ M showed that concentration of 50 ng/ml of essence and higher was reduced to 95% of Ach induced contraction which is significant (P< 0.05).

Discussion & Conclusions: Thymus migricusessence hasspasmolythic and antispasmodic property,these effects may be produced by Thymol which is present in its essence and reduced calcium activity and release by sarcoplasmic reticulum.

Keyword: Thymus migricusessence, Spasmolythic, Acetylcholine, Ileum

1. Dept of Physiology, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2. Herbal Medicine Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3. Dept of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, ShahidSadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

*Corresponding authorEmail: hejaziansh@yahoo.com