

## اثر عصاره آبی - الکلی برگ سدر بر نیروی انقباضی و ضربان قلب قورباغه

دکتر محمد کاظم غریب ناصری

### چکیده

سابقه و هدف: سدر یا *Zizyphus spina christi* از نیره عتاب Rhamnaceae یکی از گیاهان بومی ایران است که به صورت خودرو در استان خوزستان رشد می‌کند و به آن کثار نیز می‌گویند. در طب سنتی در مورد اثرات مبوء آن اشاراتی شده است و برگ آن که سدر نامیده می‌شود به طور عمده برای شستشوی موی سر استفاده می‌شود. به منظور تعیین اثرات غلطات‌های مختلف عصاره آبی - الکلی برگ آن بر قلب قورباغه این تحقیق انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش Experimental انجام شد. قلب قورباغه از طریق Vena cava کانوله شده و توسط محلول رینگر استاندارد پرفیوز گردید سپس پس از تغذیه و اکسیژن‌دهی از شاخه چپ کانوله شده آنورت از قلب خارج گردید. به محلول رینگر عصاره اضافه شد تا غلطات‌های نهایی ۲۰، ۱۰، ۵ و ۲/۰ mg/ml باشد. ایجاد شود تغییرات نیروی انقباضی و تعداد ضربان قلب قبل و بعد از اضافه کردن عصاره به صورت ایزو متريک ثبت و مقایسه گردید. فشار بازگشت و زنگی در تمام مدت آزمایش ۵/۰ سانتی‌متر آب بود. دمای رینگر C ۲۰-۲۲ و pH آن ۸/۴ بود. تحریک الکتریکی دیواره دهلیز با ۱۰ ولت، ۱ هرتز و اهزارم ثانیه به مدت ۲۰ ثانیه قلل و بعد از استفاده از غلطات ۲۰ mg/ml اعمال شد و تأثیر هر غلطات با آماره t-test و بین غلطات‌های متقابل با Anova مورد قضاوت آماری فرار گرفت.

یافته‌ها: تحقیق روی ۲۵ قلب پرفیوز شده قورباغه انجام گرفت و متابعه گردید که این عصاره به صورت واپسی به غلطات موجب کاهش نیروی انقباضی و تعداد ضربان قلب قورباغه می‌گردد ( $p < 0.0001$ ). غلطات ۲۰ mg/ml در موارد سبب بروز ایست قلبی در حالت آدیاستول گردید که با پرفسوریون رینگر نازه ایست قلبی بر طرف گردید. تحریک الکتریکی (E.S) دیواره دهلیز تأثیری بر ایست قلبی حاصل از غلط ۲۰ mg/ml نداشت. نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد این عصاره حاوی ماده‌ای با مواد مهارکننده بهره‌مندی سلول‌های قلب از کلسیم در روند انقباض باشد و در تحقیقات علمی صحبت از احتمال و شاید و... نباید باشد.

وازگان کلیدی: سدر، *Zizyphus spina christi*، قلب قورباغه، نیروی انقباضی قلب، تعداد ضربان قلب

بر فعالیت‌های مکانیکی قلب قورباغه این پژوهش صورت گرفت.

### مواد و روش‌ها

تحقیق به روش تجربی و به شرح زیر انجام گرفت.

#### الف - عصاره گیری

برگ‌های تازه درخت سدر از اطراف داشکده پزشکی اهواز تهیه شد و پس از شستشو و خشک کردن در سایه و حرارت اتاق، آسیاب و الک شد. به منظور ایجاد تورم در پودر به دست آمده از محلول آب و الکل ۷۰ درصد به نسبت ۲ گرم پودر و یک میلی‌لیتر محلول به مدت ۱۵ دقیقه استفاده گردید. پودر مستورم شده به مدت ۷۲ ساعت به روش پرکلاسیون به نسبت ۳۰۰ گرم و ۷۰۰ میلی‌لیتر با الکل ۷۰ درصد مجاور گردید(۳) و محلول عصاره پس از عبور از کاغذ صافی واتمن شماره ۱۰ روی سطح شیشه گسترده شد تا در دمای اتاق، حلال تبخیر و عصاره خشک شود. سپس، عصاره به وسیله نیغ از سطح شیشه تراشیده شد. نسبت استخراج پودر عصاره از پودر برگ ۱۸ درصد بود.

#### ب - پروفوژیون قلب قورباغه

قلب قورباغه‌های نر و ماده بعد از مغزی نخاعی شدن به روش زیر پروفوژیون شدند: دور شریان‌های چپ و راست آنورت نخ عبور داده و گره شل زده شد. *Vena cava* به وسیله کاتری از جنس پلی‌اتیلن با قطر خارجی یک میلی‌متر کانیوله شد. این کانیوله به یک ستون از مایع رینگر با حجم ۱۰ میلی‌لیتر و ارتفاع مایع ۵/۵ سانتی‌متر حاوی رینگر استاندارد متصل بود(۶). دمای محلول رینگر C ۲۰-۲۲ و pH آن برابر ۸/۴ بود و اکسیژن ۱۰۰ درصد (۷) در آن دمیده شد.

#### مقدمه

سدر، سدره، مونبال داود با نام علمی *Zizyphus* christ's tree با نام انگلیسی *Spina Christi* یا *thorn*، گیاهی از تیره عناب به طول ۱۰ متر است که در عربستان، شمال آفریقا و ایران در استان‌های خوزستان، فارس، هرمزگان تا جزیره خارک به صورت خودرو رشد می‌کند. سدر گیاهی همیشه سبز با شاخه‌های خاردار و برگ‌های تخم مرغی شکل و نوک‌تیز است(۱). میوه آن ترش و شیرین، خوشبو و کروی شکل تا قطر ۲ سانتی‌متر است. میوه رسیده آن مسهل صفرا و میوه نارس آن قابل قابض و ناخ است. پودر برگ آن معروف به سدر است و برای شستشوی موی سر و تقویت مو و جلوگیری از ریزش آن مصرف می‌شود(۱و۲). شیره مغز هسته آن در تپه‌ای گرم صفاری و نیز آبله و سرخک نافع است. از پوست ساقه آن در دباغی استفاده می‌شود(۱). از مصارف دیگر برگ آن ضدغتوئی زخم است. ذکر شده است که عصاره آبی - الکلی برگ آن از رشد بعضی از قارچ‌ها جلوگیری می‌کند(۳). در مورد فواید برگ و میوه عناب که از همین تیره می‌باشد اطلاعات فروانی وجود دارد. از جمله در طب سنتی میوه عناب به تنها بی و یا همراه با چند داروی سنتی دیگر جهت ناراحتی‌های دستگاه تنفس استفاده می‌شود در یکی از تحقیقات گزارش شده است که برگ عناب می‌تواند حس ذائقه را برای مواد شیرین کاهش دهد. در مورد برگ سدر نشان داده‌اند که عصاره بتانولی آن قادر به کاهش قند خون موش‌های مبتلا به دیابت بوده و فعالیت آنزیم گلوكز ۶ فسفاتاز را افزایش می‌دهد(۴). با توجه به بررسی‌های انجام شده و نبود اطلاعاتی درباره اثرات عصاره آبی - الکلی برگ سدر در منابع جدید به منظور تعیین اثر این عصاره

می شد. مشخصات تحریک شامل ۱۰ ولت و ۱هزار ثانیه (Harvard Kymograph Universal) بود. با توجه به وجود رینگر در اطراف قلب، سعی می شد تا استقرار الکترودها به نحوی باشد که در هنگام تحریک، عضلات اسکلتی بدن حیوان تحریک نشده تا تأثیری بر انقباضات ثبت شده نداشته باشد. به منظور روشن شدن تأثیر تحریک الکتریکی در حالت کنترل (بدون حضور عصاره) قلب به مدت ۱۰ تا ۲۰ ثانیه تحریک می شد. پس از اضافه کردن عصاره با غلظت  $20\text{ mg/ml}$  در حالتی که ایست قلبی ایجاد شده بود در پایان ۱/۵ دقیقه به مدت ۱۰ تا ۲۰ ثانیه با همان مشخصات، قلب تحریک می گردید.

روش بورسی آماری نتایج این تحقیق به منظور اندازه گیری تغییرات نیروی انقباضی ( $\Delta C$ ٪) و تغییرات تعداد ضربان قلب ( $\Delta HR$ ٪) صورت پذیرفت، لذا تغییرات دامنه انقباضات و ضربان قلب ۱۰-۲۰ ثانیه قبل از اضافه کردن عصاره و به همین مدت در پایان ۱/۵-۲ دقیقه با هم مقایسه شده و به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارایه شدند. نتایج بین دو غلظت به روش  $t$ -test و بین همه غلظت ها به روش ANOVA مقایسه شد و مورد قضاوت آماری فرار گرفت.

#### یافته ها

تحقیق روی ۲۵ قورباغه انجام گرفت. شکل ۱(F-A) ثبت حقیقی تأثیر غلظت های مختلف آبی - الکلی برگ سدر بر نیروی انقباضی و ضربان قلب قورباغه را نشان می دهد. همان طوری که مشاهده می شود، این عصاره با غلظت های زیاد بر دو متغیر فوق اثر مهاری دارد و در غلظت  $20\text{ mg/ml}$  موجب توقف

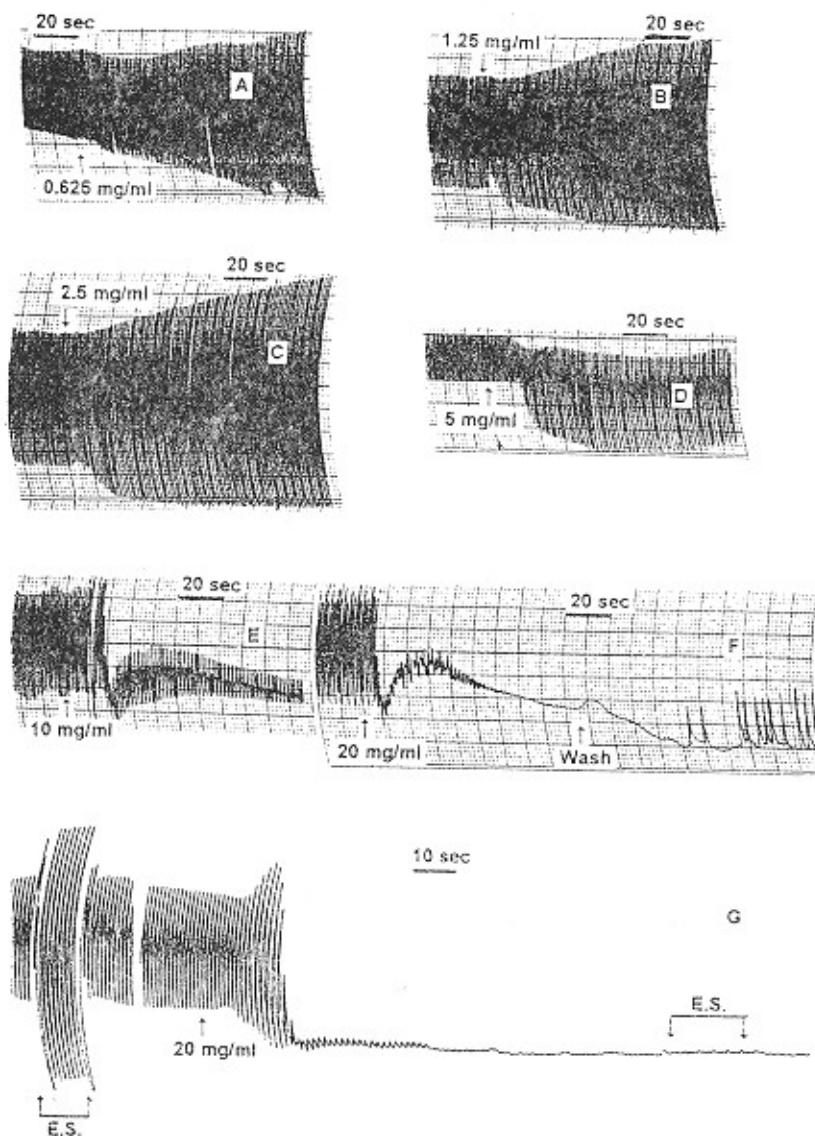
با توجه به تأثیر ارتفاع ستون مایع رینگر (به عنوان فشار بازگشت وریدی) بر برونده قلب (۶)، سعی گردید در تمام مراحل آزمایش، ارتفاع مایع در حد ۵/۵ سانتیمتر همواره ثابت بماند. سپس، گره روی آنورت راست محکم شد و شاخه آنورت چپ به وسیله کاتری از جنس پلی اتیلن با قطر خارجی یک میلی متر کانیوله شد تا محلول رینگر پس از تغذیه و اکسیژن دهی از قلب و از طریق کانیولای اخیر خارج شود. عمل اکسیژن دهی به محلول رینگر در مخزن اصلی رینگر که بالاتر از قلب قرار داشت انجام می شد. پس از اضافه کردن عصاره، مخلوط رینگر و عصاره به طور مرتب به هم زده می شد.

#### ج - روش ثبت اطلاعات

نوك قلب به وسیله گیره استیل به ترانس دیوسر ایزومتریک Pioden Control LTD متصل گردید و دستگاه Dynamometrer UFI Harvard Universal Oscillograph انقباضی قلب را ۰/۵ تا ۱ میلی متر در ثانیه روی کاغذ ثبت می کرد. پس از دوره ۱۰ دقیقه ای recovery عصاره حل شده در آب مقطور به محلول ستون رینگر اضافه می شد تا غلظت های نهایی  $20\text{ mg/ml}$  و  $2/5$ ،  $5/10$ ،  $1/25$ ،  $1/625$  به وجود آید. مدت پرفوژیون هر غلظت ۲ تا ۱/۵ دقیقه و فاصله زمانی بین دو غلظت متوالی ۵ تا ۱۰ ثانیه قطرات رینگر مرتبط نگهداشته می شد. در پایان مدت ۱/۵ تا ۲ دقیقه تأثیر دادن عصاره، مخلوط عصاره و رینگر ستون از طریق لوله تحتانی ستون به سرعت تخلیه شد و با ورود و تخلیه مکرر رینگر تازه سعی می شد تا بقایای عصاره در ستون کاملاً شسته شود. در تجربیات تأثیر الکتریکی دهیز، از یک جفت الکترود نفره ای نفراز با دیواره دهیز استفاده

کامپل قلبی شده است و جایگزینی آن با رینگر تازه (Wash) موجب برگشت ضربان قلب شده است.

ضربان قلب در حالت آدیاستول (adiastole) شد. در قسمت G شکل ۱ مشاهده می‌گردد که خالی کردن عصاره با غلظت  $20\text{ mg/ml}$  سبب ایست



نیروی انقباضی قلب شده است ولی این اثرات از نظر آماری قابل ملاحظه نبودند. در غلظت‌های  $20\text{ mg/ml}$  و  $10\text{ mg/ml}$  موجب بروز اثرات مهاری بر نیروی انقباضی قلب گردیدند و مشخص شد که

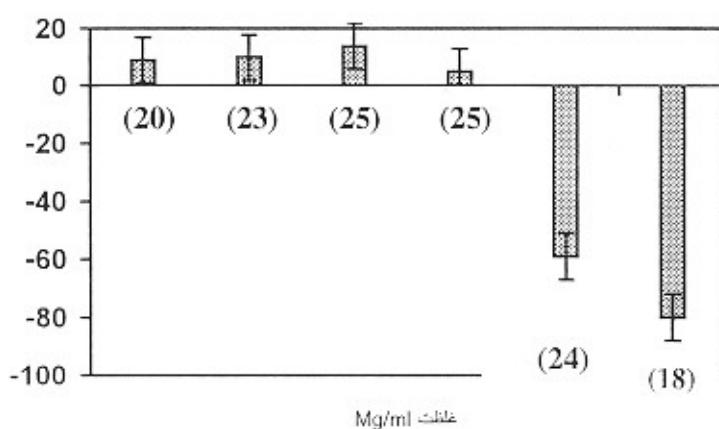
نمودار شماره ۱ اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی - الکلی برگ سدر را بر نیروی انقباضی قلب نشان می‌دهد. اگرچه عصاره تا غلظت  $5\text{ mg/ml}$  (خصوصاً در غلظت  $2/\text{mg/ml}$ ) موجب افزایش

یک اثر مهاری شدید بر نیروی انقباضی قلب می‌باشد ( $P<0.0001$ ). در غلظت  $20\text{mg/ml}$  این اثر مهاری  $32\pm 5/80\%$  بود و در اکثر موارد ایست قلبی مشاهده گردید.

اختلاف اثر غلظتهای  $10\text{mg/ml}$  و  $5\text{mg/ml}$  ملاحظه است ( $P<0.0001$ ). اختلاف اثر غلظت‌های  $20\text{mg/ml}$  و  $10\text{mg/ml}$  نیز قابل ملاحظه بود ( $P=0.0059$ ). بررسی آماری نتایج به روش ANOVA نشان دهنده

نمودار ۱ - میزان درصد تغییرات نیروی انقباضی قلب قورباغه بر حسب غلظت‌های عصاره آبی - الکلی برگ سدر

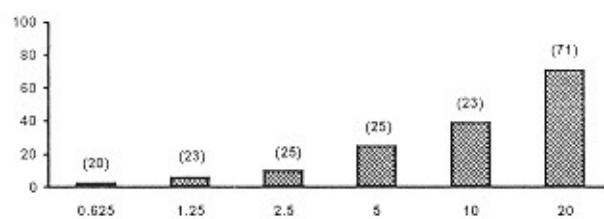
0.625    1.25    2.5    5    10    20



دارای اختلاف معنی‌داری هستند ( $P<0.003$ ). بررسی آماری به روش ANOVA نیز در مورد اثر این عصاره بر تعداد ضربان قلب مانند این نیروی انقباضی نشان‌دهنده اثر مهاری شدید وابسته به غلت می‌باشد ( $P<0.001$ ).

نتیج حاصل از تأثیر عصاره آبی - الکلی برگ سدر بر تعداد ضربان قلب در نمودار شماره ۲ ارایه گردیده است نشان می‌دهد که در همه غلظت‌های به کار رفته اثر مهاری بر این متغیر وجود دارد. مقایسه آماری اثر غلظت‌های متواالی نشان می‌دهد که فقط غلظتهای  $20\text{mg/ml}$  و  $10\text{mg/ml}$

نمودار ۲ - میزان درصد تغییرات ضربان قلب قورباغه بر حسب غلظت‌های مختلف عصاره آبی - الکلی برگ سدر



معنی‌دار نیست. در مورد تأثیر عصاره بر تعداد ضربان قلب باید اضافه نمود که برخلاف تأثیر مشاهده شده بر نیروی انقباضی، اثر مهاری ایجاد شده در ضربان قلب در همه غلظت‌های عصاره

این مطالعه نشان داد که غلظت‌های  $5\text{mg/ml}$  تا  $10\text{mg/ml}$  در مورد نیروی انقباضی اثر تقویت‌کننده (غیر قابل ملاحظه) دارد در حالی که در مورد تعداد ضربان قلب روندی مهاری دارد هرچند که

خواهد توانست ضمن عبور آرام از قلب، مانع مرگ بافت گردد.

اگرچه اطلاعات نسبتاً فراوانی در مورد اثرات میوه عناب و برگ آن که از همین تیره است در منابع قدیم و جدید وجود دارد ولی اطلاعات کافی در مورد برگ سدر وجود ندارد، لذا این امر مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق را با نتایج کار سایر محققان دشوار می‌سازد. با این وجود، براساس نتایج به دست آمده می‌توان گفت که عصاره آبی - الکلی برگ سدر حاوی ماده و یا مواد موثری می‌باشد که به خصوص در غلظت‌های زیاد می‌تواند موجب کاهش نیروی انقباض و تعداد ضربان قلب گردد. این اثر می‌تواند نتیجه مهار ورود یون کلسیم از محیط خارج سلولی به سلول‌های قلبی باشد. در عین حال به دشواری می‌توان تصور نمود که اضافه کردن عصاره سبب رقیق شدن محلول رینگر و کاهش غلظت یونی آن شده باشد. زیرا در آزمایش‌های انجام شده که نتایج آن در این تحقیق ارایه نشده‌اند، نیروی انقباض قلب حتی با رینگر بدون کلسیم فقط حدود ۵۰ درصد کاهش یافته است ولی موجب ایست قلبی نشده است. این موضوع موبد این نظریه است که قلب قورباغه می‌تواند از منابع داخل سلولی کلسیم (رتیکولوم سارکوپلاسمیک) استفاده نماید. این موضوع در مطالعه Ozgul نشان داده شده است. در بررسی یاد شده مصرف ۶-آمینوپیریدین که سبب توقف ورود کلسیم به سلول‌های قلب قورباغه می‌گردد. قادر به توقف ضربان قلب نیست<sup>(۸)</sup>. لذا احتمال دارد که عصاره برگ سدر امکان استفاده از کلسیم را در روند انقباض سلول‌های قلبی چهار اختلال کرده باشد و شاید فرصت استفاده از کلسیم منابع داخل سلولی را از بین برده باشد.

مشاهده می‌گردد. به عبارت دیگر اثر مهاری بر تعداد ضربان قلب از غلظت کمتر عصاره شروع می‌گردد. قسم (G) شکل ۱ نتیجه تحریک الکتریکی (اهرتز، ۱۰۰ ولت و اهزارم ثانیه) قبل از اضافه کردن عصاره و در پایان ۱/۰ دقیقه بعد از اضافه کردن عصاره برگ سدر با غلظت ۲۰mg/ml و ایجاد ایست قلبی را نشان می‌دهد. همان‌طوری که مشاهده می‌گردد، قبل از تأثیر عصاره<sup>۵</sup>، با توجه به فرکانس استناده شده که تقریباً با فرکانس قلب یکسان است (به جز شروع و خاتمه تحریک که سبب اکسٹراسیستول گردید) قلب ریتم طبیعی داشته و حتی نیروی انقباضی افزایش یافته است. از طرف دیگر تحریک باد شده در زمان برقراری ایست قلبی تأثیری بر آن نداشته و نتوانسته است سبب شروع ضربان در قلب گردد.

## بحث

تحقیق نشان داد که عصاره آبی - الکلی برگ سدر به خصوص در غلظت‌های زیاد موجب کاهش نیروی انقباضی و تعداد ضربان قلب می‌گردد. از ویژگی‌های مثبت روش پرفوژیون قلب قورباغه می‌توان به کاربرد آن به عنوان مدل مناسبی جهت بررسی اثرات مواد، از جمله عصاره گیاهی، بر قلب اشاره کرد. سادگی تهیه، نگهداری، سهولت کاریوله کردن و قدرت تحمل قلب در برابر ایست کامل قلبی از نکات مثبت این مدل حیوانی می‌باشد. احتمالاً، به این دلیل که عدم وجود عروق کرونر در این نوع قلب و تغذیه و اکسیژن‌گیری از سطوح داخلی و خارجی سبب می‌گردد. تا قلب شرایط دشواری مانند ایست قلبی را به خوبی تحمل نماید و ادامه آزمایش امکان پذیر باشد، زیرا حتی اگر ایست کامل قلبی ایجاد شده باشد، محلول رینگر

کاهش قند خون می‌گردد(۴). ممکن است در این بررسی عصاره آبی - الکلی برگ سدر توانسته باشد به سرعت در امر استفاده از گلوکز در سلولهای عضلانی قلب اختلال ایجاد کرده باشد. در هر حال نتیجه‌گیری دقیق‌تر نیازمند تحقیق بیشتر است و شاید بتوان با استخراج و تخلیص مواد موثر برگ سدر جهت درمان زیادی فشار خون فیبرلاسیون قلبی و تاکیکاردي استفاده نمود.

مشابه این اثر مهاری در مورد توئیسته ایلنوم موش صحرابی دیده شده است که طی آن عصاره آبی - الکلی برگ سدر به صورت وابسته به غلظت موجب شل شدن قطعه ایلنوم موش صحرابی گردیده است(۷). گزارش شده است که درمان چهارهفته‌ای موشهای مبتلا به دیابت با عصاره بنانولی برگ سدر موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی فسفریلاز و گلوکز ۶-فسفاتاز و در نهایت

#### References:

۱. صیرحدیر ح. معارف گیاهی، کاربرد گیاهان در پیشگیری و در درمان بیماریها. چاپ اول. دفتر نشر فرهنگ اسلامی، جلد سوم: ۱۳۷۳: صفحات ۱۳۰-۱۳۲.
۲. زرگری ع. گیاهان داروئی. چاپ ششم. انتشارات دانشگاه تهران. سال ۱۳۷۲: صفحه ۶۰۳.
۳. حبیب یگی ف. بررسی آزمایشگاهی اثرات ضد قارچی گیاهان اوکالیپتوس و سدر. پایان نامه جهت اخذ دکترا داروسازی دانشکده داروسازی اهواز: ۱۳۷۳.
4. Glombiza KW, Mahran GH, Mirhom YW, Michel KG, Motawi TK. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of Zizyphus spina chnisti in rats. Planta Med 1994; 60(3): 244-47.
5. صوصاص شریعت ه. عصاره گیری و استخراج مواد موثره گیاهان داروئی و روشهای شناسایی و ارزشیابی آنها. انتشارات مانی. سال ۱۳۷۱: سال ۱۶-۱۴.
6. Andrew BL. Experimental Physiology. 9<sup>th</sup> edition, Churchill Livingstone. 1972: 155-57.
7. غریب ناصری م ک، امیدی آ، معصوم م. اثر عصاره هیدروالکلی برگ کناز(سدر) بر فعالیت مکانیکی ایلنوم موش صحرابی. هفتمین سمینار سراسری دانشجویان داروسازی کشور، اصفهان، اسفند ۱۳۷۹: ۱۱۷.
8. Ozgul M, Silan C, Yillar O, Kucukhuseyin C. 4- aminopyridine can induce release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of heart. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2000; 11(1): 57-62.