

## بررسی برهم کنش عصاره‌های کرفس معمولی (*Apium graveolens L.*) و کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima Mozaff.*) بر نمک کلسیم اگزالات با هدف درمان سنگ کلیه

حسین مستعان‌زاده<sup>۱\*</sup>، ابراهیم هنرمند<sup>۲</sup>، صدیقه رئیس میرزایی<sup>۳</sup>، علیرضا مرادزاده<sup>۳</sup> و مطهر حسین‌زاده<sup>۴</sup>

\*۱- نویسنده مسئول، استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، ایران، پست الکترونیک: h.mostaan@qom.ac.ir

۲- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی تجزیه، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، ایران

۴- دانشجوی کارشناسی شیمی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۶

تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۷

### چکیده

سنگ‌های ادراری یک بیماری شایع دستگاه ادراری است که بسیاری از افراد جامعه به آن مبتلا می‌شوند. اگرچه در سال‌های اخیر داروهای گیاهی و شیمیایی بسیاری به‌منظور پیشگیری و درمان سنگ‌های کلیوی عرضه شده است، ولی تاکنون درمان دارویی مؤثر و بی‌خطر که با روش‌های غیرتهاجمی منجر به درمان کامل و یا پیشگیری از تشکیل سنگ شود بوجود نیامده است. امروزه به‌دلیل عوارض جانبی و آثار زیان‌بخش داروهای شیمیایی، استفاده از فرآورده‌های گیاهی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. هدف از انجام این تحقیق، تعیین اثرگذاری عصاره آبی برگ‌های کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima Mozaff.*) و کرفس معمولی (*Apium graveolens L.*) و همچنین آب ساقه کرفس معمولی بر تشکیل و یا انحلال کلسیم اگزالات می‌باشد. به‌منظور مطالعه میزان انحلال و رسوب‌گذاری نمک کلسیم اگزالات روش‌های تجزیه‌ای الکتروشیمیایی و کلاسیک مورد استفاده قرار گرفت. بررسی داده‌های بدست‌آمده از آزمایش‌های تیتراسیون کمپلکس‌سنجی و هدایت‌سنجی نشان داد که این عصاره‌ها علاوه بر تأثیر بر انحلال سنگ کلسیم اگزالات، به میزان قابل توجهی از تشکیل این نوع سنگ نیز ممانعت بعمل می‌آورند ( $P < 0.05$ ). نتایج حاصل از مطالعات انجام شده در این پژوهش نشان می‌دهد که عصاره‌های آبی برگ‌های کرفس کوهی و معمولی و همچنین آب ساقه کرفس معمولی می‌توانند گزینه مناسبی برای پیشگیری از تشکیل سنگ در افراد مستعد و همچنین درمان مبتلایان به سنگ کلیه باشند.

واژه‌های کلیدی: کلسیم اگزالات، کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima Mozaff.*)، کرفس معمولی (*Apium graveolens L.*)، سنگ کلیه، تیتراسیون کمپلکس‌سنجی، هدایت‌سنجی.

### مقدمه

Mozaff. و معمولی با نام علمی *Apium graveolens L.*

است. کرفس کوهی یا کرفس معطر با نام محلی کلوس به‌عنوان گونه‌ای از خانواده چتریان و تا حدودی از نظر ریخت ظاهری شبیه گونه معمولی کرفس، یکی از گیاهان دارویی با ارزشی است که در برخی نواحی از جمله ارتفاعات زاگرس مرکزی یافت می‌شود. کرفس کوهی در

در حال حاضر استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌های مختلف به‌صورت علمی و سنتی روند رو به رشدی داشته است. در میان انواع گیاهان دارویی و معطر، کرفس از خانواده چتریان و جزو سبزیجات خوراکی و دارای دو نوع کوهی با نام علمی *Kelussia odoratissima*

مانند استفاده از داروهای شیمیایی و یا اعمال جراحی استفاده می‌کنند. با وجود همه پیشرفت‌هایی که در علم پزشکی در این زمینه انجام شده اما شاهد ابتلاء دوباره حدود ۵۰٪ این بیماران به سنگ کلیه پس از درمان با روش‌های فوق هستیم. این موضوع به همراه اثرهای زیان‌بخش استفاده از داروهای شیمیایی و یا عوارض مربوط به اعمال جراحی موجب توجه بیش از پیش پژوهشگران در جهت مطالعه و بکارگیری داروهای طبیعی و گیاهی شده است (Khan; Menon & Resnick, 2007; Grases et al., 2009; & Thamilselvan, 2000). در پژوهش‌های مختلف اخیر، اثرهای برخی گیاهان دارویی مانند زرشک، سیاه‌دانه، سرو کوهی و بن سرخ به صورت‌های بالینی یا آزمایشگاهی بر سنگ کلیه مورد بررسی قرار گرفته است (Das et al., 2004; Barzgarnejad et al., 2008; Khajavirad et al., 2009; Vahdani et al., 2012). جستجو در مقالات منتشر شده معتبر پژوهشی نشان می‌دهد که تاکنون تحقیق آزمایشگاهی با استفاده از روش‌های علم شیمی در زمینه تأثیر عصاره کرفس بر سنگ کلیه انجام نشده است. از این رو هدف از انجام این مطالعه بررسی آزمایشگاهی برهم‌کنش آب کرفس معمولی، عصاره آبی برگ کرفس معمولی و عصاره آبی برگ کرفس کوهی بر نمک کلسیم اگزالات با استفاده از روش‌های تیتراسیون تشکیل کمپلکس و هدایت‌سنجی می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

در این کار پژوهشی ابتدا مقادیر معینی از ساقه کرفس معمولی را از گیاه تازه جدا کرده و با آب دوبار تقطیر شستشو دادیم. پس از خارج شدن کامل آب شستشو به کمک دستگاه آبمیوه‌گیری، آب این گیاه را تهیه کرده با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف نموده و محلول زیر صافی را جهت انجام آزمایش‌های مربوطه در مکانی با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم. در کار جداگانه‌ای مقداری برگ کرفس کوهی و همچنین برگ کرفس معمولی را از

منابع گذشته با نام علمی *Amircabiria odoratissima* Mozaffarian نیز نامگذاری شده است (Mozaffarian, 2007; Shahrani et al., 2009). همه بخش‌های گیاه بسیار معطر هستند و ریشه این گیاه در شربت پنج ریشه همراه با مارچوبه، کوله‌خاس، رازیانه و جعفری برای درمان آلومینوری‌های مزمن و دفع سنگ کلیه مصرف می‌شود و مدر است (Lauert, 1981; Chiej, 1984; Zargari, 1997). وجود فلاونویدهایی از قبیل روتین، آپی‌ژنین و لوتئولین، فلاونول، کافئیک اسید و انواع اسانس‌های فرار سرشار از فتالیدها در گیاه کرفس به اثبات رسیده است. مهمترین ترکیب‌های موجود در اسانس گیاه، بوتیلیدن دی‌هیدروفتالید و نیز بوتیلیدن فتالید است. این فتالیدها حدود ۷۰٪ اسانس گیاه را تشکیل می‌دهند (Wu et al., 2012). همچنین طبق مطالعات انجام شده، اثرهای پیشگیری از سرطان و محافظت از کبد به فلاونوئید، ترکیب‌های فتالیدی، اسیدهای چرب و مواد فنولی نسبت داده شده است (Lee et al., 2007; Li et al., 2013).

از دیدگاه طب سنتی در کل کرفس گیاهی گرم و خشک می‌باشد. این گیاه در درمان انسداد ادراری مؤثر بوده و سنگ‌شکن بسیار مناسبی به حساب می‌آید؛ البته برای افراد مبتلا به بیماری صرع مصرف آن توصیه نمی‌گردد. سنگ کلیه یکی از بیماری‌هایی است که حدود ۱۰٪ مردم در طول حیات خود ممکن است به آن مبتلا شوند و شیوع این بیماری در مردان بیشتر از زنان می‌باشد. سنگ‌های کلیوی انواع مختلفی دارند و از جمله آنها می‌توان به سنگ‌های کلسیم اگزالات، کلسیم فسفات، اوریک اسید، منیزیم آمونیوم فسفات (استروویت) و سیستینی اشاره کرد. البته انواع دیگر غیر رایج سنگ‌های کلیوی مانند زانتین (xanthine)، دی‌هیدروکسی آدنین (dihydroxy adenine)، سیلیکات (silicate) و ماتریکس (matrix) نیز گزارش شده است (Prasobh & Kalpana et al., 2012; Revikumar, 2012; Chitra et al., 2012; Moron, 2014; al., 2013). امروزه پزشکان برای درمان بیماران مبتلا به سنگ کلیه از روش‌های درمانی مختلفی

مشخصی کلسیم اگزالات جامد مخلوط شد. در آزمایش دیگری ۵ میلی‌لیتر عصاره آبی برگ کرفس معمولی با ۲۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر و ۰/۰۱ گرم کلسیم اگزالات جامد مخلوط گردید. هر سه مخلوط به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق بهم زده شد و از صافی شیشه‌ای عبور داده شد. در ادامه به هر یک از محلول‌های زیر صافی مقدار ۲/۰ میلی‌لیتر بافر آمونیاکی اضافه شده و در حضور شناساگر اریوکروم بلک تی با EDTA ۰/۰۱ مولار تیترا شدند. حجم‌های نقاط پایانی این تیتراسیون‌ها با حجم‌های مصرفی EDTA در تیتراسیون محلول‌های شاهد (محلول اشباع کلسیم اگزالات در آب) و محلول‌های عصاره فاقد کلسیم اگزالات مقایسه گردید.

#### تیتراسیون هدایت‌سنجی

با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج مدل ۴۵۱۰ ساخت شرکت JENWEY کشور انگلستان ابتدا به‌طور جداگانه ۳۰ میلی‌لیتر محلول کلسیم کلرید ۰/۰۵ مولار حاوی آب کرفس معمولی و همچنین عصاره آبی کرفس کوهی و عصاره آبی کرفس معمولی تهیه و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق بهم زده و توسط صافی شیشه‌ای فیلتر گردید. در ادامه، تیتراسیون هدایت‌سنجی محلول‌های زیر صافی و همچنین شاهد (محلول ۰/۰۵ مولار کلسیم کلرید در آب) با سدیم اگزالات ۰/۰۵ مولار انجام شد.

#### نتایج

تغییر رنگ محلول‌ها از بنفش و قرمز به ترتیب به آبی و سبز در تیتراسیون‌های کمپلکس‌سنجی محلول‌های شاهد و حاوی عصاره آبی کرفس کوهی و معمولی در نقاط هم‌ارزی نشان‌گر پایان تیتراسیون‌ها بود. جدول ۱ مقادیر مربوط به حجم مصرفی نقاط پایانی تیتراسیون محلول‌ها با EDTA را نشان می‌دهد.

گیاه تازه جدا کرده و با آب دوبار تقطیر شستشو داده و در دمای آزمایشگاه و به دور از نور آفتاب به مدت ۴ روز خشک نمودیم، سپس مقدار ۴ گرم از هر یک را توزین نموده و با ۷۵ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد مخلوط کرده و به مدت ۱۲۰ دقیقه بر روی بخار آب جوش قرار دادیم. مخلوط‌های حاصل را با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف نموده و محلول زیر صافی را به کمک آب دوبار تقطیر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رساندیم. در پایان عصاره‌های آبی حاصل را برای انجام آزمایش‌های مربوطه در مکانی با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم.

مواد بکار رفته در انجام تیتراسیون‌ها شامل سدیم اگزالات، کلسیم کلرید دو آبه، آمونیاک، هیدروکلریک اسید، نمک دی‌سدیک اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA)، کلسیم اگزالات و اریوکروم بلک تی همگی از شرکت مرک آلمان و آب دوبار تقطیر تهیه شده از آزمایشگاه الکتروشیمی دانشگاه قم می‌باشند. محلول‌های آبی مورد نیاز و غلظت‌های مربوطه عبارت از سدیم اگزالات ۰/۰۵ مولار، EDTA ۰/۰۱ مولار و کلسیم اگزالات اشباع بودند. در ضمن محلول بافر آمونیاکی با pH=۱۰/۰ از اضافه کردن هیدروکلریک اسید به محلول آمونیاک و تنظیم با دستگاه pH سنج تهیه گردید. ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول استاندارد کلسیم کلرید ۰/۰۵ مولار از حل کردن مقدار ۰/۵۶ گرم کلسیم کلرید در آب دوبار تقطیر تهیه شد.

#### تیتراسیون کمپلکس‌سنجی

ابتدا یک میلی‌لیتر آب کرفس معمولی با ۲۴ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر و ۰/۰۱ گرم پودر نمک کلسیم اگزالات مخلوط گردید. در کار دیگر ۵ میلی‌لیتر عصاره آبی کرفس کوهی با ۲۵ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر و مقدار

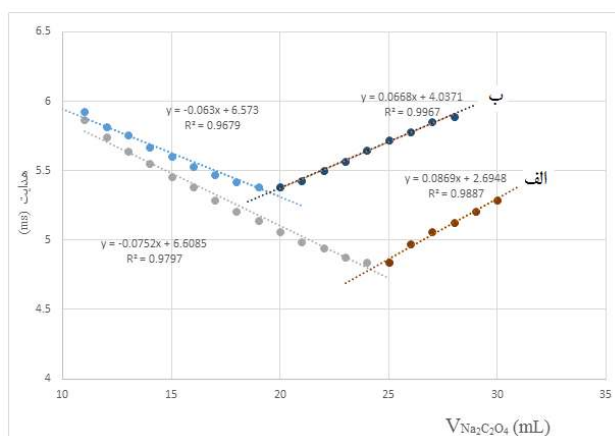
جدول ۱- حجم مصرفی نقاط پایانی (هم‌ارزی) حاصل از تیتراسیون محلول‌ها با EDTA

مجموع شاهد و عصاره	تیترا شونده	حجم مصرفی تیترا کننده ± انحراف معیار (mL)	مجموع شاهد و عصاره ± انحراف معیار (mL)	نمونه
	شاهد	۰/۳۰ ± ۰/۰۲		
۳/۸۰ ± ۰/۱۴	عصاره آبی فاقد کلسیم اگزالات	۳/۵۰ ± ۰/۱۲		برگ کرفس کوهی
-	عصاره آبی حاوی کلسیم اگزالات	۴/۲۰ ± ۰/۱۵		
	شاهد	۰/۳۰ ± ۰/۰۲		
۸/۸۰ ± ۰/۲۵	عصاره آبی فاقد کلسیم اگزالات	۸/۵۰ ± ۰/۲۳		برگ کرفس معمولی
-	عصاره آبی حاوی کلسیم اگزالات	۹/۲۰ ± ۰/۲۵		
	شاهد	۰/۳۰ ± ۰/۰۲		
۱/۴۰ ± ۰/۰۷	عصاره آبی فاقد کلسیم اگزالات	۱/۱۰ ± ۰/۰۵		ساقه کرفس معمولی
-	عصاره آبی حاوی کلسیم اگزالات	۱/۹۰ ± ۰/۰۷		

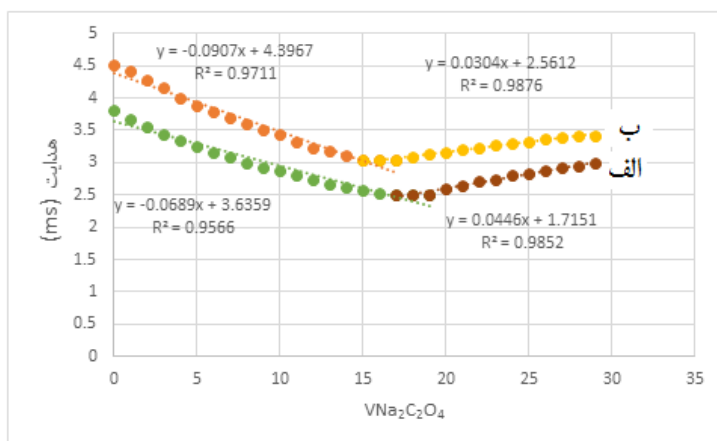
محلول‌های شاهد و محلول کلسیم کلرید ۰/۰۵ مولار حاوی عصاره آبی برگ‌های کرفس کوهی و معمولی و همچنین آب ساقه کرفس معمولی به ترتیب در شکل‌های ۱-۳ نمایش داده شده است. مقایسه مقادیر حجم مصرفی محلول سدیم اگزالات مربوط به نقاط هم‌ارزی نشانگر تفاوت معنی‌داری میان محلول شاهد و محلول‌های حاوی عصاره می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

حجم مصرفی EDTA برای محلول عصاره آبی برگ‌های کرفس کوهی و معمولی و همچنین آب ساقه کرفس معمولی اشباع شده با کلسیم اگزالات نسبت به مجموع حجم مصرفی آنها در تیتراسیون دو محلول شاهد و عصاره یا آب کرفس فاقد کلسیم اگزالات، افزایش معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.05$ ).

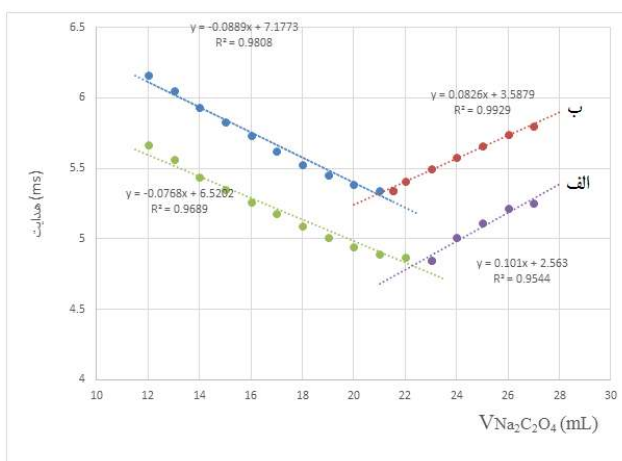
نتایج هدایت الکتریکی بر حسب حجم مصرفی محلول سدیم اگزالات حاصل از تیتراسیون هدایت‌سنجی



شکل ۱- منحنی‌های هدایت‌سنجی (الف) شاهد و (ب) عصاره کرفس کوهی حاوی کلسیم کلرید



شکل ۲- منحنی‌های هدایت‌سنجی (الف) شاهد و (ب) عصاره برگ کرفس معمولی حاوی کلسیم کلرید

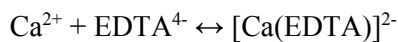


شکل ۳- منحنی‌های هدایت‌سنجی شاهد و آب کرفس معمولی حاوی کلسیم کلرید

## بحث

در این راستا از دو روش تیتراسیون کمپلکس‌سنجی و تیتراسیون هدایت‌سنجی استفاده گردید.

در روش کمپلکس‌سنجی، غلظت  $Ca^{2+}$  موجود در محلول در حضور شناساگر اربوکروم بلکتی با افزایش تدریجی لیگاند EDTA در محیط بافر آمونیاکی با  $pH=10$  بر پایه واکنش زیر تعیین شد.



در آزمایش مربوط به برگ‌های کرفس کوهی و معمولی در حضور عصاره، تغییر رنگ از قهوه‌ای روشن به سبز لجنی می‌باشد. در آزمایش مربوط به کرفس معمولی نقطه پایانی تیتراسیون در حضور آب ساقه کرفس با تغییر رنگ از بنفش کم‌رنگ به یاسی مشخص می‌شود. نقطه پایانی تیتراسیون برای محلول‌های شاهد که فاقد عصاره یا آب کرفس هستند با تغییر رنگ محلول‌ها از بنفش به آبی بدست می‌آیند، این تغییر رنگ‌ها در شکل ۱ نمایش داده شده است.

نتایج تیتراسیون کمپلکس‌سنجی نشان می‌دهد که حجم مصرفی EDTA در تیتراسیون عصاره آبی برگ‌های کرفس کوهی و معمولی و آب ساقه کرفس معمولی حاوی کلسیم اگزالات به ترتیب ۴/۲، ۹/۲ و ۱/۹ میلی‌لیتر است که این مقادیر برای هر سه عصاره بیشتر از مجموع حجم مصرفی EDTA برای شاهد (۰/۳ میلی‌لیتر) و عصاره‌های فاقد نمک کلسیم اگزالات (به ترتیب ۳/۵، ۸/۵ و ۱/۱ میلی‌لیتر) می‌باشد، بنابراین برای میزان غلظت کلسیم در محلول‌ها رابطه زیر صادق می‌باشد.

$$[\mu mol_{Ca^{2+}}(\text{عصاره فاقد نمک}) + \mu mol_{Ca^{2+}}(\text{شاهد})] > [\mu mol_{Ca^{2+}}(\text{عصاره برگ کرفس کوهی حاوی نمک})]$$

$$[3/0 + 35/0] > 42/0$$

$$[\mu mol_{Ca^{2+}}(\text{عصاره فاقد نمک}) + \mu mol_{Ca^{2+}}(\text{شاهد})] > [\mu mol_{Ca^{2+}}(\text{عصاره برگ کرفس معمولی حاوی نمک})]$$

$$[3/0 + 85/0] > 92/0$$

$$[\mu mol_{Ca^{2+}}(\text{آب کرفس فاقد نمک}) + \mu mol_{Ca^{2+}}(\text{شاهد})] > [\mu mol_{Ca^{2+}}(\text{آب ساقه کرفس معمولی حاوی نمک})]$$

$$[3/0 + 11/0] > 19/0$$

در این کار تحقیقاتی با هدف نیل به دارویی گیاهی با کمترین عوارض جانبی به مطالعه تأثیر عصاره آبی برگ‌های کرفس کوهی و معمولی و همچنین آب ساقه کرفس معمولی بر تشکیل و انحلال سنگ‌های کلیوی کلسیم اگزالاتی پرداختیم. این موضوع از آن جهت حائز اهمیت است که در علم داروسازی، داروی شیمیایی جامع و مناسب که بتواند با کمترین عوارض باعث پیشگیری از تشکیل سنگ کلیه و همچنین درمان آن گردد موجود نمی‌باشد (Selvam *et al.*, 2001). با توجه به اینکه جنس اغلب سنگ‌های کلیوی از کلسیم اگزالات است، این ترکیب دارای حلالیت کمی ( $K_{sp}=1.7 \times 10^{-9}$ ) در آب می‌باشد؛ بنابراین وجود یون‌های کلسیم ( $Ca^{2+}$ ) و اگزالات ( $C_2O_4^{2-}$ ) حتی در غلظت‌های نسبتاً پایین در محیط آبی داخل کلیه می‌تواند باعث تشکیل رسوب کلسیم اگزالات و یا به عبارتی دیگر سنگ کلیه گردد (Skoog *et al.*, 2009). حال چنانچه بتوانیم با مصرف برخی عصاره‌های گیاهی ترکیب‌هایی را وارد محیط کلیه نماییم که آن ترکیب‌ها در تأثیر متقابل با املاح کلیوی مانع از تشکیل رسوب و یا باعث انحلال آن گردند گام مؤثری در درمان و پیشگیری از بیماری سنگ کلیه برداشته‌ایم. لازم است یادآوری شود که استفاده از روش‌های شیمیایی در مطالعه تأثیر عصاره‌ها بر سنگ کلسیم اگزالات در دو دهه اخیر به صورت محدودی توسط برخی از دانشمندان بکار گرفته شده است، اما تحلیل جامعی بر روی آن نتایج صورت نگرفته است (Atmani & Khan, 2000; Das *et al.*, 2004). در این تحقیق به مطالعه تأثیر کرفس معمولی و کرفس کوهی بر تشکیل و انحلال سنگ‌های کلسیم اگزالاتی پرداخته و

تصحیح شده را اندازه‌گیری کنیم، هدایت الکتریکی محلول‌ها با افزایش تدریجی محلول سدیم اگزالات تا زمان کامل شدن رسوب به‌طور تدریجی و با شیب ملایمی افزایش می‌یابد. البته هدایت خوانده شده توسط دستگاه از ابتدای تیتراسیون تا نقطه هم‌ارزی و کامل شدن رسوب تدریجاً کاهش می‌یابد، زیرا غلظت محلول‌ها به‌واسطه افزایش حجم کاهش یافته است. پس از نقطه هم‌ارزی و با ادامه تیتراسیون دیگر فرایند رسوب‌گذاری کامل شده و بنابراین بدون حذف یونی از محلول تنها غلظت هر دو نوع یون‌های سدیم و اگزالات به‌نحوی افزایش می‌یابد که جبران رقیق شدن محلول به‌دلیل افزایش حجم را می‌کند، بنابراین هدایت خوانده شده توسط دستگاه و همچنین هدایت تصحیح شده با شیب تندتری افزایش می‌یابد.

مشاهدات تجربی انجام شده نشان می‌دهد که نقطه هم‌ارزی نمودار مربوط به هدایت خوانده شده و هدایت تصحیح شده بر یکدیگر منطبق می‌باشد. شکل‌های ۲-۴ روند تغییر هدایت الکتریکی خوانده شده محلول‌های (شاهد، عصاره برگ کرفس کوهی، عصاره برگ کرفس معمولی و آب ساقه کرفس معمولی) حاوی کلسیم کلرید را نسبت به حجم سدیم اگزالات تیتر شده نشان می‌دهد. بررسی این تیتراسیون‌ها نشان می‌دهد که حجم مصرفی محلول سدیم اگزالات مصرفی برای نمونه‌های حاوی هر سه عصاره کمتر از نمونه شاهد می‌باشد. در واقع می‌توان گفت هر چه مقدار کلسیم در دسترس محلول برای واکنش با یون‌های اگزالات کمتر باشد مقدار مصرفی تیترانت برای رسیدن به نقطه هم‌ارزی کمتر می‌شود و این موضوع نشان‌دهنده تشکیل احتمالی کمپلکس‌هایی میان ترکیب‌های سازنده عصاره‌ها با یون‌های کلسیم موجود در محلول‌ها می‌باشد. یون‌های اگزالات توانایی واکنش و تشکیل رسوب با یون‌های کلسیمی را که در ساختار کمپلکس‌ها شرکت کرده‌اند ندارند. لازم به یادآوری است که در تیتراسیون کمپلکس‌سنجی لیگاند EDTA به علت دارا بودن خصلت بازی بالا می‌تواند به سادگی کمپلکس‌های تشکیل شده میان کلسیم و ترکیب‌های موجود در عصاره‌ها را شکسته و به یون‌های

اگر وجود عصاره در محلول باعث افزایش حلالیت نمک کلسیم اگزالات گردد انتظار داریم غلظت یون کلسیم محاسبه شده در تیتراسیون با EDTA بیشتر از محلول شاهد باشد. احتمالاً وجود برخی برهم‌کنش‌ها میان مواد مؤثره عصاره با یون‌های اگزالات و کلسیم باعث افزایش انحلال نمک کلسیم اگزالات شده باشد. با توجه به اینکه یکی از اجزای تشکیل‌دهنده عصاره‌ها، گلیکوزیدها می‌باشد، اتصال مولکول‌های گلیکوزید با یون‌های کلسیم در محلول محتمل است (Uthar et al., 2016؛ Frackowiak et al., 2010)؛ البته این موضوع نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که عصاره آبی برگ کرفس کوهی و کرفس معمولی و همچنین آب ساقه کرفس معمولی (هر سه مورد) باعث افزایش انحلال کلسیم اگزالات در محلول شده‌اند. از این رو می‌توان در بیماران مبتلا به سنگ‌های کلیوی کلسیم اگزالاتی مصرف این عصاره‌ها را در راستای حل شدن سنگ کلیه پیشنهاد داد.

موضوع مهم دیگری که در مورد بیماری سنگ کلیه باید به آن توجه شود مسئله عود بیماری و ابتلای دوباره به سنگ کلیه در افراد بهبود یافته است. از این رو در این تحقیق بر آن شدیم تا با استفاده از روش تیتراسیون هدایت‌سنجی به مطالعه تأثیر عصاره آبی برگ کرفس کوهی، برگ کرفس معمولی و همچنین آب ساقه کرفس معمولی در فرایند جلوگیری از تشکیل رسوب کلسیم اگزالات بپردازیم. در این تیتراسیون با افزایش تدریجی تیترانت به محلول تیتران، هدایت الکتریکی توسط دستگاه هدایت‌سنج اندازه‌گیری می‌شود که این هدایت رابطه مستقیمی با غلظت و نوع یون‌های موجود در محلول دارد (Bard & Faulkner, 2001).

در این تحقیق تأثیر وجود عصاره‌ها در فرایند تشکیل رسوب کلسیم اگزالات در محلول‌های حاوی یون‌های کلسیم در تیتراسیون با محلول سدیم اگزالات مطالعه گردید. از آنجا که در اثر تیتراسیون به ازای ترسیب هر یون کلسیم  $Ca^{2+}$  دو یون سدیم  $Na^{+}$  وارد محلول می‌گردد، از این رو چنانچه موضوع رقیق شدن محلول‌ها را لحاظ کنیم و هدایت

- Boerhaavia diffusa* roots on ethylene glycol induced lithiasis in rats. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4(2): 149-153.
- Das, I., Gupta, S.K., Pandey, V.N. and Ansari, S.A., 2004. Inhibition and dissolution of calcium oxalate crystals by *Berberis vulgaris*-Q and other metabolites. Journal of Crystal Growth, 267: 654-661.
  - Frackowiak, A., Skibiński, P., Gawel, W., Zaczyńska, E., Czarny, A. and Gancarz, R., 2010. Synthesis of glycoside derivatives of hydroxyanthraquinone with ability to dissolve and inhibit formation of crystals of calcium oxalate. Potential compounds in kidney stone therapy. European Journal of Medicinal Chemistry, 45: 1001-1007.
  - Grases, F., Prieto, R.M., Gomila, I., Sanchis, P. and Costa-Bauzá, A., 2009. Phytotherapy and renal stones: the role of antioxidants. a pilot study in wistar rats. Journal of Urology and Research, 37(1): 35-40.
  - Kalpana, S., Nirmaladevi, R., Shrinidhi, T. and Karthika, P., 2013. Inhibition of calcium oxalate crystallization in vitro by extract of banana cultivar Monthan. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(4): 649-653.
  - Khajavirad, A., Hadjzadeh, M.A.R., Monavvar, N. and Ayathollahi, H., 2008. The preventive effects of ethyl acetate fractions from aqueous and ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds on calcium oxalate stones in wistar rat. Journal of Semnan University of Medical Sciences, 9(2): 123-130.
  - Khan, S.R. and Thamilselvan, S., 2000. Nephrolithiasis: a consequence of renal epithelial cell exposure to oxalate and calcium oxalate crystals. Molecular Urology, 4: 305-312.
  - Launert, E., 1981. Edible and Medicinal Plants. Hamlyn, London, 288.
  - Lee, T.F., Lin, Y.L. and Huang, Y.T., 2007. Studies on antiproliferative effects of phthalides from *Ligusticum chuanxiong* in hepatic stellate cells. Planta Medica, 73(6): 527-534.
  - Li, P., Jia, J., Zhang, D., Xie, J., Xu, X. and Wei, D., 2013. In vitro and in vivo antioxidant activities of a flavonoid isolated from celery (*Apium graveolens* L. var. *dulce*). Food and Function, 5(1): 50-56.
  - Menon, M. and Resnick, M., 2007. Urinary lithiasis: Etiology, diagnosis and medical management: 3229-3305. In: Walsh, P.C., Retik, A.B., Vaughan, E.D. and Wein, A.J., (Eds.). Campbell's Urology, Philadelphia, Saunders, 528p.
  - Moron, M.E., 2014. Epistemology and lithology. Urolithiasis, 5-15.
  - Mozaffarian, V., 2007. Umbelliferae: Flora of Iran

کلسیم کوئوردینه شود و به همین علت است که در آن تیتراسیون‌ها حجم مصرفی EDTA در محلول‌های حاوی عصاره بیشتر از مجموع شاهد و عصاره‌های تنها است (Skooq *et al.*, 2009).

نتایج حاصل از تیتراسیون‌های کمپلکس‌سنجی و هدایت‌سنجی انجام شده در این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از عصاره‌های برگ کرفس کوهی، برگ کرفس معمولی و آب ساقه کرفس معمولی، هر سه نقش بسزایی در انحلال سنگ‌های کلیوی کلسیم اگزالاتی از یک سو و همچنین در پیشگیری از تشکیل این نوع سنگ‌ها از سوی دیگر ایفاء می‌کنند. بنابراین برای تکمیل این کار تحقیقاتی انجام آزمایش‌های بالینی در این مورد پیشنهاد می‌گردد و اگر نتایج آن تحقیقات هم‌سو با این نتایج باشد می‌توان به بیماران مبتلا به این گونه سنگ‌های کلیوی برای درمان و به افراد دارای کلیه سنگ‌ساز برای پیشگیری مصرف انواع کرفس را توصیه نمود.

## سپاسگزاری

محققان این تحقیق کمال تشکر و سپاسگزاری را از مسئولان محترم دانشگاه قم بدلیل حمایت از این تحقیق دارند.

## منابع مورد استفاده

- Atmani, F. and Khan, S., 2000. Effect of an extract from *Herniaria hirsuta* on calcium oxalate crystallization in vitro. BJU International, 85: 621-625.
- Bard, A. and Faulkner, L., 2001. Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications. John Wiley & Sons, 865p.
- Barzgarnejad, A., Azadbakht, M., Emadian, O. and Fattahi, M., 2009. In vitro effect of juniper fruit extract on dissolution of urinary stones. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 20(75): 31-36.
- Chiej, R., 1984. Encyclopaedia of Medicinal Plants. MacDonald, London, 447p.
- Chitra, V., Gowri, K. and Udayasri, N., 2012. Antilithiatic activity of alcoholic extract of



- Fundamentals of Analytical Chemistry. Grupo Editorial Norma, 1072p.
- Uthar, P., Mathur, K., Goyal, M. and Yadav, S., 2016. Traditional uses, phytochemistry, pharmacological properties of plant *Alhagi maurorum* (MEDIK.): A review. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(4): 682-692.
  - Vahdani, R., Mehrabi, S., Malekzadeh, J., Jannesar, R., Sadeghi, H. and Shafaeifar, A., 2012. Effect of hydrophilic extract of *Allium jesdianum* on ethylene glycol-induced renal stone in male wistar rats. Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ), 16(6): 557-566.
  - Wu, J.C., Huang, G.R. and Cheng, J., 2012. Optimization of enzymatic hydrolysis for extraction of flavonoids from *Apium graveolens* L. Journal of Food Agriculture and Environment, 10(3): 182-185.
  - Zargari, A., 1997. Iranian Medicinal Plants (Vol. 1). Tehran University Publication, Tehran, 976p.
  - (No. 54). Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 596p.
  - Prasobh, G.R. and Revikumar, K.G., 2012. Effect of MUSA tablet on ethylene glycol-induced urolithiasis in rats. International Journal of Pharma and Biosciences, 1251-1254.
  - Selvam, R., Kalaiselvi, P., Govindaraj, A., Murugan, V.B. and Kumar, A.S., 2001. Effect of *A. lanata* leaf extract and Vediuppu chunnam on the urinary risk factors of calcium oxalate urolithiasis during experimental hyperoxaluria. Pharmacological Research, 43(1): 89-93.
  - Shahrani, M., Pilehvarian, A., Khayri, S., Asgahri, A., Farokhi, E., Parvin, N. and Rafieian, M., 2009. Effects of *Kelussia odoratissima* Mozaffarian (KOM) extract on blood lipid in Balb/c mice. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences, 8(4): 88-95.
  - Skoog, D., West, D., Crouch, S. and Holler, J., 2009.

## Investigating the interaction of *Apium graveolens* L. and *Kelussia odoratissima* Mozaff. extracts on calcium oxalate with the purpose of kidney stone treatment

H. Mostaanzadeh<sup>1\*</sup>, E. Honarmand<sup>2</sup>, S. Reis Mirzaei<sup>3</sup>, A.R. Moradzadeh<sup>3</sup> and M. Hoseinzadeh<sup>4</sup>

1\*- Corresponding author, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Qom, Qom, Iran  
E-mail: h.mostaan@qom.ac.ir

2- Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Qom, Qom, Iran

3- M.Sc. student, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Qom, Qom, Iran

4- B.Sc. student, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Qom, Qom, Iran

Received: November 2017

Revised: May 2018

Accepted: September 2018

### Abstract

Renal stones is a common disease of the urinary tract that many people suffer from it. Although there are many herbal and chemical drugs for the prevention and treatment of kidney stones in recent years, there is no effective and safe drug treatment that can lead to complete treatment and prevention of these diseases. Today, the use of herbal products is considered by researchers because of the harmful and side effects of chemical drugs. This research was carried out with the purpose of determining the herbal tea effect of leaf and stem of *Apium graveolens* L. and *Kelussia odoratissima odoratissima* Mozaff. on the formation and dissolution of calcium oxalate. In order to study the dissolution and precipitation of calcium oxalate salt, electrochemical and classic analytical methods were used. The experimental results of complexometry and conductometry techniques reveal that these herbal teas have a good effect on the dissolution and prevention of formation of calcium oxalate stone ( $P < 0.05$ ). According to the findings of this study, these herbal teas could be a good choice for treatment diseases and to prevent calcium oxalate formation in people disposed to kidney stones.

**Keywords:** Calcium oxalate, *Kelussia odoratissima* Mozaff., *Apium graveolens* L., kidney stone, complexometric titration, conductometry.