

Effect of *Angelica archangelica* root hydro-alcoholic extract on the blood cells of small laboratory mice

Modaresi M.* PhD

*Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Khorasgan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Abstract

Aims: *Angelica archangelica* is one of the medicinal herbs in traditional medicine which is effective in hematopoiesis. In the present study, the effect of interperitoneal injection of *Angelica archangelica* root's hydroalcoholic extract in different doses on the count of red and white blood cells, change in hemoglobin and hematocrit, mean globular volume, the average size of hemoglobin and the hemoglobin average weight ratio in the Balb/c mouse, were studied.

Methods: In this experimental study, 40 mature Balb/c male mice were divided into control, placebo (with saline injection) and 3 treatment groups (injected with 50, 100 and 200mg/kg doses of *Angelica archangelica* root's hydroalcoholic extract every other day for 20 days). Indices of red and white blood cells' count, hematocrit and hemoglobin mean, mean corpuscular volume, hemoglobin average volume and hemoglobin average weight ratio were measured for each group separately. The results obtained were evaluated using SPSS 11.5 software and Duncan's one-way ANOVA test.

Results: The average number of white blood cells in the first, second and third treatment groups was significantly higher than control group ($p<0.05$). The average number of white blood cells in the third group (200mg/kg) was significantly higher than the other groups ($p<0.05$). There was no significant difference between the mean of hematocrit, hemoglobin, MCV, MCH and MCHC of the groups ($p>0.05$).

Conclusion: The extract of *Angelica archangelica* is effective in hematopoiesis process with the increase in the number of red blood cells and also with the increase in the number of white blood cells in the immune system support.

Keywords: *Angelica archangelica*, Blood, Mice, Hemoglobins

*Corresponding Author: All requests Should be sent to mehrdad_modaresi@hotmail.com
Received: 23 Dec 2010 Accepted: 9 Jul 2012

تأثیر عصاره هیدرولالکلی ریشه سنبل ختایی بر سلول‌های خونی موش کوچک آزمایشگاهی

مهرداد مدرسی*

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد خوارسگان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

چکیده

اهداف: سنبل ختایی یکی از گیاهان دارویی موثر در خونسازی در طب است. از سنبل ختایی در کتب طب سنتی به "خشیشه الملائک" نیز یاد شده است. سنبل ختایی با نام علمی *Angelica archangelica* شناخته می‌شود و گیاهی دوساله با ارتفاع یک تا ۳ متر است که در خانواده جعفری یا چتریان قرار می‌گیرد. سنبل ختایی از تیر تا شهریورماه گل می‌دهد و دانه‌ها از مرداد تا مهرماه می‌رسند. گل‌های آن هرmafrodیت (دارای بخش‌های زایای نر و ماده) و خودلذاخ هستند و علاوه بر این، توسط زینبورها، مگس‌ها و سوسک‌ها گردیده افشارانی می‌شوند. ریشه‌های سنبل ختایی، طویل و دوکی‌شکل و ضخیم بوده و گاهی وزن نمونه‌های بزرگ مغذی آن به $1/36$ کیلوگرم می‌رسد که با ریشه‌های کوچک پایین‌رونده احاطه می‌شود. قسمت خارجی ریشه‌های خشک این گیاه که در تجارت مورد استفاده قرار می‌گیرند، قهقهه‌ای مایل به خاکستری و درون آن نسبتاً سفید و اسفنجی‌شکل است و نقاط صمعی درخشنایی در آن به چشم می‌خورد [۲].

ریشه سنبل ختایی آمریکایی کاملاً متضاد است و به نظر می‌رسد که در حالت تازه، خاصیت سمی دارد. زمانی که ریشه خشک شود و حالت تنیدی (سوزانندگی) خود را از دست دهد، برای مصرف خطری ندارد. سنبل ختایی در میان خانواده اومبلیفراه (Umbelliferae) منحصر به فرد است و این امر به دلیل عطر خوش فراوان آن است؛ عطر دلپذیری که کاملاً متفاوت از رازیانه، جعفری، آنسون، درخت زیره سیاه یا جعفری فرنگی است. حتی ریشه‌های این گیاه نیز خوشبو هستند. از نظر ترکیبات شیمیایی و مواد عامله، ریشه و قسمت زیرزمینی خشک سنبل ختایی در حدود 35% اسانس روغنی فرآور دارد و در میوه آن $1/3-1/2\%$ اسانس یافت می‌شود. عده ماده موجود در اسانس سنبل ختایی بتا-فلاندرن است؛ به علاوه، در اسانس ریشه سنبل ختایی که در هوا خشک شده باشد -alfa-فلاندرن، -alfa-پین، هایدروکسی-پتا- دکا- اونویکا اسید و -alfa-متیل بوتیریک اسید یافت می‌شود [۱]. در ریشه‌ها و میوه سنبل ختایی چند فوروکومارین نظیر آنزیلیسین، برگاتن، گرانتو توکسین و غیره وجود دارد و به علاوه، اومبلی پرینین و چند فنل نیز در آن تشخیص داده شده است. اسانس سنبل ختایی در $5/4$ تا $6/4$ برابر حجم خود، الكل 90 درجه حل می‌شود و غالباً نیز محلولی کدر ایجاد می‌کند. بررسی‌های شیمیایی جدیدتر نشان می‌دهد که کیفیت اسانس سنبل ختایی با شرایط اقلیمی محل رویش طبیعی آن ارتباط دارد؛ هر چقدر ارتفاع محل رویش از سطح دریا بالاتر باشد، عطر بیشتر و باکیفیت‌تری دارد. از گیاه سنبل ختایی 9 ماده کومارین، از جمله یک کومارین جدید به نام آرکی‌سین، جدا شده است [۱]. علاوه بر این، ریشه‌های سنبل ختایی حاوی ویتامین‌های

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، 40 سر موش نر بالغ نژاد c/Balb به گروه‌های کنترل، دارونما (با تزریق نرمال سالین) و سه گروه تیمار (مورد تزریق بهترتیب با دوزهای 50 ، 100 و 200 mg/kg) عصاره هیدرولالکلی ریشه سنبل ختایی به صورت یک روز در میان طی 20 روز تقسیم شدند. شاخه‌های تعداد گلوبول‌های سفید و قرمز، میانگین هماتوکریت و هموگلوبین، میانگین حجم گلوبولی، حجم متوسط هموگلوبین و درصد وزن متوسط هموگلوبین برای هر گروه به طور جداگانه اندازه‌گیری شد. نتایج به دست آمده با استفاده از نرمافزار SPSS 11.5 و آزمون واریانس یک‌طرفه دانکن مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین تعداد گلوبول‌های سفید در گروه‌های تیمار اول، تیمار دوم و تیمار سوم به میزان معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ($p<0.05$). میانگین تعداد گلوبول‌های قرمز در گروه تیمار سوم ($mg/kg200$) به میزان معنی‌داری بیشتر از گروه‌های دیگر بود ($p<0.05$). تفاوت معنی‌داری بین میانگین هماتوکریت و هموگلوبین، MCHC و MCV MCH و Gروه‌ها مشاهده نشد ($p>0.05$).

نتیجه‌گیری: عصاره سنبل ختایی با افزایش تعداد گلوبول‌های قرمز در فرآیند خونسازی و همچنین با افزایش تعداد گلوبول‌های سفید در تقویت سیستم ایمنی موثر است.

کلیدواژه‌ها: عصاره سنبل ختایی، پارامترهای خونی، موش نر کوچک آزمایشگاهی

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۴/۱۹

* نویسنده مسئول: mehrdad_modaresi@hotmail.com

مقدمه

گیاهان دارویی از دیرباز مصرف پژوهشی داشته‌اند و اثرات درمانی آنها به اثبات رسیده است. با توجه به این که امروزه داروهای گیاهی به یکی از اشکال ذم‌کرده، جوشانده، عصاره، پودر، شربت، پماد، ضماد و اسانس (غلب به صورت تقطیر با بخار آب) مصرف شده و

تاثیر عصاره هیدروالکلی ریشه سنبل ختایی بر سلول‌های خونی موش کوچک آزمایشگاهی ۱۵۱

در این مطالعه تجربی، برای تهیه عصاره هیدروالکلی، ابتدا گیاه سنبل ختایی تهیه و در هر باریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوارسگان (اصفهان) شناسایی شد. گیاه خشک شده با استفاده از دستگاه آسیاب تا حد امکان پودر شد. سپس ۲۴ گرم از پودر تهیه شده در ۲۰ سی سی اتانول با درصد خلوص ۹۶٪ حل شد. پس از گذشت یک شبانه‌روز، ترکیب به دست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد. پودر با قیمانده روی آن به کمک دستگاه آون کاملاً خشک و مقدار پودر حل شده مشخص شد. در ادامه، الکل اضافی محلول در دمای اتاق تبخیر و با استفاده از نرمال‌سالین تزریقی، عصاره در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg تهیه شد. با توجه به اینکه تحقیق مشابهی در این زمینه انجام نشده است، دوزهای مورد استفاده با استفاده از آزمایشاتی که روی سایر گیاهان دارویی انجام شده است، تعیین شدند [۱۰، ۱۱].

نمونه‌های مورد آزمایش ۴۰ سر موش کوچک آزمایشگاهی Balb/c در محدوده وزنی 30 ± 3 گرم بودند. موش‌های نر بالغ از بقیه موش‌های آزمایشگاهی پرورش داده شده در لانه حیوانات دانشگاه اصفهان (دانشکده پزشکی) جدا شده و در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. نمونه‌های مورد نظر به مدت ۲ ماه تحت مراقبت در شرایط آزمایشگاهی و رسیدن به مرحله بلوغ قرار گرفتند. طی این مدت و همچنین در طول دوره تزریق، نمونه‌ها دسترسی آزاد به غذا و آب داشته و در دمای ثابت ۲۸–۳۲ درجه سانتیگراد، از دوره شبانه‌روزی طبیعی بهره گرفتند.

یک هفتنه قبل از شروع تزریقات، ۴۰ نمونه به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل (بدون انجام تزریق در مدت زمان آزمایش نگهداری شد)، دارونما (در شرایطی مشابه با تیمارهای تجربی به جای عصاره ml/۵ نرمال‌سالین تزریق شد)، تیمار اول (ml/۵) عصاره هیدروالکلی ریشه سنبل ختایی با دوز ۵۰ mg/kg به مدت ۲۰ روز و به صورت یک روز در میان تزریق شد)، تیمار دوم (ml/۵) عصاره هیدروالکلی ریشه سنبل ختایی با دوز ۱۰۰ mg/kg به مدت ۲۰ روز و به صورت یک روز در میان تزریق شد) و تیمار سوم (ml/۵) عصاره هیدروالکلی ریشه سنبل ختایی با دوز ۲۰۰ mg/kg به مدت ۲۰ روز و به صورت یک روز در میان تزریق شد) تقسیم شده و هر گروه در قفس جداگانه قرار گرفتند.

شخص‌های خونی نظیر تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، میانگین هماتوکریت و هموگلوبین، میانگین حجم گلبولی (MCV)، حجم متوسط هموگلوبین (MCH) و درصد وزن متوسط هموگلوبین (MCHC) برای هر گروه به طور جداگانه اندازه‌گیری شد. خونگیری از تمام نمونه‌ها، در ساعت ۱۰ قبل از ظهر و به شیوه گیوتینی انجام گرفت. خون به لوله‌های هپارینه منتقل و با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک شمارش سلول‌های خونی (Erma؛ ژاپن) شمارش شد.

B12، B1 و B2، روی، شکر، پتاسیم، منیزیوم، آهن، فروکتونز، گلوکز و بسیاری از مواد معدنی دیگر، به میزان کم است [۲]. در چین، از این گیاه هزاران سال برای زنانی که از مشکلات قاعده‌گی شدید یا غیرعادی رنج می‌برند و طی دوران یائسگی، برای تخفیف علایم آزاردهنده مانند گُرگُرفتگی استفاده شده است [۲]. این گیاه دارای کاربردهای دارویی بسیاری از جمله درمان سرماخوردگی، سرفه، قلنچ، تب‌ها، آرتروز، سوء‌هضم، روماتیسم، کاهش ورم، کاهش فشارخون، ایجاد خلط، معرق، محرك قاعده‌گی، تصفیه‌کننده خون، مفرح و نیرودهنده و غیره است [۳، ۴].

اگرچه ریشه‌ها، ساقه‌ها و برگ‌ها و میوه سنبل ختایی دارای خاصیت بادشکن و مقوی معده (اشتها آور) است، این خواص در میوه‌ها قوی‌تر است. مقادیر کم آن به ترشحات گوارشی کمک می‌کند و جویدن ساقه‌ها نفع شکم را بی‌درنگ تسکین می‌دهد. دم کرده ریشه نیز نفع شکم را از بین می‌برد و برای سوء‌هضمی بسیار مفید است. علاوه بر این، در درمان سوزش معده نیز موثر است [۴].

پلی‌ساقارید موجود در سنبل ختایی به طور چشمگیری باعث پیشبرد، تکثیر و تمایز انواع سلول‌های مادر خون‌ساز، در موش‌های سالم و مبتلا به کم‌خونی می‌شود [۵].

تاثیر عصاره آبی سنبل ختایی در افزایش خون‌سازی از طریق فعل کردن سلول‌های اریتروئید نبالغ موش‌های کوچک آزمایشگاهی که با ۵-فلوئوروپوراسیل کم‌خونی در آنها القا شده بود، مورد تأیید قرار گرفته است [۶].

نتایج بررسی تاثیرات درمانی کمپلکس آهن پلی‌ساقارید سنبل ختایی بر موش‌های صحرایی مبتلا به کم‌خونی فقر آهن، افزایش خون‌سازی قبل و بعد از القا در تمامی گروه‌های مورد آزمایش و علایم ایجادشده در آنها را نشان می‌دهد [۷]. پلی‌ساقاریدی ریشه سنبل ختایی از مغز استخوان در برابر سمیت سلولی سیکلوفسفامید محافظت می‌کنند [۸].

در چین هم مردان و هم زنان، به عنوان تقویت‌کننده معمول خون‌سازی از سنبل ختایی استفاده می‌کنند، چون این گیاه حاوی مقادیر زیادی آهن است و مانع کمبود آهن و ابتلا به کم‌خونی می‌شود [۹].

با توجه به اثرات دارویی ذکر شده، در این پژوهش اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره هیدروالکلی ریشه سنبل ختایی در دوزهای مختلف، بر تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، تغییر در میزان هموگلوبین و هماتوکریت، میانگین حجم گلبولی، حجم متوسط Balb/c هموگلوبین و درصد وزن متوسط هموگلوبین در موش نژاد Balb/c مورد بررسی قرار گرفت و موثرترین دوز عصاره در ایجاد تغییرات احتمالی مشخص شد.

روش‌ها

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار 11.5 SPSS و آزمون واریانس یک طرفه دانکن مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

میانگین تعداد گلوبول های سفید در گروههای تیمار اول ($3 \times 10^3 \pm 0.3 \times 10^3 / 20 \times 10^3 / 7$)، تیمار دوم ($3 \times 10^3 \pm 0.18 \times 10^3 / 29 \times 10^3 / 7$) و تیمار سوم ($3 \times 10^3 \pm 0.3 \times 10^3 / 35 \times 10^3 / 7$) به میزان معنی داری بیشتر از گروه کنترل ($3 \times 10^3 \pm 0.2 \times 10^3 / 15 \times 10^3 / 6$) بود، اما با گروه دارونما تفاوت معنی داری نداشت ($p > 0.05$). میانگین تعداد گلوبول های قرمز در گروه تیمار سوم ($3 \times 10^6 \pm 0.3 \times 10^6 / 35 \times 10^6 / 6$) به میزان معنی داری بیشتر از گروههای کنترل ($3 \times 10^6 \pm 0.5 \times 10^6 / 5 \times 10^6 / 5$)، دارونما ($3 \times 10^6 \pm 0.3 \times 10^6 / 80 \times 10^6 / 5$)، تیمار اول ($3 \times 10^6 \pm 0.3 \times 10^6 / 95 \times 10^6 / 5$) و تیمار دوم ($3 \times 10^6 \pm 0.4 \times 10^6 / 10 \times 10^6 / 6$) بود.

تفاوت معنی داری بین میانگین هماتوکربت و هموگلوبین، MCV و MCHC گروهها مشاهده نشد ($p > 0.05$).

بحث

میانگین تعداد گلوبول های سفید در هر سه گروه تیمار نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. این نتیجه با نتایج مارکو و همکاران [۱۲] که با استفاده از پلی ساکاریدهای ریشه سبل ختایی، موش های مبتلا به لوکپنیا (کمبود گلوبول های سفید) را درمان کرده بودند همخوانی دارد. براساس این مطالعه، پس از کاربرد سبل ختایی، گلوبول های سفید به طور معنی داری افزایش می یابند. چنگ و همکاران نیز با جداسازی سلوال های تک هسته ای مغز استخوان موش و افروزن سبل ختایی به آن گزارش می کنند که سبل ختایی باعث تکثیر سلوال های تک هسته ای مغز استخوان موش از طریق فعال سازی پروتئین های MAPK می شود [۱۳].

خونسازی نتیجه تکثیر و تمایز همزمان و مداوم سلوال هایی است که از سلوال های بنیادی سرچشم می گیرند. با توجه به پژوهش های صورت گرفته و نیز مکانیسم خونسازی، افزایش تعداد گلوبول های سفید تحت تاثیر عصاره سبل ختایی، احتماً می تواند با تاثیر بر سلوال های بنیادی (برتوان، چندتوان میلوبئیدی و لنفوئیدی) و افزایش تقسیم میتوز یا تاثیر بر سلوال های متعهد اجدادی و افزایش تقسیم میتوز در آنها باشد. پس از تقسیمات، سلوال های چندتوان میلوبئیدی به وجود می آیند. این سلوال های تشکیل دهنده کلی که از سلوال های اجدادی است، تقسیم شده و سایر سلوال های متعهد اجدادی از جمله CFU-GEM، CFU-EO و CFU-Baso را می سازند که خود تحت تاثیر فاکتور تحریک رشد کلونی گرانولوست - مونوست - ایترولوکین - ۳، فاکتور بنیادی سلوال (CSF) و FLt-3L، تحریک شده و تکثیر می یابد. با توجه به این

نتیجه گیری

عصاره سبل ختایی در غلظت mg/kg^{200} در پدیده خونسازی موثر است و باعث افزایش گلوبول های قرمز می شود. عصاره سبل ختایی با افزایش تعداد گلوبول های سفید در تقویت سیستم ایمنی موثر است.

- 10- Modaresi M, Gholchobian H. Effect of hydroalcoholic extract of nettle on immune system in mice. *Asian J Chemistry.* 2012;24(5):2339-41.
- 11- Modaresi M. A comparative analysis of the effects of garlic, elderberry and black seed extract on the immune system in mice. *J Ani Vet Adv.* 2012;11(4):458-61.
- 12- Marco K, Hui William K, Vivian Y, Wallace H. Polysaccharide from the root of Angelica sinensis protects bone marrow and gastrointestinal tissues against the cytotoxicity of cyclophosphamide in mice. *Int J Med Sci.* 2006;3(1):1-6.
- 13- Cheng X, Chen J, Zhang P. Angelica stimulates proliferation of murine bone marrow mononuclear cells by the MAPK pathway. *Blood Cells Mol Dis.* 2006;36(3):402-5.
- 14- Sarker SD, Nahar L. Natural medicine: The genus Angelica. *Curr Med Chem.* 2004;11(11):1479-500.
- 15- Wang Y, Zhu B. The effect of angelica polysaccharide on proliferation and differentiation of hematopoietic progenitor cell. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 1996;76(5):363-6.
- 16- Hatano R, Takano F, Fushia S, Michimata M, Tanaka T, Kazama I, et al. Water-soluble extracts from Angelica acutiloba Kitagawa enhance hematopoiesis by activating immature erythroid cells in mice with 5-flurouracil-induced anemia. *Exp Hematol.* 2004;32(10):918-24.
- 17- Wang PP, Zhang Y, Dai LQ, Wang KP. Effects of Angelica sinensis polysaccharide-iron complex on iron deficiency anemia in rats. *Chin J Integr Med.* 2007;13(4):297-300.
- 18- Chang MS, Kim do R, Ko EB, Choi BJ, Park SY, Kang SA, et al. Treatment with Astragalus radix and Angelicae radix enhances erythropoietin gene expression in the cyclophosphamide-induced anemic rat. *J Med Food.* 2009;12(3):637-42.
- 19- Maliakal PP, Wanwimolruk S. Effect of herbal teas on hepatic drug metabolizing enzymes in rats. *J Pharm Pharmacol.* 2001;53(10):1323-9.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله از کلیه همکاران و عزیزانی که در مراحل مختلف انجام این طرح تحقیقاتی اینجانب را یاری نمودند قدردانی می‌شود.

منابع

- 1- Braun L, Cohen M. *Herb and supplement: An evidence-based guide.* 4th ed. New York: Elsevier Mosby Publishers; 2005.
- 2- Mir Haidar H. *Plants used in the prevention and treatment of disease.* 6th ed. Tehran: Islamic Culture Publication; 2005. [Persian]
- 3- Flok H. *Medicinal plants.* 5th ed. Tehran: Golshan Publication; 2000. [Persian]
- 4- Zargari A. *Medicinal plants.* Tehran: Tehran University Publication; 1985. [Persian]
- 5- Yang M, Chan GC, Deng R, Cheng SW, Lau CP, Wang L, et al. An herbal decoction of Radix astragalus and Radix angelicae Sinensis promotes hematopoiesis and thrombopoiesis. *J Ethnopharmacology.* 2009;124(1):87-97.
- 6- Lee S, Shin DS, Kim JS, Kang SS. Antibacterial cumarins from Angelica gigas roots. *Arch Pharmacol Res Seol.* 2003;26(6):449-52.
- 7- Jaroslaw W, Milena P, Konstantia G, Kazimierz G, Loanna Ch. Coumarins from Angelica Lucida Antibacterial activities. *Molecules.* 2009;14(8):2729-34.
- 8- Thomson MI. Immunomodulatory effects of traditional Chinese herbal formulation, ginseng and dong qui ten combination (PS10). Swinburne; University of Technology; 2006.
- 9- Lopes D, Strobl H, Kolodziejczyk P. 14-Methylpentadecano-15-lactone (muscolide): A new macrocyclic lactone from the oil of Angelica archangelica. *Chemist Biodivers.* 2004;1(12):1880-7.

یادداشت: