

## اثرات عصاره هیدروالکلی ریزوم *Cynodon dactylon (L.) pers.* بر روی اندازه انفارکت قلب ایزوله ایسکمیک

مسلم نجفی<sup>۱,۲,۳\*</sup>، حسین ناظمیه<sup>۱,۲</sup>، حامد قویمی<sup>۱</sup>، افشین قره خانی<sup>۱</sup>، علیرضا گرجانی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

<sup>۲</sup>مرکز تحقیقات کاربردی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. <sup>۳</sup>مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۱/۹، تاریخ پذیرش: ۸۷/۴/۱۳

### Effects of hydroalcoholic extract of *Cynodon dactylon (L.) pers.* rhizome on infarct size in ischemic isolated heart

Najafi M.<sup>1,2,3\*</sup>, Nazemiyeh H.<sup>1,2</sup>, Ghavimi H.<sup>1</sup>, Gharakhani A.<sup>1</sup>, Garjani A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. <sup>2</sup>Drug Applied research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. <sup>3</sup>Research Center for Pharmaceutical Nanotechnology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Received: 29 Jan. 2008, Accepted: 3 Jul. 2008

**Objectives:** In the present study, effects of rhizome hydroalcoholic extract of *Cynodon dactylon (L.) pers.* (*C. dactylon*) on ischemia/reperfusion (I/R) induced cardiac infarct size were investigated. **Methods:** Isolated rat hearts were mounted on a Langendorff apparatus then subjected to 30min regional ischemia followed by 120min reperfusion. The hearts were perfused by a modified Krebs solution throughout the experiment (control) or enriched Krebs solution with extract of *C. dactylon* (25, 50, 100 and 200 $\mu$ g/ml) during I/R. At the end of reperfusion, the hearts were stained by Evans blue solution then incubated by Triphenyltetrazolium chloride. The volume of infarcted tissue, risk zone and the percentage of infarct size were determined by computerized planimetry. **Results:** The results demonstrated that rhizome hydroalcoholic extract of *C. dactylon* produces significant reduction in infarct size and volume of infarcted tissue versus the control. In the control group, infarct size was 34.3 $\pm$ 2.3%, while perfusion of *C. dactylon* extract (25, 50, 100 and 200 $\mu$ g/ml) reduced it to 4.9 $\pm$ 2.2 ( $p < 0.001$ ), 13.4 $\pm$ 3.4 ( $p < 0.001$ ), 20.5 $\pm$ 3.6 ( $p < 0.01$ ) and 32 $\pm$ 3.7% ( $p > 0.05$ ), respectively. Similarly, infarcted volume was significantly lowered by the extract (25, 50 and 100 $\mu$ g/ml) from 121 $\pm$ 19mm<sup>3</sup> (control) to 21 $\pm$ 9 ( $p < 0.001$ ), 34 $\pm$ 13 ( $p < 0.001$ ) and 67 $\pm$ 9mm<sup>3</sup> ( $p < 0.05$ ), respectively. Reduction of infarct size and infarcted volume were reversely dependent on the concentration of extract. **Conclusion:** For the first time, results of this study showed protective action of *C. dactylon* against I/R injuries as reduction of infarct size. Maybe, improvement of some hemodynamic parameters in the isolated hearts may involve in the protective effects of *C. dactylon*.

**Key words:** *Cynodon dactylon*; hydroalcoholic extract; infarct size, ischemia/reperfusion; isolated heart.

**زمینه و هدف:** در این مطالعه، اثرات عصاره هیدروالکلی ریزوم *Cynodon dactylon (C. dactylon)* بر روی اندازه انفارکت ناشی از ایسکمی - رپرفیوژن (I/R) بررسی شد. **روشها:** قلب ایزوله شده رتھا با اتصال به دستگاه لانگندورف با محلول کربس تغذیه شدند. گروه کنترل در زمان تثبیت، ۳۰ دقیقه ایسکمی ناحیه ای و ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن، محلول کربس معمولی دریافت داشت ولی در گروههای تست طی I/R، محلول کربس حاوی غلظتهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰  $\mu$ g/ml از عصاره به قلب پرفیوژن شد. سپس قلبها با اوانس بلو رنگ آمیزی شده و بدنال انکوباسیون با تری فنیل تترازولیوم کلراید، حجم نواحی در معرض ایسکمی (Risk zone)، ناحیه انفارکت و درصد اندازه انفارکت با روش پلانیمتری کامپیوتری اندازه گیری شد. **یافته ها:** عصاره هیدروالکلی ریزوم *C. dactylon* موجب کاهش معنی دار حجم ناحیه انفارکت و اندازه انفارکت قلب ایزوله گروههای تست درمقایسه با کنترل گردید. مصرف غلظتهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰  $\mu$ g/ml از عصاره، اندازه انفارکت را از ۳۴/۳ $\pm$ ۲/۳ درصد (کنترل) بترتیب به ۴/۹ $\pm$ ۲/۲ ( $p < 0/001$ )، ۱۳/۴ $\pm$ ۳/۴ ( $p < 0/001$ )، ۲۰/۵ $\pm$ ۳/۶ ( $p < 0/001$ ) و ۳۲ $\pm$ ۳/۷ درصد ( $p > 0/05$ ) کاهش داد. همچنین غلظتهای ۱۰۰-۲۵  $\mu$ g/ml، حجم ناحیه انفارکت را نیز از ۱۲۱ $\pm$ ۱۹ mm<sup>3</sup> (کنترل) بترتیب به ۲۱ $\pm$ ۹ ( $p < 0/001$ )، ۳۴ $\pm$ ۱۳ ( $p < 0/001$ ) و ۶۷ $\pm$ ۹ mm<sup>3</sup> ( $p < 0/05$ ) کاهش اندازه انفارکت و حجم نواحی انفارکت رابطه خطی معکوسی با غلظت عصاره نشان داد. **نتیجه گیری:** این مطالعه برای نخستین بار اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی ریزوم *C. dactylon* را بر علیه آسیبهای ناشی از I/R به صورت کاهش اندازه انفارکت نشان داد. بخشی از این اثرات محافظتی احتمالاً ناشی از بهبود فاکتورهای همودینامیک قلب ایزوله میباشد. **واژه های کلیدی:** *Cynodon dactylon*، عصاره هیدروالکلی، انفارکت ساینز، ایسکمی - رپرفیوژن، قلب ایزوله.

\* Corresponding author: Moslem Najafi, Assistant Professor, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. Tel: +98-411-3372250, Fax: +98-411-3344798; E-mail: najafim@tbzmed.ac.ir

\* نویسنده مسئول: مسلم نجفی، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۷۲۲۵۰، نمابر: ۰۴۱۱-۳۳۴۴۷۹۸

## ۱- مقدمه

*Cynodon dactylon (L.) pers* گیاهی است خودرو و چند ساله که در سراسر جهان بویژه در مناطق گرمسیر پراکنده شده است (۱،۲). در اکثر نقاط ایران نیز از جمله در مازندران، آذربایجان، کردستان، اصفهان، اطراف تهران، زابل و ... رشد می کند (۳). قسمت های مورد استفاده گیاه در طب سنتی شامل برگ ها، ریشه و ریزوم آن است (۴،۵). از زمان های دور در برخی از مناطق ایران از جمله آذربایجان، *C. dactylon* بعنوان یک گیاه دارویی شناخته شده و در طب سنتی این منطقه ریشه و ریزوم آن برای درمان بیماری هایی نظیر تهوع، استفراغ، سرفه، خونریزی، افسردگی، صرع، فشار خون بالا و ناراحتی های گوارشی استفاده می شود (۶). این گیاه همچنین دارای خاصیت دیورتیکی (۷)، خلط آور (۴)، ضد التهاب (۸،۹)، ضد فشارخون (۹،۱۰) و ضد جنون بوده (۲) و در درمان سوزش مجاری ادراری (۱۱، ۱۰، ۸) و عفونت های گونوکوکی نیز کاربرد دارد (۵). در طب سنتی هندوستان، این گیاه برای درمان تشنگی، بی اشتها، خارش، باد سرخ و جلوگیری از سقط ناخواسته بکار می رود (۱۰، ۸). گزارش شده که خوردن جوشانده گیاه کامل در درمان اختلالات دوران قاعدگی مفید می باشد (۱۲). شیره برگ گیاه همراه با نمک طعام در درمان دردهای معده موثر بوده و مصرف شیره گیاه به شکل فرآورده استنشاقی داخل بینی هم در جلوگیری از خونریزی بینی کارایی خوبی نشان داده است (۸). از شیره گیاه همچنین در درمان دردهای روماتیسمی نیز استفاده می شود (۶، ۳). بررسی های Basu و همکاران نشان داده که شیره گیاه تازه در تسکین هیستری و درمان برخی از بیماری های روانی موثر است (۵). همچنین عصاره آبی این گیاه در کنترل قند خون و کلسترول رت های دیابتی شده با تجویز استروپتوزوسین مفید بوده است (۱۳). مطالعات قبلی ما، اثرات برجسته عصاره هیدروالکلی این گیاه بر روی افزایش قدرت انقباضی را در قلب ایزوله نشان داده است (۱۴). همچنین سال های متمادی است که این گیاه با نام بومی چایر در مناطقی از آذربایجان و کردستان بصورت سنتی در درمان بیماری های قلبی و عروقی مانند آنژین صدری، گرفتگی عروق کرونر و نارسائی قلبی مصرف می شود. بر اساس اطلاعات کسب شده از بیماران مصرف کننده چایر و معاینات بالینی برخی از آنان توسط همکاران متخصص قلب و عروق و تجربیات بالینی چند ساله ایشان، تاثیرات محافظتی مفید دم کرده ریشه گیاه مذکور در بیماری های قلبی و عروقی تا حدودی نشان داده شده است. اما بجز آنچه که در طب سنتی اشاره شد هیچ مطالعه ثبت شده

علمی بر روی اثرات محافظت قلبی - عروقی این گیاه بویژه بر روی اندازه انفارکت قلبی متعاقب پدیده ایسکمی - رپرفیوژن (I/R) در منابع علمی گزارش نگردیده است. لذا برای تعیین علمی اثرات محافظت قلبی آن، نقش عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه مذکور بر روی اندازه انفارکت ناشی از پدیده I/R در قلب ایزوله رت بررسی شد.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱: مواد

پنتو باربیتال سدیم (شرکت کلا بلژیک)، اوانس بلو و تری فنیل تترازولیوم کلراید و مواد بکاررفته در تهیه محلول کربس شامل: کلرید سدیم، بیکربنات سدیم، کلرید پتاسیم، سولفات منیزیم، پتاسیم دی هیدروژن فسفات، D-گلوکز و کلرید کلسیم (شرکت مرک).

### ۲-۲: حیوانات

رت های نر آلبینو از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۳۲۰-۲۶۰ گرم در گروه های ۶ تایی در قفس های پلی اتیلنی شفاف استاندارد در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی - تاریکی در دمای معمول آزمایشگاه (۳±۲۱ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند و تا زمان انجام آزمایش آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند.

### ۲-۳: جمع آوری نمونه و آماده سازی عصاره هیدروالکلی

ریزوم گیاه از مراتع و باغ های شهرستان مراغه در اواخر پائیز ۱۳۸۴ جمع آوری شد و پس از تایید نمونه ای در هرباریوم دانشکده داروسازی تبریز نگهداری شد. ریزوم ها در هوای آزاد معمولی آزمایشگاه به دور از نور آفتاب خشک گردید. سپس ۲۰۰ گرم از ریزوم خشک و پودر شده گیاه ۳ مرتبه با روش ماسراسیون (هر بار به مدت ۱۲ ساعت در دمای آزمایشگاه) با ۱ لیتر مخلوط آب - متانول (به نسبت ۳۰:۷۰) استخراج گردید. حلال عصاره نیز به کمک دستگاه تقطیر در خلاء تا حصول باقیمانده کاملاً خشک خارج گردید. عصاره خشک شده (۱۵ گرم) تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. بر اساس غلظت های مورد نظر برای مطالعه، مقدار معینی از عصاره خشک شده ریزوم در داخل یک لیتر محلول کربس تازه حل شد تا محلول کربس حاوی غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و  $\mu\text{g/ml}$  ۲۰۰ بدست آید. سپس محلول های آماده شده مطابق پروتکل مندرج در روش انجام مطالعه، برای پرفیوژن قلب ایزوله رت ها بکار رفتند.

### ۲-۴: روش انجام مطالعه

شیمیائی با کمک معرف های اسپری اختصاصی و لامپ اشعه ماوراء بنفش صورت گرفت (۲۱،۲۲).

### ۶-۲: تجزیه و تحلیل آماری

کلیه داده ها بصورت SEM±Mean بیان شده و تفاوت بین گروه ها با آنالیز واریانس یکطرفه (با پس آزمون LSD) بررسی شدند. مقادیر  $p < 0/05$  معنی دار تلقی گردید.

## ۳- نتایج

### الف- نتایج فیتوشیمیائی

مطالعات فیتوشیمیائی بر روی عصاره هیدروالکلی ریزوم C. *dactylon* وجود مقادیر زیادی قند و ترکیبات مهمی مانند فلاونوئیدها، استرول ها و ساپونین های استروئیدی را نشان داد. مقادیر کمی آلکالوئید نیز در این عصاره شناسائی گردید.

### ب- نتایج مربوط به اندازه انفارکت

نتایج مربوط به اثرات عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه C. *dactylon* بر روی حجم Risk Zone، حجم ناحیه انفارکت و درصد اندازه انفارکت در قلب ایزوله رت در جدول شماره ۱ خلاصه شده اند. همان گونه که در جدول مذکور دیده می شود پرفیوژن عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه C. *dactylon* در طول ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن موجب کاهش معنی دار در اندازه انفارکت و حجم ناحیه انفارکت قلب ایزوله گروه های تست در مقایسه با کنترل می شود. اندازه انفارکت در گروه کنترل  $2/3 \pm 3/4$  درصد بود در حالی که تجویز غلظتهای ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و  $200 \mu\text{g/ml}$  از عصاره آن را به ترتیب به  $2/2 \pm 9/4$  ( $p < 0/001$ )،  $4/4 \pm 3/13$  ( $p < 0/001$ )،  $6/6 \pm 5/20$  ( $p < 0/01$ ) و  $7/3 \pm 3/32$  درصد ( $p > 0/05$ ) کاهش داد. در محدوده غلظتهای مورد مطالعه، ارتباط بین میزان کاهش اندازه انفارکت با غلظت عصاره از یک رابطه خطی معکوس با معادله  $y = 8/84x - 4/4$  و با توان دو ضریب همبستگی معادل  $r^2 = 0/99$  پیروی می کرد بطوری که با کاهش غلظت عصاره بکار رفته اندازه انفارکت نیز کاهش بیشتری نشان داد (شکل شماره ۱). غلظت های  $100-25 \mu\text{g/ml}$  حجم ناحیه انفارکت را نیز از  $19 \pm 121 \text{ mm}^3$  (کنترل) به ترتیب به  $9 \pm 21$  ( $p < 0/001$ )،  $13 \pm 34$  ( $p < 0/001$ ) و  $9 \pm 67 \text{ mm}^3$  کاهش دادند ( $p < 0/05$ ). اما مشابه نتایج اندازه انفارکت، حجم ناحیه

رت ها به صورت تصادفی به ۵ گروه ۸-۶ عددی (شامل یک گروه کنترل و چهار گروه تحت درمان با غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و  $200 \mu\text{g/ml}$  از عصاره) تقسیم شده و بعد از بیهوشی با پنتوباریتال سدیم ( $50 \text{ mg/kg-ip}$ )، قلب آنها بسرعت ایزوله گردید و پس از اتصال به دستگاه لانگندورف، جریان محلول کربس ( $\text{pH} = 7/4$ ) محتوی گاز کاربوژن (۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی اکسید کربن) با فشار ثابت و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برقرار شد. محلول کربس بکار رفته در این مطالعه محتوی مواد زیر برحسب میلی مول بر لیتر بود (۱۵): کلرید سدیم ۱۱۸/۵، بیکرینات سدیم ۲۵، کلرید کلسیم ۱/۷، سولفات منیزیم ۱/۲، پتاسیم دی هیدروژن فسفات ۱/۲، D-گلوکز ۱۲ و کلرید پتاسیم ۴/۸. برای ایجاد ایسکمی ناحیه ای (Regional ischemia)، یک نخ بخیه جراحی سیلک با اندازه ۴ صفر به دورشریان کرونر نزولی چپ قلب موقتاً گره زده شد و پس از ۳۰ دقیقه ایسکمی، گره باز شده و به مدت ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن انجام گرفت (۱۶). رتهای گروه کنترل در طول ۲۰ دقیقه زمان تثبیت (Stabilization)، ۳۰ دقیقه ایسکمی ناحیه ای و ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن، محلول کربس معمولی دریافت داشته درحالی که گروه های چهار گانه تست از زمان شروع ایسکمی تا انتهای رپرفیوژن (جمعا" به مدت ۱۵۰ دقیقه)، برترتیب با محلول کربس حاوی غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و  $200 \mu\text{g/ml}$  تغذیه شدند. در مدت زمان انجام آزمایش، فاکتورهای همودینامیک شامل فشار افزایش یافته بطن چپ (left ventricular developed pressure; LVDP)، فاکتور نشان دهنده وضعیت عملکرد قلب (rate pressure product; RPP) و میزان جریان کرونری (coronary flow rate; CFR) نیز ثبت شدند. با اتمام رپرفیوژن، قلب های آزمایش شده با محلول ۱ درصد Evans blue رنگ آمیزی شده و متعاقب آنکوباسیون با محلول ۱ درصد تری فنیل تترازولیوم کلراید، درفرمالین ثابت گردیدند. با این رنگ آمیزی، نواحی انفارکت بصورت رنگ پریده و نواحی غیر انفارکت به رنگ قرمز آجری دیده می شوند. در نهایت حجم ناحیه در معرض خطر ایسکمی (Risk zone)، حجم ناحیه انفارکت و درصد اندازه انفارکت با روش پلانیمتری کامپیوتری اندازه گیری شد (۱۷).

### ۵-۲: آزمایش های فیتوشیمیائی

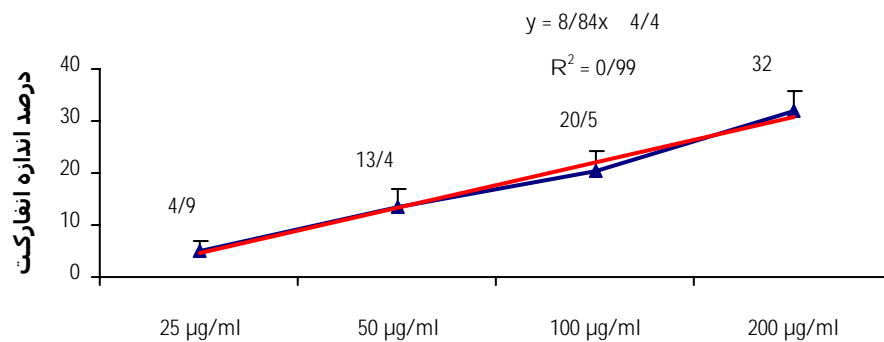
برای شناسائی و غربالگری ترکیبات مختلف موجود در عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه، از روش های استاندارد مرسوم استفاده شد (۲۰-۱۸). برای تایید نتایج غربالگری، روش کروماتوگرافی روی لایه نازک (TLC) بکار رفت (۲۱). آشکار سازی ترکیبات متعلق به گروه های مختلف

انفارکتی نیز کاهش معنی داری با غلظت  $200 \mu\text{g/ml}$  نشان نداد. برای حصول اطمینان از یکنواختی القای ایسکمی ناحیه ای، حجم Risk Zone نیز در کلیه گروههای مورد مطالعه مقایسه گردید که تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد (جدول شماره ۱).

### ج- نتایج مربوط به فاکتورهای همودینامیک

نتایج مربوط به اثرات غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه *C. dactylon* بر روی فاکتورهای همودینامیک قلب ایزوله رت در زمان ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن به ترتیب در جداول شماره ۲ و ۳ خلاصه شده اند. در طی ایسکمی، پرفیوژن غلظت های  $50 \mu\text{g/ml}$  و  $25 \mu\text{g/ml}$  از عصاره موجب افزایش معنی دار LVDP در

قلب ایزوله گروه های تست در مقایسه با کنترل گردید ( $p < 0.05$ ) در حالی که غلظت های بالاتر فاقد اثر معنی دار بر روی این فاکتور بودند. بطور مشابهی، RPP نیز افزایش آماری معنی داری با همان غلظت ها نشان داد. هیچیک از غلظت های بکار رفته از عصاره تاثیر محسوسی بر روی CFR در زمان ایسکمی نداشت. همانگونه که در جدول شماره ۳ مشاهده می شود در زمان رپرفیوژن نیز تنها غلظتهای  $50 \mu\text{g/ml}$  و  $25 \mu\text{g/ml}$  از عصاره موجب افزایش LVDP گردیدند. در مقایسه با سایر غلظت ها، غلظتهای  $50 \mu\text{g/ml}$  و  $25 \mu\text{g/ml}$  همچنین موجب حفظ و بهبود RPP نیز شدند. در زمان رپرفیوژن بویژه در ۳۰ دقیقه اول آن کلیه غلظت های بکار رفته از عصاره کاهش معنی داری بر روی CFR برجای گذاشتند (جدول شماره ۳).



شکل ۱. رابطه خطی معکوس بین درصد کاهش اندازه انفارکت با غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و  $200 \mu\text{g/ml}$  از عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه *C. dactylon* در قلب ایزوله رت های گروه های تست. داده ها بصورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده اند. (تعداد رت در هر گروه: ۶ سر).

جدول ۱. اثرات عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه *C. dactylon* بر روی حجم ناحیه در معرض خطر (Risk zone volume)، حجم ناحیه انفارکتی (Infarcted volume) و اندازه انفارکت در قلب ایزوله رت متعاقب ۳۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن.

گروه	تعداد رت	حجم ناحیه در معرض خطر ( $\text{mm}^3$ )	حجم ناحیه انفارکتی ( $\text{mm}^3$ )	درصد اندازه انفارکت
کنترل	۸	$368 \pm 69$	$121 \pm 19$	$34/3 \pm 2/3$
<i>C. dactylon</i> (۲۵ $\mu\text{g/ml}$ )	۶	$355 \pm 44$	$21 \pm 9^{***}$	$4/9 \pm 2/2^{***}$
<i>C. dactylon</i> (۵۰ $\mu\text{g/ml}$ )	۶	$362 \pm 97$	$34 \pm 13^{***}$	$13/4 \pm 3/4^{***}$
<i>C. dactylon</i> (۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$ )	۶	$337 \pm 40$	$67 \pm 9^*$	$20/5 \pm 3/6^{**}$
<i>C. dactylon</i> (۲۰۰ $\mu\text{g/ml}$ )	۶	$431 \pm 59$	$136 \pm 18$	$32 \pm 3/7$

داده ها بصورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  بیان شده اند. \*\*\* معادل  $p < 0.001$ ، \*\* معادل  $p < 0.01$  و \* معادل  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل.

جدول ۲. اثرات عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه *C. dactylon* بر روی فاکتورهای همودینامیک در طی ۳۰ دقیقه ایسکمی.

گروه	پارامتر	ایسکمی (دقیقه)		
		۳۰	۱۵	۵
کنترل	LVDP	۳۹±۵	۴۶±۶	۴۷±۶
	RPP	۸۱۵۴±۱۶۸۴	۶۵۸۸±۱۶۳۸	۷۶۱۴±۱۵۳۴
	CFR	۵/۵±۰/۸	۶/۱±۱/۱	۶/۱±۱
<i>C. dactylon</i> (۲۵μg/ml)	LVDP	۵۹±۷*	۶۳±۱۰*	۸۰±۱۱**
	RPP	۱۲۵۱۲±۱۳۴۰*	۱۲۹۵۸±۳۱۰۲**	۱۵۱۰۰±۳۹۶**
	CFR	۴±۰/۸	۴/۷±۱	۴/۹±۰/۳
<i>C. dactylon</i> (۵۰μg/ml)	LVDP	۵۸±۷*	۶۱±۷*	۷۸±۸**
	RPP	۱۲۸۹۲±۱۸۶۵*	۱۲۰۵۰±۲۶۸۰**	۱۴۵۱۷±۲۲۷**
	CFR	۳/۸±۰/۶	۴/۸±۰/۹	۴/۴±۰/۳
<i>C. dactylon</i> (۱۰۰μg/ml)	LVDP	۵۴±۴	۴۶±۶	۴۶±۶
	RPP	۷۱۵۰±۹۱۵	۷۲۹۲±۱۶۱۹	۷۹۲۵±۱۴۸۳
	CFR	۴/۵±۰/۵	۴/۳±۰/۸	۴/۸±۰/۴
<i>C. dactylon</i> (۲۰۰μg/ml)	LVDP	۴۲±۶	۴۲±۵	۳۵±۵
	RPP	۵۸۰۲±۱۰۱۳	۶۱۶۸±۹۸۸	۶۰۶۵±۱۲۹۴
	CFR	۳/۳±۰/۹	۳/۹±۱/۲	۴/۷±۱

داده ها بصورت Mean±SEM بیان شده اند. \*\* معادل  $p < 0.01$  و \* معادل  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل. تعداد رت در هر گروه: ۶ الی ۸ سر. LVDP; left ventricular developed pressure (mmHg), RPP; rate pressure product (mmHg.beats.min-1), CFR; coronary flow rate (ml/min).

جدول ۳. اثرات عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه *C. dactylon* بر روی فاکتورهای همودینامیک در طی ۱۲۰ دقیقه رپرفیوژن.

گروه	پارامتر	رپرفیوژن (دقیقه)						
		۱۲۰	۹۰	۶۰	۴۵	۳۰	۱۵	۵
کنترل	LVDP	۵۹±۱۱	۶۳±۱۳	۶۷±۱۰	۷۰±۱۲	۸۱±۱۵	۷۱±۱۲	۸۷±۱۱
	RPP	۱۳۱۹۷±۲۷۳۲	۱۴۶۲۸±۳۰۲۲	۱۵۶۰۰±۳۱۱۲	۱۷۴۴۵±۴۱۳۲	۱۹۹۶۳±۵۰۵۷	۱۸۵۱۳±۳۷۶۴	۲۲۰۴۵±۳۵۶۹
	CFR	۶±۰/۵	۶/۳±۰/۸	۷±۰/۹	۷/۶±۱	۸/۱±۰/۶	۸/۵±۰/۹	۸/۶±۰/۸
<i>C. dactylon</i> (۲۰۰μg/ml)	LVDP	۵۹±۱۱	۷۴±۱۴	۸۷±۱۳*	۹۸±۱۳*	۱۱۲±۱۳*	۱۲۱±۲۰*	۱۲۸±۱۹*
	RPP	۱۵۱۲۱±۲۳۸۱	۱۶۹۸۵±۳۳۱۱	۱۸۶۵۰±۳۲۰۸	۲۰۱۱۵±۱۸۵۰	۲۳۴۱۰±۲۹۸۳	۲۶۹۰۰±۳۴۲۸	۲۸۱۰۵±۱۹۱۲
	CFR	۴/۴±۰/۷	۴/۸±۰/۸	۵±۰/۹*	۵/۲±۱*	۵/۵±۰/۶*	۵/۹±۰/۸*	۶/۴±۱*
<i>C. dactylon</i> (۲۰۰μg/ml)	LVDP	۷۸±۱۳	۸۷±۱۶	۹۹±۱۵*	۱۰۷±۱۸*	۱۱۶±۱۴*	۱۱۲±۱۵*	۱۲۵±۱۳*
	RPP	۱۴۶۳۰±۱۰۲۹	۱۶۸۱۱±۲۴۳۲	۱۷۹۶۵±۳۳۱۱	۲۰۱۶۰±۱۵۳۹	۲۲۷۰۸±۲۲۲۹	۲۵۳۷۵±۲۳۰۷	۲۷۵۰۰±۱۸۳۹
	CFR	۴/۵±۰/۸	۴/۶±۱	۴/۸±۰/۸*	۵/۱±۰/۷*	۵/۳±۰/۸*	۵/۷±۰/۸*	۶±۰/۷*
<i>C. dactylon</i> (۲۰۰μg/ml)	LVDP	۶۸±۶	۷۳±۷	۸۰±۱۰	۸۸±۸	۹۹±۶	۹۹±۵	۱۰۹±۵
	RPP	۱۳۸۶۰±۳۱۳۲	۱۵۳۲۱±۲۳۵۲	۱۶۴۵۰±۲۳۴۸	۱۷۲۳۰±۳۰۱۲	۱۸۶۵۸±۲۱۶۴	۱۸۶۸۰±۱۷۲۰	۱۸۹۲۰±۲۱۴۲
	CFR	۴/۵±۰/۹	۴/۸±۰/۹	۵±۰/۶*	۵/۲±۰/۹*	۵/۵±۰/۹*	۵/۸±۰/۷*	۶/۲±۰/۹*
<i>C. dactylon</i> (۲۰۰μg/ml)	LVDP	۶۲±۱۲	۶۸±۱۱	۷۴±۱۰	۸۰±۹	۸۲±۱۳	۹۴±۱۰	۱۰۶±۵
	RPP	۹۲۳۱±۵۸۰	۹۵۶۸±۷۱۱	۱۰۴۱۰±۱۳۰۱	۱۱۲۰۱±۱۳۵۶	۱۱۱۰۲±۹۹۰	۱۲۵۰۰±۱۱۰۰	۱۴۳۷۵±۱۶۸۸
	CFR	۲/۹±۰/۹**	۳±۰/۹**	۳±۰/۸**	۳/۳±۰/۸**	۳/۲±۰/۹**	۳/۸±۰/۹**	۴/۳±۰/۸**

داده ها بصورت Mean±SEM بیان شده اند. \*\* معادل  $p < 0.01$  و \* معادل  $p < 0.05$  در مقایسه با گروه کنترل. تعداد رت در هر گروه: ۶ الی ۸ سر. LVDP; left ventricular developed pressure (mmHg), RPP; rate pressure product (mmHg.beats.min-1), CFR; coronary flow rate (ml/min).

## ۴- بحث

فوق بر علیه آسیب های ناشی از I/R و از جمله بر روی اندازه انفارکت صورت نگرفته است و این مطالعه نخستین پژوهشی است که در نوع خود بر روی اثرات تجویز عصاره هیدروالکلی ریزوم آن در شرایط I/R انجام یافته است. نتایج

هر چند که مصرف اجزای مختلف گیاه *C. dactylon* در طب سنتی مناطقی از دنیا مرسوم است (۶،۸،۱۰) اما تاکنون مطالعات ثبت شده علمی پیرامون اثرات محافظت قلبی گیاه

مطالعه حاضر بوضوح نشان می دهد که مصرف عصاره هیدروالکلی ریزوم *C. dactylon* اثرات برجسته ای در کاهش اندازه انفارکت و حجم ناحیه انفارکته قلب ایزوله رت در شرایط I/R دارد بطوریکه پرفیوژن محلول کربس محتوی غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰  $\mu\text{g/ml}$  عصاره، اندازه انفارکت را بترتیب حدود ۸۵، ۶۰ و ۴۰ درصد در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد. همان گونه که در جدول شماره ۱ نیز دیده می شود مشابه الگوی مشاهده شده در مورد اندازه انفارکت، غلظت های فوق حجم ناحیه انفارکته را نیز با تفاوت آماری قابل ملاحظه ای در هر سه گروه کم کردند. مقایسه اثرات غلظت های ۱۰۰-۲۵  $\mu\text{g/ml}$  عصاره با غلظت ۲۰۰  $\mu\text{g/ml}$  آن حاکی از کاهش معنی دار اندازه انفارکت و حجم نواحی انفارکته با غلظت های پائین تر عصاره است و این کاهش در هر دو مورد رابطه خطی معکوسی با غلظت عصاره نشان داد. پرفیوژن غلظت ۲۰۰  $\mu\text{g/ml}$  عصاره قادر به کاهش آماری معنی دار اندازه انفارکت و حجم ناحیه انفارکته نبود. این یافته احتمالا می تواند گویای این نکته باشد که در مطالعه ما، محدوده غلظتی موثر عصاره بین ۱۰۰-۲۵  $\mu\text{g/ml}$  بوده و در این محدوده اجزای موجود در عصاره توانایی بروز اثرات محافظتی خود را دارا هستند در حالی که در مقادیر بیشتر (مثلا غلظت ۲۰۰  $\mu\text{g/ml}$ ) اثرات محافظتی کاهش یافته و بتدریج اثرات سمی اجزای عصاره نمایان تر می شوند. این نتیجه، با یافته های قبلی ما که در طی آن اینفوژن غلظت های ۴۰۰-۳۰۰  $\mu\text{g/ml}$  از عصاره با افزایش شدید در قدرت انقباضی قلب ایزوله همراه بوده و منجر به خستگی سریع و مرگ آن می شد نیز مطابقت دارد (۱۴). همچنین نتایج مربوط به اثرات غلظت های مختلف بر روی فاکتورهای همودینامیک قلب ایزوله نشانگر آن است که غلظت های پائین بویژه ۵۰ و ۲۵  $\mu\text{g/ml}$  موجب بهبود معنی دار LVDP و RPP (به عنوان یک شاخص مهم عملکرد قلب) در زمان I/R شده و از طرفی غلظت های بالاتر کاهش بیشتری در CFR بوجود می آورند. مشابه نتایج اندازه انفارکت، در محدوده غلظت های مورد مطالعه، میزان بهبود فاکتورهای همودینامیک قلب با غلظت عصاره از یک ارتباط معکوس حکایت دارد بطوری که با کاهش غلظت عصاره بکار رفته LVDP و RPP نیز بهبود بیشتری نشان دادند. نتایج مطالعات فیتوشیمیایی عصاره نیز حاکی از حضور ترکیبات مهمی مانند فلاونوئیدها، استرول ها و ساپونین های استروئیدی است. حضور ترکیبات فلاونوئیدی و استرول ها در عصاره هیدروالکلی گیاه قبلا نیز گزارش گردیده است (۲۳، ۲۴). Guo و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که برخی از ساپونین های موجود در گیاهان موجب

بهبود عملکرد قلب رت ها در مراحل اولیه انفارکتوس میوکارد می شوند (۲۵). وجود استرول ها و ساپونین های استروئیدی در این عصاره می تواند نقش مشابهی در بهبود عملکرد انقباضی قلب و فاکتورهای همودینامیک آن داشته باشد.

از آنجائی که تاکنون مطالعات مشخص و ثبت شده ای پیرامون اثرات محافظت قلبی *C. dactylon* در شرایط I/R صورت نگرفته، لذا در زمینه مکانیسم اثرات محافظتی آن نیز اطلاعات چندانی در دسترس نیست ولی با ملاحظه یافته های قبلی ما و همچنین با توجه به اثرات اینوتروپ مثبت ترکیبات با ساختار شیمیایی ساپونینی و گلیکوزیدی، به نظر می رسد که عصاره در محدوده غلظت های مورد استفاده در این مطالعه، با بهبود قدرت انقباضی قلب از یکطرف و حفظ عملکردهای همودینامیک آن از طرف دیگر می تواند در کاهش آسیب ناشی از پدیده I/R از جمله کاهش اندازه انفارکت موثر باشد. به علت اثر آنتی اکسیدانی پائین و بدون تفاوت آماری عصاره در مقایسه با شاهد (کرسستین)، احتمالا" اعمال محافظتی آن را نمی توان به اثرات مستقیم آنتی اکسیدانی نیز مرتبط دانست (نتایج آزمایش آنتی اکسیدانی به علت فقدان تفاوت معنی دار آورده نشدند). علاوه بر موارد فوق، ممکن است این اثرات محافظتی به مجموعه ای از مکانیسم های ناشناخته نیز مرتبط باشد.

## ۵- نتیجه گیری

برای اولین بار، یافته های حاصل از این مطالعه نشان داد که مصرف عصاره هیدروالکلی ریزوم *C. dactylon* اثرات محافظتی برجسته ای بر علیه آسیب های ناشی از I/R داشته و انفارکت سائز قلبی و حجم نواحی انفارکته قلب ایزوله رت را بطور محسوسی کاهش میدهد. همچنین عصاره بویژه با غلظت های ۵۰ و ۲۵  $\mu\text{g/ml}$  با بهبود فاکتورهای همودینامیک قلب مانند LVDP و RPP موجب حفظ عملکرد قلب در زمان I/R نیز می گردد. احتمالا" فلاونوئیدهای گلیکوزیدی و ساپونین های استروئیدی موجود در عصاره با بهبود عملکرد همودینامیک و قدرت انقباضی قلب در ایجاد اثرات محافظت قلبی فوق دخیل می باشند. انجام آزمایشات تکمیلی می تواند به شناسائی هرچه بهتر اثرات و مکانیسم های دخیل کمک نماید.

## ۶- تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز در تأمین هزینه های مالی اجرای این پژوهش سپاسگزاری می نماید.

## References:

1. Bethel C.M., Sciara E.B., Estill J.C., Bowers J.E., Hanna W., Paterson A.H. A framework linkage map of bermudagrass (*Cynodon dactylon* X *transvaalensis*) based on single-dose restriction fragments, *Theoretical Applied genetics*, 2006, 112: 727-737.
2. Auddy B., Ferreira M., Blasina F. Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases, *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, 84: 131-138.
3. Zargari A., Medicinal plants. Tehran University press, Tehran, 2003, 747-748.
4. Uncini Manganelli R.E., Tomei P.E. Ethnopharmacobotanical studies of the Tuscan Archipelago, *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, 65: 181-202.
5. Yesilada E., Sezik E., Honda G., Takaishi Y., Takeda Y., Tanaka T. Traditional medicine in Turkey IX: Folk medicine in north-west Anatolia, *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, 64: 195-210.
6. Miraldi E., Ferri S., Mostaghimi V. Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran), *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, 75: 77-87.
7. Agharkar S. P. Medicinal plant of BomBay prisedency, Scientific publication, Jodhpur, India, 2000, 80-87.
8. Biswas T.K., Mukherjee B. Plant medicines of Indian origin for wound healing activity, *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 2003, 2: 25-39.
9. Leporatti M.L., Corradi L. Ethnopharmacobotanical remarks on the Province of Chieti town (Abruzzo, Central Italy), *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, 74: 17-40.
10. Shinwari M.I., Khan M.A. Folk use of medicinal herbs of Margalla Hills National Park, Islamabad, *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 69: 45-56.
11. Lans C.A. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2006, 2: 45-56.
12. Katewa S.S., Guria B.D., Jain A. Ethnomedicinal and obnoxious grasses of Rajasthan, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, 76: 293-297.
13. Singh S.K., Kesari A.N., Gupta R.K., Jaiswal D., Watal G. Assessment of antidiabetic Potential of *Cynodon dactylon* extract in streptozotocin diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 114: 174-179.
14. Kharazmkia A., Effects of total extracts of *Cynodon Dactylon* on isolated rat heart, Pharm D thesis, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Science Tabriz, Iran, 2005.
15. Hausenloy J.D., Maddock L.H., Baxter F.G., Yellon M.D. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning, *Cardiovascular Research*, 2002, 55: 534-543.
16. Gross J.G., Auchampach A.H. Reperfusion injury: Does it exist? *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2007, 42: 12-18.
17. Zacharowski K, Blackburn B, Thiemermann C. Ranolazine, a partial fatty acid oxidation inhibitor, reduces myocardial infarct size and cardiac troponin T release in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 2001, 418: 105-110.
18. Mojab F., Kamalinejad M., Ghaderi N., Vahidipour H.R. Phytochemical Screening of Some Species of Iranian Plants, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2003, 2: 77-82.
19. Harborne J. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*, 3<sup>rd</sup> ed. Chapman & Hall, London, 1998.
20. Nazemiyeh H. Study of the Polyphenoles of *Crataegus meyeri* A. pojark, *C. atrosanguinea* A.Pojark. and *C. curvisepala* Lindman, The PhD Thesis, 1998.
21. Wagner H., Bladt S. *Plant drug analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*, 2<sup>nd</sup> ed., Springer-Verlag, Berlin, 1996.
22. Stahl E. *Thin Layer Chromatography*, Springer-Verlag, Berlin, 1969.
23. Aishah H.S., Amri A.M.M., Ramlan M.F., Mamat A.S. Organic materials and nitrogen-potassium ratios for Bermuds tifdwarf (*Cynodon dactylon*), *Acta Horticulture*, 1997, 450: 505-510.
24. Patil M.B., Jalalpure S.S., Prakash N.S., Kokate C.K. Antiulcer properties of alcoholic extract of *Cynodon dactylon* in rats, *Acta Horticulture*, 2005, 680: 115-118.
25. Guo Y., Shi D.Z., Yin H.J., Chen K.J. Effects of Tribuli saponins on ventricular remodeling after myocardial infarction in hyperlipidemic rats, *American Journal of Chinese Medicine*, 2007, 35: 309-316.