

بررسی اثر آنتی هیپوکسی عصاره متانولی اندام هوایی *Vicia hirsute* در مدل های انواع هیپوکسی در موش سوری

آروین رحمانپور^{۱*}، مهران نصیری^۲، محمدرضا فرهیپور^۳

۱- مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۲- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران

۳- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران

* پست الکترونیک: rahmanpour_arvin@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: کاهش اکسیژن رسانی به بدن، منجر به تورم و آسیب بافتی می شود که در نهایت، اختلال تبادل اکسیژن و دی اکسید کربن را میان مویرگ ها و بافت ها ایجاد می کند. هیپوکسی تغییرات زیادی در فعالیت آنزیم های بدن به وجود می آورد؛ از این رو یافتن راه حل و درمان، جهت تخفیف و کاهش مرگ و میر ناشی از آن ضروری به نظر می رسد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات آنتی هیپوکسی گیاه ماشک معمولی در مدل های مختلف هیپوکسی در موش سوری انجام شد.

مواد و روش کار: مطالعه ای اخیر به منظور بررسی فعالیت آنتی هیپوکسی و با استفاده از ۲ غلظت عصاره ی متانولی ماشک (*Vicia hirsute*) به ۳ روش استاندارد، بر روی ۸۰ موش سوری نر در سه گروه انجام شد.

یافته ها: در بررسی آنتی هیپوکسی خونی، پس از تزریق NaNO_2 به صورت داخل صفاقی، موش های گروه کنترل در مدت زمان $8/013 \pm 0/827$ مردند اما دو گروهی که از دوز های مختلف عصاره ی متانولی ماشک استفاده کرده بودند؛ در مقایسه با گروه کنترل اثرات قابل ملاحظه ای داشتند ($P < 0/05$). در هیپوکسی گردش خون، پس از تزریق داخل صفاقی NaF نیز نتایج خوبی به دست آمد. در این جا عصاره ی متانولی ماشک در دوز 100 mg/kg به صورت قابل ملاحظه ای مدت زمان زنده ماندن را نسبت به گروه کنترل، $14/50 \pm 2/950$ دقیقه افزایش می داد؛ همچنین با استفاده از دوز 50 mg/kg این عصاره، مدت زمان زنده ماندن موش ها افزایش یافت ($P < 0/05$). در مدل هیپوکسی خفگی، حیوان در یک محفظه ی شیشه ای در بسته و مهر و موم شده، قرار گرفت و پس از آن، نتایج قابل ملاحظه ی زیر به دست آمد؛ دوز 50 mg/kg عصاره ی متانولی ماشک و دوز 100 mg/kg ($P < 0/05$) موش سوری را زنده نگه داشت. این اثرات نسبت به گروه کنترل بارز بوده است.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج، می توان اثرات آنتی هیپوکسی عصاره ی متانولی ماشک را مثبت ارزیابی کرد.

واژه های کلیدی: آنتی هیپوکسی، عصاره ی متانولی ماشک، آنتی اکسیدان، موش سور

مقدمه

کمبود اکسیژن منجر به تغییرات زیان آوری در ساختار و عملکرد مغز می‌شود. بر این اساس، هر دارویی (یا ترکیبی) که باعث پایداری و مقاومت مغز در مقابل ایسکمی یا هیپوکسی گردد؛ از نظر درمانی قابل توجه خواهد بود (۱). هیپوکسی بافتی، عامل تخریب سلولی است و در صورت طولانی شدن باعث مرگ بافت می‌شود. (۲،۳). کمبود اکسیژن تغییرات زیادی را در عملکرد آنزیم‌های بدن ایجاد می‌کند (۲). تلاش برای یافتن راه حل درمانی که موجب تخفیف و کاهش مرگ و میر ناشی از هیپوکسی شود؛ ضروری به نظر می‌رسد (۴،۵). گرچه مکانیسم آسیب ناشی از هیپوکسی و مرگ سلولی هنوز به درستی مشخص نمی‌باشد اما نشان داده شده است که هیپوکسی موجب القاء و فعالیت بیش از حد آنزیم اکساید سنتاز می‌گردد. این آنزیم نقش مهمی در تولید لکوترین B4 ایفا می‌کند. شواهد نشان می‌دهند که نیتریک اکساید- سنتاز می‌تواند؛ آسیب سلولی ناشی از هیپوکسی را کاهش دهد. مهار کننده‌های iNOS موجب کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و تشکیل آپوپتوزوم می‌گردد (۴،۵). بر این اساس مهار تولید نیتریک اکساید، اثر ضد هیپوکسی را خواهد داشت. با توجه به اثبات اینکه هیپوکسی موجب افزایش قابل ملاحظه‌ی ذرات فعال اکسیژن می‌گردد (۶)؛ آنتی اکسیدان‌ها به عنوان آنتی هیپوکسی مطرح خواهند شد.

جنس *Vicia* از خانواده‌ی گیاه *Papilionaceae* و دارای ۴۵ گونه در ایران می‌باشد. *V. sativum* نقش محافظتی در سرطان داشته و در مقابل سمیت ناشی از تراکلرید کربن، فعالیت محافظت کبدی از خود نشان- داده است (۷)؛ همچنین از گونه‌های مختلف گیاه، فعالیت حشره کشی نیز گزارش شده است (۸). مطالعات قبلی فعالیت آنتی اکسیدانی، شامل شلاته

کنندگی آهن، احیاکنندگی و به دام اندازی رادیکال هیدروکسیل را از گونه‌های مختلف گیاه بیان کرده- است (۹،۱۰). اثر ضد میکروبی و سمیت سلولی خانواده‌ی گیاه *V. faba* گزارش شده است (۱۱). گیاه *V. sojaki* بومی ایران و از خانواده‌ی *Papilionaceae* می‌باشد؛ همچنین اخیرا فعالیت خوب ضد افسردگی (۸) و آنتی اکسیدانی آن گزارش شده است (۱۲).

با پتانسیلی که در اسانس و عصاره‌های مختلف گونه‌های گیاه ماشک وجود دارد؛ علاقه‌ی محققین را به منظور یک منبع طبیعی غنی، برانگیخته است. از این رو پیشنهاد می‌شود که می‌توان جهت پایداری و مقاومت مغز در مقابل ایسکمی یا هیپوکسی از آنها استفاده کرد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات آنتی هیپوکسی گیاه ماشک در مدل‌های انواع هیپوکسی در موش سوری انجام شده است.

مواد و روش کار

آماده سازی عصاره‌ی متانولی گیاه ماشک

برگ‌های تازه‌ی ماشک معمولی (*Vicia hirsute*) در خرداد ماه ۱۳۹۴ از باغ گیاهان دارویی شهرداری ارومیه جمع آوری و شستشو گردید. پس از تایید دانشکده‌ی علوم گیاهی و کشاورزی دانشگاه ارومیه، برگ‌ها در سایه و دمای اتاق خشک و سپس پودر شد. به منظور تهیه‌ی عصاره از روش سوکسله با حلال متانول استفاده گردید. حلال عصاره تحت شرایط خلأ، توسط دستگاه روتاری خارج و در بن ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد، به مدت ۴۸ ساعت حرارت داده شد تا کاملاً خشک و تغلیظ گردد (۱۳). **حیوانات مورد**

آزمایش

در این تحقیق از ۸۰ موش سوری نر با محدوده وزنی 23 ± 2 گرم استفاده گردید که از خانه حیوانات دانشگاه ارومیه تهیه شده بود. آنها به طور تصادفی به ۶

گروه ۸ تایی (۲ غلظت از عصاره‌ی ماشک و ۳ روش سنجش هیپوکسی) تقسیم بندی و در این میان ۸ موش سوری نیز برای ۴ گروه کنترل انتخاب شدند. موش‌ها به مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی منتقل و در قفس‌های استاندارد نگهداری موش، تحت شرایط نوردهی کنترل شده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ثابت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات قبل از انجام مطالعات به مدت یک هفته دوره‌ی تطابق را گذراندند تا تاثیر منفی استرس ناشی از محیط ناآشنا بر روی نتایج مطالعه‌ی مورد نظر به حداقل برسد. موش‌ها با پلت تغذیه شدند و به آب و غذا (پلت) دسترسی آزاد داشتند.

روش سنجش فعالیت آنتی هیپوکسی

جهت سنجش فعالیت ضد هیپوکسی خفگی، غلظت‌های مشخصی از عصاره‌ی ماشک تهیه و دوز اولیه 100 mg/kg و 50 mg/kg انتخاب شد. ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی دوزهای مورد نظر از دارو، حیوان در یک محفظه‌ی شیشه‌ای دربسته و مهر و موم شده توسط وازلین قرار گرفت و از مقداری آهک (حجم 300 cm^3) در پارچه‌ی توری به عنوان جاذب CO_2 استفاده شد. موش سوری بر اثر هیپوکسی دچار تشنج شد و مرد. در این مطالعه، اثر ضد هیپوکسی دارو به صورت مدت زمان زنده بودن موش بیان گردید؛ همچنین از نرمال سالین به عنوان کنترل منفی و از فنی توئین (50 mg/kg i.p) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۱۲، ۱۴).

به منظور سنجش فعالیت آنتی هیپوکسی خونی، از نیتريت سدیم (NaNO_2) به عنوان عامل ایجاد کننده‌ی هیپوکسی خونی استفاده شد. ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی غلظت‌های مورد نظر عصاره‌ی ماشک به حیوان، نیتريت سدیم به روش داخل صفاقی تزریق و

اثر ضد هیپوکسی به صورت مدت زمان زنده ماندن در مقایسه با گروه کنترل نرمال سالین بیان شد.

در روش سنجش فعالیت ضد هیپوکسی وابسته به گردش خون از سدیم فلورید به عنوان عامل ایجاد کننده‌ی هیپوکسی وابسته به گردش خون استفاده شد. ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داخل صفاقی دوزهای مورد نظر دارو به موش‌ها، NaF با دوز مورد نظر به روش داخل صفاقی تزریق گردید. سپس درصد فعالیت در مقابل کنترل به صورت مدت زمان زنده ماندن در مقایسه با نرمال سالین سنجیده شد (۱۲، ۱۴).

روش گردآوری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

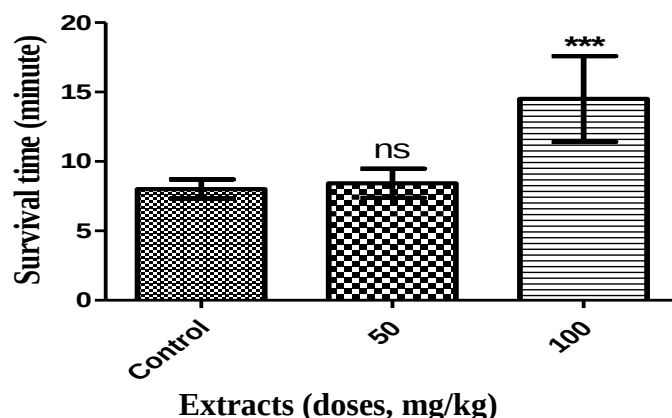
کلیه‌ی اطلاعات بصورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ گزارش شد. روش آماری آنالیز واریانس یک سویه ANOVA و متعاقب آن آزمون نیومن کولز برای مقایسه‌ی میانگین‌ها به کار رفت. نتایج با احتمال ($P < 0.05$) معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

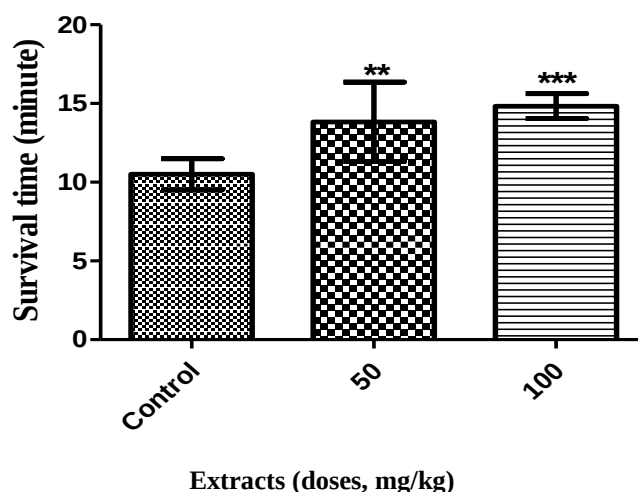
در این مطالعه نتایج حاصل از بررسی اثرات آنتی هیپوکسی خونی، گردش خون و خفگی نشان داد که عصاره‌ی متانولی ماشک با دوزهای 50 mg/kg و 100 mg/kg در هیپوکسی خونی نسبت به گروه کنترل فعالیت قابل توجهی داشت و به صورت بارزی زمان مرگ را نسبت به گروه کنترل به تاخیر انداخت. عصاره‌ی ماشک با دوز 50 mg/kg مدت زمان زنده ماندن را به $8/429 \pm 1/134$ دقیقه افزایش داد؛ همچنین این عصاره در دوز 100 mg/kg موجب افزایش مدت زمان زنده ماندن به $14/50 \pm 2/950$ دقیقه گردید. تفاوت معنی‌داری بین دوزهای تزریقی مشاهده شد که در استفاده از دوز 100 mg/kg عصاره‌ی ماشک نتیجه بهتر بود. موش‌های گروه کنترل در مدت زمان $8/013 \pm 0/827$ دقیقه مردند. عصاره در دوز

دقیقه مردند ($P < 0.05$). دوز 100 mg/kg عصاره‌ی ماشک در هیپوکسی خفگی، به صورت قابل ملاحظه-ای زمان مرگ را نسبت به گروه کنترل ($33/67 \pm 4/50.2$ دقیقه در مقایسه با $46/67 \pm 12/14$) دقیقه برای گروه کنترل) به تاخیر انداخت ($P < 0.05$). در استفاده از دوز 50 mg/kg این عصاره اثرات قابل ملاحظه‌ای در تاخیر زمان مرگ نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد ($38/75 \pm 4/062$ دقیقه). فنی توئین بعنوان کنترل مثبت استفاده گردید ($P < 0.05$).

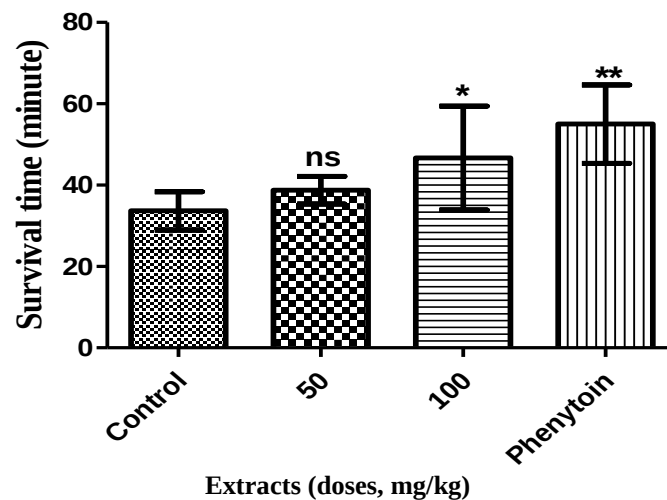
100 mg/kg از نظر مدت زمان زنده ماندن در مقایسه با گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری ایجاد کرد ($P < 0.05$). عصاره‌ی ماشک با دوز 100 mg/kg در هیپوکسی گردش خون نسبت به گروه کنترل، فعالیت قابل توجهی از خود نشان داد و به صورت بارزی زمان مرگ را نسبت به گروه کنترل به تاخیر انداخت؛ یعنی مدت زمان زنده ماندن را به $14/83 \pm 0/752$ دقیقه، افزایش داد. در دوز 50 mg/kg عصاره‌ی ماشک تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده شد و موش‌های گروه کنترل در مدت زمان $13/83 \pm 2/401$



شکل ۱: اثر دوزهای مختلف عصاره‌ی متانولی ماشک بر آنتی هیپوکسی خونی در موش سوری، $***P < 0.001$ نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل است. (Ns: not significant)



شکل ۲: اثر دوزهای مختلف عصاره‌ی متانولی ماشک بر آنتی هیپوکسی وابسته به گردش خونی موش سوری، $***P < 0.001$ و $**P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است.



شکل ۳: اثر دوزهای مختلف عصاره‌ی متانولی ماشک بر آنتی هیپوکسی خفگی در موش سوری $P < 0.05$ *
و $P < 0.01$ ** در مقایسه با گروه کنترل معنی دار است. (Ns: not significant)

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات مورسان و همکاران روی عصاره‌ی دانه‌ی انگور نشان داد که این میوه اثرات آنتی هیپوکسی هیپوباریک خوبی دارد که مربوط به ترکیبات پلی فنلی و آنتی‌اکسیدانی قوی آن می‌باشد و مغز را از استرس‌های اکسیداتیو هیپوکسی هیپوباریک محافظت می‌کند. هیپوکسی هیپوباریک غلظت ROS, NO, IL-6 را در مغز بالا می‌برد. در گروه‌هایی که تحت درمان با دانه انگور بودند؛ کاهش ROS مشاهده شد و کاهش غلظت IL-6, MMP2 مشابه گروه کنترل بود. موارد ذکرشده بیانگر اثرات ضد التهابی و آنتی آنژیوژنیک عصاره انگور است (۱۵).

در گیاهان، ترکیبات فنولی مانند فلاونوئیدها و پروآنتوسیانین وجود دارد. فلاونوئیدها در خنثی سازی رادیکال و کاهش عوارض مضر واکنش‌های اکسیداتیو موثر هستند. مکانیسم عمل فلاونوئیدها برای بروز اثر آنتی‌اکسیدانی و آنتی هیپوکسی به صورت جمع آوری رادیکال‌های آزادی مثل سوپر اکسید، آنیون‌ها، رادیکال‌های پراکسید چربی و رادیکال‌های

هیدروکسیل می‌باشد؛ همچنین آنها توانایی به دام اندازی اکسیژن منفرد و شلاته کردن فلزات را نیز دارند (۱۶). خاصیت آنتی‌اکسیدانی این دسته از مواد، وابسته به گروه‌های آروماتیک و هیدروکسیل فراوان ساختار آنها است که باعث به دام اندازی رادیکال‌های آزاد می‌شود. فلاونوئیدهایی که گروه هیدروکسیل آزاد بیشتری دارند؛ عمل جمع آوری رادیکال را بهتر انجام می‌دهند (۱۷).

در تحقیقات ابراهیم زاده و همکاران، محتوای تام فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌های آبی و متانولی سیاه ولیک بررسی و مشخص شد که عصاره‌ی پلی فنلی بیشترین محتوای فنولی و فلاونوئیدی را دارد. عصاره‌ها با خصوصیات شلاته کنندگی آهن و یون‌های فلزی نیز می‌توانند نقش آنتی‌اکسیدان ایفا کنند؛ همچنین آپوپتوز و تخریب سلولی را مهار نمایند؛ زیرا یون‌های فلزی، کوآنزیم‌های واکنش‌های اکسیداسیون اسیدهای چرب و مواد رادیکالی هستند (۱۸). به طور کلی اثر آنتی هیپوکسی در جهت افزایش آنزیم‌های مسیر گلیکولیز و میزان ATP است. در این تحقیق از فنی-

توئین به عنوان عامل خواب آور و پائین آورنده‌ی خلق و کنترل مثبت استفاده شده است که میزان فعالیت سلولی، اکسیژن و ATP مصرفی را کمتر و مقاومت در برابر هیپوکسی را بیشتر می‌کند (۱۹). فنی‌توئین مانند سایر مشتقات هیدانتوئین، غشاهای سلول‌های عصبی را تثبیت و طی تولید تکانه‌های عصبی، فعالیت تشنجی را با افزایش خروج یا کاهش ورود یون‌های سدیم از غشاهای سلولی در قشر حرکتی مغز محدود می‌کند (۲۰). فنی‌توئین با طبیعی کردن ورود سدیم به رشته‌های پورکنز در بیماران دچار آریتمی‌های ناشی از دیژیتال، اثر ضد آریتمی خود را اعمال می‌کند. این دارو برای کنترل حملات تشنجی تونیک-کلونیک و پارشیال به کار می‌رود (۱۴).

با نتایجی که از مطالعه‌ی حاضر به‌دست آمد؛ مشخص گردید که بعد از تزریق عصاره‌ی متانولی ماشک با غلظت‌های متفاوت، تغییر بارزی در مدت زمان زنده ماندن حیوان در مقایسه با گروه کنترل مشاهده می‌شود. استفاده از این عصاره در هیپوکسی خونی، اثرات بارزی را نشان داد و موش‌های گروه کنترل در مدت زمان $8/013 \pm 0/827$ مردند. نتایج گروهی که از عصاره‌ی ماشک استفاده کرده بودند؛ در مقایسه با گروه کنترل، اثرات قابل ملاحظه‌ای را دربر-داشت. دوزهای 50 mg/kg و 100 mg/kg عصاره‌ی متانولی ماشک در هیپوکسی خونی، زمان مرگ را به ترتیب $1/134 \pm 8/429$ و $2/950 \pm 14/50$ دقیقه به تاخیر انداختند. این فعالیت از لحاظ آماری نسبت به گروه کنترل بارز بود ($P < 0/05$).

نتایج آنتی‌هیپوکسی وابسته به گردش خون نشان داد که دوز 100 mg/kg عصاره، ترکیب موثرتری بوده است. این ماده به صورت بارزی مدت زمان زنده ماندن را نسبت به گروه کنترل ($14/83 \pm 0/7528$ دقیقه نسبت به $10/50 \pm 1/195$ دقیقه در گروه کنترل) افزایش

می‌داد ($P < 0/05$). عصاره‌ی متانولی ماشک در دوز 50 mg/kg برای مدت زمان $13/83 \pm 2/401$ دقیقه موش‌ها را زنده نگه داشت؛ این اثرات نسبت به گروه کنترل بارز بوده است ($P < 0/05$).

با توجه به نتایج هیپوکسی خفگی در تمامی دوزهای تست شده نسبت به گروه کنترل، فعالیت قابل توجهی نشان داده شد. عصاره‌ی متانولی در دوز 100 mg/kg موثرترین ترکیب بوده است. این ترکیب به صورت بارزی زمان مرگ را نسبت به گروه کنترل ($46/67 \pm 12/14$ دقیقه در مقایسه با $33/67 \pm 4/502$ دقیقه برای گروه کنترل) به تاخیر انداخت ($P < 0/05$). در دوز 50 mg/kg نیز عصاره مدت زمان زنده ماندن را ($38/75 \pm 4/062$ دقیقه نسبت به گروه کنترل) افزایش داد ($P < 0/05$). تست هیپوکسی گردش خونی که در این مطالعه انجام گرفت؛ اثرات عصاره‌ی متانولی ماشک بر این مسمومیت را بررسی کرد. همان‌طور که در بخش نتایج مشخص شد؛ این عصاره مدت زمان زنده ماندن را افزایش می‌دهد. حال می‌توان این افزایش را در دو علت مورد بررسی قرار داد. علت اول، بهبود وضعیت اکسیژن رسانی و به تعویق افتادن زمان مرگ است که می‌تواند به دلیل کاهش لیز شدن هموگلوبین در خون یا در اثر آزاد شدن هموگلوبین ذخیره از مغز استخوان باشد. علت دوم نیز افزایش توان مقاومت سلول در برابر هیپوکسی است. بیشترین عامل دخیل در افزایش مدت زمان زنده ماندن موش‌ها وجود فلاونوئید، ترکیبات آنتی‌اکسیدان دیگر در گیاه و وجود ترکیباتی است که خون رسانی به اندام‌های حیاتی را افزایش می‌دهند.

در بررسی اثر ضد هیپوکسی گزنه که توسط بورکوا صورت گرفت؛ آنان علت اثر-بخشی را افزایش میزان لکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها و هموگلوبولین ذکر کردند. اثرات آنتی‌هیپوکسی گزنه

همچنین در دو روش دیگر، استفاده از این گیاه در دوز $31/25 \text{ mg/kg}$ تا 500 موجب طولانی تر شدن مدت زمان زنده ماندن از حدود 9 دقیقه به 22 دقیقه گردید ($P>0/001$). این اثر می تواند ناشی از خواص آنتی اکسیدانی گیاه باشد (۱۲).

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله، مراتب قدردانی و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان و دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه که در اجرای این تحقیق ما را همراهی کردند؛ ابراز می دارند.

را به خواص آنتی اکسیدانی، آنتی پراکساید و مهار کردن زنجیره پراکسیداسیون چربی ربط می دهند که از تخریب و مرگ سلول ها در برابر هیپوکسی جلوگیری می کند. به علاوه افزایش مکانیسم خون رسانی نیز در اثر تحریک تولید هموگلوبین توسط گزنه می باشد (۲۱). فعالیت آنتی هیپوکسیک خوبی در سه مدل خفگی، هیپوکسی خونی و هیپوکسی وابسته به گردش خون از گیاه *Hypericum scabrum L* توسط اسلامی و همکاران گزارش شده است. در مدل هیپوکسی به وسیله خفگی، عصاره گیاه مذکور در مقادیر $7/75 \text{ mg/kg}$ تا $62/5$ مدت زمان زنده ماندن را از 26 دقیقه برای گروه کنترل به 633 دقیقه افزایش داد؛

Reference:

1. Ghasemi K, Ghasemi Y, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus species peels and tissues. Pak J Pharm Sci. 2009; 22(3): 277-81.
2. Shimizu Sasamata M, Terai M, Harada M, Yamamoto M. Anti-hypoxic and anti-ischemic actions of indeloxazine hydrochloride and its optical isomers: Possible involvement of cerebral energy metabolism. Arch Int Pharmacodyn Ther. 1993; 324: 33-46.
3. Hosseinzadeh H, Sadati N. The protective effect of Allium sativum L. clove aqueous and methanolic extracts against hypoxia-induced lethality in mice. Phytother Res. 2003; 17(3): 279-81.
4. Ostrovskaya RU. Differences in the mechanism of antihypoxic action of benzodiazepine receptor agonists and muscimol. Biull Eksp Biol Med. 1984; 98(10): 436-9.
5. Kiang JG, Tsen KT. Biology of hypoxia. Chin J Physiol. 2006; 49(5): 223-33.
6. Armstrong D. Advanced Protocols in Oxidative Stress II. Humana Press; 2010. 28.
7. Amarowicz R, Troszyńska A, Pegg RB. Antioxidative and radical scavenging effects of phenolics from Vicia sativum. Fitoterapia. 2008; 79(2): 121-2.
8. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF. Antidepressant and antihemolytic activities of Vicia sojakii. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2014; 18(7): 971-4.
9. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Eslami B. Antioxidant activity of vicia canescence. Pharmacologyonline. 2009; 3: 688-94.
10. Orhan IE, Kartal M, Abu Asaker M, Sezer Senol F, Yilmaz G, Sener B. Free radical scavenging properties and phenolic characterization of some edible plants. Food Chem. 2009; 114(1): 276-81.
11. Akroum S, Satta D, Lalaoui K. Antimicrobial, antioxidant, cytotoxic activities and phytochemical screening of some Algerian plants. Eur J Sci Res. 2009; 31: 289-295.
12. Eslami B., Nabavi S.F., Nabavi S.M., Ebrahimzadeh M.A., Mahmoudi M., 2011.
13. Samuelsson G. Drugs of natural origin: A text book of pharmacognosy. 4th ed. Stockholm: Swedish Pharmaceutical Press; 1999. 48-49.

14. Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.M., Nabavi S.F., Eslami Sh. Antioxidant and Free radical scavenging activities of culinary-medicinal mushrooms, Golden Chanterelle *Cantharellus cibarius* and Angel's Wings *Pleurotus porrigens*. *Int J Med Mushrooms*. 2010; 12(3): 265-72.
15. Muresan A, Suci S, Daicoviciu D, Filip AG, Clichici S. Grape seed extract effects in brain after hypobaric hypoxia. *J Med Food*. 2013; 16(9): 831-8.
16. Yanishlieva N, Gordon M, Pokorny J. Antioxidants in Food: Practical Applications. Cambridge, England: Woodhead Publishing; 2001.
17. Bovicelli P. Radical-scavenging polyphenols: New strategies for their synthesis. *J Pharm Pharmacol*. 2007; 59(12): 1703-10.
18. Halliwell B. Antioxidants: The basics--what they are and how to evaluate them. *Adv Pharmacol*. 1997; 38: 3-20.
19. Moriuchi H, Yuizono T. Pentoxifylline prevents a decrease in arterial oxygen tension in oleic acid-induced lung injury. *Crit Care Med*. 1995; 23(2): 357-64.
20. Smith I, Ding Y, White PF. Comparison of induction, maintenance, and recovery characteristics of sevoflurane-N₂O and propofol-sevoflurane-N₂O with propofol-isoflurane-N₂O anesthesia. *Anesth Analg*. 1992; 74(2): 253-9.
21. Burkova VN, Boev SG, Vengerovskii AI, Yudina NV, Arbuzov AG. Antihypoxic and hemostimulating actions of a nettle extract prepared by a nanotechnological approach. *Pharm Chem J [Internet]*. 2010; 44(3): 141-3.
Available from:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11094-010-0417-6>

Original paper

The Local Effect of Anti-hypoxia Activity of Methanol Extract in *Vicia Hirsuta*: An Analysis

Arvin Rahmanpour ^{1*}, Mehran Nasiri ², MohammadrezaFarahpour ³

1- Cellular & Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
(rahmanpour_arvin@yahoo.com)

2- Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Urmia, Iran

3- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Urmia, Iran

Abstract

Backgrounds and Aim: Hypoxia brings about detrimental changes in the correct structure and function of the brain. Accordingly, any medication (or compound) which results in the stability and strength of the brain upon hypoxia or ischemia, would be highly remarkable medically.

Anti-hypoxia compounds are effective in treatment and prevention of this problematic. Hypoxia brings significant changes to the activity of various enzymes in body, hence discovering medical solutions which decrease the death rate seems necessary.

Material and Methods: This study analyzes anti-hypoxia activity with a two-extract concentration through three standard methods in hypoxic mice. In this study 80 male mice are divided into three groups.

Results: In the anti-hypoxia of blood analysis, an intraperitoneal injection through NaNO_2 in the control group, results in the death rate of 8.013 ± 0.827 during the study. Comparing to the control group, both groups of *Vicia hirsuta* methanol extract had significant impacts ($p < 0.05$). In hypoxic blood circulation, the intraperitoneal injection of NaF yields significant results. The compound was more effective at a 100 mg/kg dosage. Extract at a dose of 50 mg/kg increased the survival ($p < 0.05$). In the hypoxic asphyxia, placing the animals in a sealed glass container brings on noticeable results. At a dosage of 50 mg/kg of methanol extract of *Vicia hirsuta* and at a dosage of 100 mg/kg ($p < 0.05$) mice were kept alive, and comparing to the control group, these results were revealing and remarkable.

Conclusion: according to the results the anti-hypoxia effects of *Vicia hirsute* extract was favorable.

Keywords: Anti-hypoxia, *Vicia hirsute*, Antioxidants, Mice.