بررسی اثر فیبرینولیتیک کرفس کوهی

صدیقه عسگری[1*]، غلامعلی نادری[2]، عباس جعفریان[3]، نازیلا عسکری[4]، علیرضا بحق[5]

۱- فارماکوگنوزی، دانشیار مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۲- بیوشیمی بالینی، دانشیار مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۳- فارماکوگنوزی، دانشیار دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۴- میکروبیولوژی، کارشناس مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۵- داروساز، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
* آدرس مکاتبه: اصفهان، میدان جمهوری اسلامی، خیابان خرم، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، مرکز همکار سازمان بهداشت جهانی جهت آموزش و پژوهش در زمینه کنترل، پیشگیری و بازتوانی بیماری‌های قلبی عروقی در کشورهای منطقه مدیترانه شرقی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، صندوق پستی: ۱۱۴۸-۸۱۴۶۵، تلفن: ۳۳۵۹۶۹۶، ۳۳۵۹۷۹۷ (۰۳۱۱) نمابر: ۳۳۷۳۴۳۵ (۰۳۱۱)
پست الکترونیک: crc@mui.ac.ir

چکیده

مقدمه: درمان فوری ترومبوآمبولیسم مصرف داروهای فیبرینولیتیک مانند استرپتوکیناز (SK) و اوروکیناز (UK) می‌باشد. بایست توجه داشت که این داروها علاوه بر لیز لخته نابه‌جا دارای عوارض جانبی مثل ایجاد حالت لیتیک عمومی، کاهش فیبرینوژن سرم، تاثیر بر میخ‌های هموستاتیک بدن و خونریزی‌های کشنده، ایجاد حالت آلرژی و کهیر نیز می‌باشند.

هدف: امروزه مطالعات بر روی ترکیبات طبیعی و گیاهان با خواص دارویی انجام گرفته است. در این مطالعه به منظور یافتن ترکیباتی که بتواند به تنهایی یا به عنوان داروی مکمل در درمان ترومبوآمبولیسم به کار روند به بررسی تاثیر کرفس‌کوهی (*Amirkabiria odoratissima* Mozaffarian) پرداخته شد.

روش تحقیق: برای این منظور عصاره پلی‌فنلیک گیاه تهیه شد و نیز اسانس‌گیری به روش تقطیر با بخار آب از برگ گیاه انجام گردید و اسانس آن به وسیله دستگاه GC/MS آنالیز گردید. اثرات فیبرینولیتیک استرپتوکیناز (به عنوان شاهد مثبت و مقایسه)، عصاره و اسانس کرفس کوهی به روش فلوریمتری انجام گردید. ابتدا فیبرینوژن با ماده (فلورسئین ایزوتیوسیانات) FITC نشان‌دار و سپس در محیط پلاسمایی با استفاده از یون کلسیم لخته نشان‌دار تشکیل گردید و به آن استرپتوکیناز (۱۰۰۰-۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر) و اسانس در رقت‌های (V/V ۱/۱۰ و۱/۱۰۰، ۱/۱۰۰۰) و عصاره در رقت‌های (V/V ۱/۱ و ۱/۱۰، ۱/۱۰۰، ۱/۱۰۰۰) اضافه شد و پس از زمان‌های ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه فلورسانس اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل رابطه خطی بین فلورسانس و غلظت‌های ۳۰۰ تا ۷۰۰ واحد در میکرولیتر استرپتوکیناز را نشان داده است. اسانس کرفس کوهی در حل لخته تاثیر داشته و با گذشت زمان مجاورت اسانس با محیط افزایش ناچیزی نشان داده است. عصاره گیاه مزبور در حل لخته دارای اثری نسبی بوده است.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داده است که عصاره کرفس کوهی دارای اثرات قابل توجه فیبرینولیتیک می‌باشد. لذا بررسی فراکسیون‌های مختلف این گیاه و نیز جداسازی و خالص نمودن آن جهت بررسی اثرات فیبرینولیتیک توصیه می‌گردد.

گل‌واژگان: فیبرینولیتیک، کرفس کوهی، استرپتوکیناز

www.SID.ir

مقدمه

عـوامل مختلفـی در تغییـر فعالـیت هموستاز بدن نقش دارند که نهایـتاً بـا ایجاد لخته ممکن است باعث تولید آمبولی و ترومبوز شود [۱]. بـیماران خاصـی از جملـه مبـتلایان بـه نارسـایی احتقانی قلب، تـصلب شرایین، سرطان و زنان حامله برای تشکیل لختههای نابه جا مـستعدتر هـستند [۱،۲]. لخته قرمز (Red Thrombi) که اغلب در وریـدهای پاهـا تـشکیل مـیشود دارای دنبالۀ شکنندهای به صورت متـصل بـه خـود است که این دنباله میتواند جدا شده و آمبولیهای ریوی را باعث شود. این لختهها مملو از فیبرین، گویچههای قرمز به دام افتاده و تعداد کمی پلاکت هستند [۳،۴].

لخـته سفید (White Thrombi) در شریانها که جریان خون سریع است به وجود میآید. فیبرین کم و پلاکت زیاد دارد. به راحتی کـنده شـده و با ایجاد آمبولی در محلهای دورتر مثل شبکه گردش خون، شبکیه و مغز ایجاد ایسکمی زودگذر یا دایم میکند که در مغز منجـر به حملهگذرای ایسکمی و در چشم منجر به کوری موقت یک چشم میشود [۳].

سکتههای قلبی و مغزی به علت انسداد دایمی عروق مربوطه بر اثـر وجـود یـک لخـته نابهجا ایجاد میشوند که روند ایجاد آن نیز با تـشکیل یـک لخـته طبیعی یا میخ هموستاتیک تفاوتی ندارد [۱،۲]. امـروزه آزمایشهای بالینی رایجی جهت شناسایی بیماران مستعد به بروز ترومبوز وجود ندارد [۱،۲]. روشهای خاصی از جمله اندازهگیری پپتیدهای کوچک یا کمپلکسهای مهار آنزیمی تشکیل شده در طول انعقـاد ارایـه شـدهانـد. اسـاس ایـن روشهـا بـر انـدازهگیـری فیبـرینوپپتیدهای A و B، کمـپلکسهای ترومبین و آنتی ترومبین و اجزای شکسته شده پروترومبین به روش رادیوایمونواسی میباشد که در بـیماران مـستعد تـرومبو آمبولی مقادیر بالایی از آنها گزارششده اسـت [۳،۵]. تـنها ۱۰ تـا ۲۰ درصـد مبـتلایان بـه بـیماریهـای ترومبوآمبولی با این روشها قابل شناسایی هستند [۳].

درمـان فیبـرینولیتیک بـه علـت حـساسیت بـیمار مبـتلا بـه ترومبوآمبولی و تهدید حیات اعضای بدن خصوصاً قلب و مغز اهمیت ویـژهای دارد [۱،۲]. درمان سریع فیبرینولیتیک پس از انسداد شریان کرونـر مـیتـواند از آسـیب مـیوکارد جلوگیری کند [۵،۶]. اوروکیناز (UK) و اسـترپتوکیناز (SK) از جملـه قدیمـیتـرین داروهـای فیبـرینولیتیک هـستند. اسـترپتوکیناز نوعـی آنـزیم باکتـری است و اوروکیـناز بـه وسـیله سـلولهـای اپـیتلیال لولههای کلیوی ساخته مـیشـود [۱،۷]. این داروها علاوه بر لیز لخته نابهجا، دارای عوارض جانبی مثل ایجاد حالت لیتیک عمومی، کاهش فیبرینوژن سرم، تاثیر بـر میخهای هموستاتیک و خونریزیهای کشنده، ایجاد حالت آلرژی و کهیـر میباشد و در بیماران جراحی شده، بیماران با سابقۀ ضایعات عـصبی، خونریـزی گوارشی و فشارخون به کار نمیروند [۷]. کرفس کوهـی از خانـواده چتـریان (umbliferacae) اسـت و در اسـتان اصـفهان و چهارمحـال بختیاری میروید، گیاهی است چند ساله، قد بلند، کاملاً بیکرک، راست و بسیار معطر. این گیاه به فارسی کلوس هم نامیده میشود [۸]. فصل جمعآوری برگهای سبز این گیاه اواخر فروردین ماه میباشد [۸،۹].

کـرفس کوهـی دارای دو گـروه تـرکیبات اسـانس و فلاونویـید مـیباشـد. مهمتـرین تـرکیب موجـود در اسـانس گـیاه بوتیلیدندیهیدروفتالید و نیـز بوتیلیدن فتالید است. این فتالیدها حدود ۷۰ درصد اسانس گیاه را تشکیل میدهند [۸].

فلاونویـیدها بـه عـنوان داروی ضد التهاب، ضدآلرژی، محافظت کننده عروق، آنتیترومبوز و محافظ دستگاه گوارش به کار میروند و نیـز دارای خـواص مهارکنـنده مـسیر آراشـیدونیک اسـید و ۵- لیپواکسیژناز، ضـد دیابـت، آنتـیپراکسیداسیون لیپیدها، ضد سرطان میباشند [۹،۱۰].

فتالـیدها نیـز مهارکننده پروستاگلاندین $F_2\alpha$، مهارگر تومورهای سـرطان، درمـان کنـنده صـرع، درمـان کنـنده اخـتلالات کـبدی و کاهشدهنده ویسکوزیته خون میباشند [۹،۱۱،۱۲،۱۳،۱۴].

ایـن مطالعـه به منظور یافتن ترکیباتی که بتوانند به تنهایی یا به عـنوان داروی مکمـل در درمـان ترومبوآمبولیـسم به کار روند انجام گرفته است.

مواد و روشها

بـرگ تـازه این گیاه از اداره منابع طبیعی اصفهان که از کوههای مـنطقۀ چهارمحال و بختیاری جمعآوری شده بود تهیه گردید. سپس توسـط دانـشکده علوم دانشگاه اصفهان مورد شناسایی قرار گرفت و نام علمی آن تعیین شد.

روش تهیه عصاره پلیفنلیک کرفس

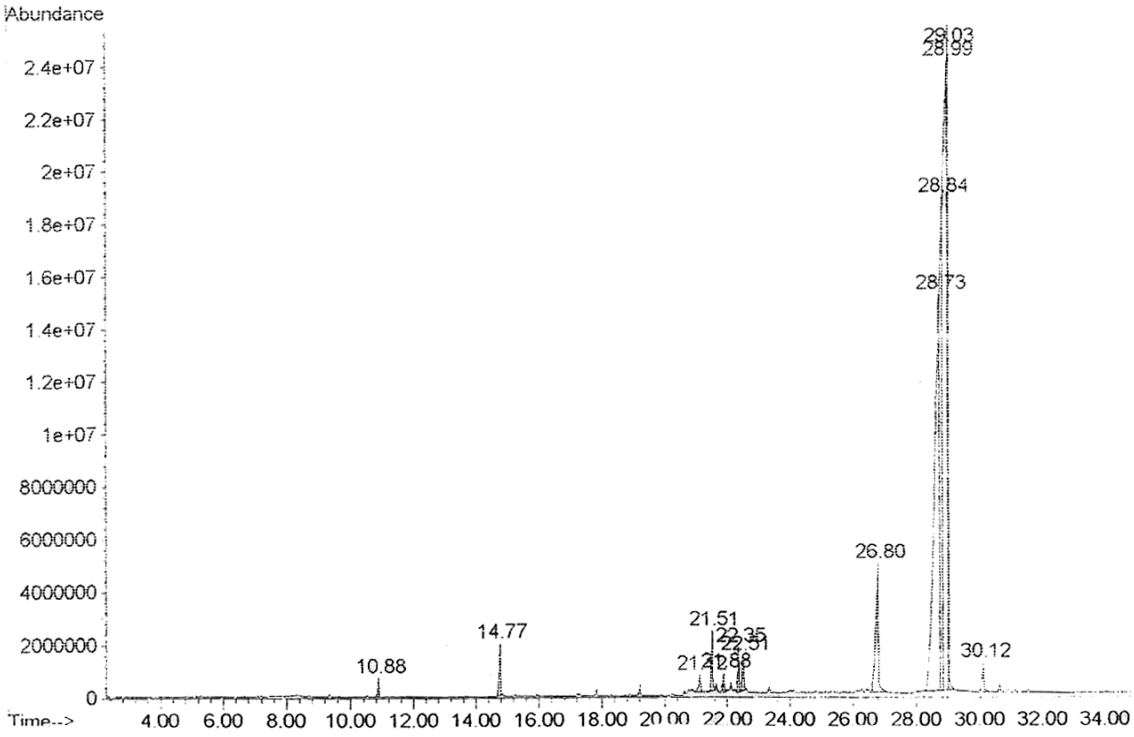
۵۰ گـرم پـودر گیاه تهیه و با محلول آب و اتانول به نسبت ۱ به ۱۰ مخلـوط و بـه مـدت ۴۸ سـاعت در دمای آزمایشگاه قرار داده و سـپس بـه مـدت ۲ سـاعت بـه کمک شیکر تکان داده شد. آنگاه با اسـتفاده از قـیف بوخنـر صـاف گردید. در مرحلۀ بعد مجدداً به تفاله حاصل اتانول ۷۰ درصد اضافه و مراحل قبل تکرار گردید. حاصل دو مـرحله به هم افزوده و عصاره حاصل با کمک دستگاه تقطیر در خلا حجـم آن بـه ثلـث کـاهش داده شـد. جهـت جداسازی مواد چربی، تـرپنویید، کلـروفیل و گـزانتوفیل محلـول حاصله با کلروفرم چند بار دکانته شد. باقیمانده در دستگاه تقطیر در خلا کاملاً خشک گردید [۱۵].

روش تهیه اسانس

اسـانس بـه روش تقطیـر بـا بخـار آب تهـیه شد [۱۶] و توسط دسـتگاه GC/MS شناسـایی گـردید (شـکل شـماره ۱ و جـدول شماره ۱).

Archive of SID
www.SID.ir

شکل شماره ۱- طیف GC/MS اسانس کرفس کوهی



نمونه اسانس کرفس کوهی به مقدار ۱µl به دستگاه تزریق شد. فاز ثابت ستون HP-5MS و فاز متحرک گاز هلیم و دمای ستون بین ۶۰ تا ۲۷۵ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه در حال افزایش است.

جدول شماره ۱- آنالیز GC/MS اسانس کرفس کوهی

نام ترکیب	زمان خروج (دقیقه)	نسبت جز در اسانس درصد
بتا- بیزوبولن	۲۱/۸۹	۰/۴۲
بتا- سزکویی فلاندرن	۲۲/۳۵	۰/۷۸
سیچلن	۲۲/۵۱	۰/۷۴
بوتیلیدن فتالید	۲۶/۸۰	۴/۹۱
بوتیلیدن دی هیدروفتالید	۲۸/۷۳	۸۲/۱۰
جمع		**۸۸/۹۵**

نشان‌دار کردن فیبرینوژن با ماده فلورسانس FITC(FITC-FIB):

۵۰ میلی‌لیتر آب به ویال حاوی ۱ گرم فیبرینوژن انسانی محلول اضافه و محلول ۲ درصد فیبرینوژن (ساخت شرکت مرک) تهیه شد. به این محلول برای نشان‌دار شدن ۲/۳۵ میلی‌گرم ماده فلورسئین ایزوتیوسیانات FITC در محیط قلیایی p=۸/۵ اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس توسط ستون کروماتوگرافی و با استفاده از سفادکس

Archive of SID
www.SID.ir

G۱۰۰ کمپلکس FIB-FITC خالص گردید [۱۷،۱۸].

روش تهیه لخته نشان‌دار شده

ابتدا محلول استوک $CaCl_2$ با غلظت ۱ مولار تهیه و ۱۰µl از آن به ۰/۵ میلی‌لیتر پلاسما و ۲۵µl محلول کمپلکس FITC-FIB افزوده شد. مخلوط به مدت ۸۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰rpm سانتریفوژ گردید تا لخته‌رسوب‌کند. سپس محلول رویی دور ریخته شد و باقیمانده با افزودن بافر فسفات سدیم ۰/۱ میلی‌لیتر مولار سه بار شستشو داده و به آن ۲ میلی‌لیتر پلاسما برای ایجاد محیط مناسب فیبرینولیز افزوده شد [۱۹].

قبل از افزودن ماده مورد سنجش اثر فیبرینولیتیک مقدار فلورسانس محیط که حاوی ۲ میلی‌لیتر پلاسما و لخته نشان‌دار به عنوان کنترل منفی بود اندازه‌گیری شد. برای محلول استرپتوکیناز (تهیه شده از شرکت هوخست) ۱۰ غلظت از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ واحد در میلی‌لیتر در نظر گرفته شد.

در مورد اسانس کرفس ابتدا رقت‌های (V/V ۰/۱ و ۰/۰۱، ۰/۰۰۱) آن در الکل تهیه و سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به محیط پلاسمایی اضافه شد. به منظور تهیه محلول استوک از عصاره، یک میلی‌لیتر از عصارهٔ تغلیظ شده تا حد خشک شدن در روی بن‌ماری و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس در ۵ میلی‌لیتر DMSO حل گردید و سپس رقت‌های مورد استفاده (V/V ۱، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱) در الکل تهیه شد و از هر رقت ۱۰۰ میکرولیتر به محیط پلاسمایی اضافه شد. در دقایق ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از مجاورت با SK، عصاره و اسانس ۱۰ میکرولیتر از محیط پلاسما برداشته و با افزودن بافر فسفات سدیم به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانیده و توسط اسپکتروفلوریمتر مدل PERKIN-ELMER در طول موج‌های Emisson و Excitation (۴۹۲ و ۵۲۰ نانومتر) اندازه‌گیری گردید. هر آزمایش ۳ مرتبه تکرار و نتایج به صورت Mean ± SDg در مورد هر آزمایش گزارش گردید.

نتایج

آنالیز GC/MS اسانس کرفس کوهی در جدول شماره ۱ و شکل شماره ۱ آمده است و نتایج نشان می‌دهد که بوتیلیدن‌دی‌هیدروفتالید حدود بیش از ۷۰ درصد اسانس را تشکیل می‌دهد. همچنین میزان اسانس به دست آمده (۰/۵۷ml/۱۰۰g) و به رنگ سبز روشن بوده است. از آنجا که عصاره تغلیظ شدهٔ حاصل از ۵۰ گرم پودر خشک شده گیاهی ۳۰ میلی‌لیتر بوده و یک میلی‌لیتر از عصاره در ۵ میلی‌لیتر DMSO حل گردیده است که در واقع غلظت آن ۳۳۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. بنابراین رقت‌های تهیه شده به صورت میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید که در نمودار شماره ۳ آمده است. همچنین با توجه به اینکه ۰/۵۷ میلی‌لیتر اسانس معادل ۰/۵۱ گرم بوده است رقت‌های به دست آمده اسانس نیز به صورت میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید که در نمودار شماره ۲ آمده است. در ضمن به منظور بررسی اثر حلال بر فیبرینولیز قبل از افزودن هر ترکیب به محیط برای اندازه‌گیری فلورسانس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر اتانول و DMSO بر لوله‌های آزمایش جداگانه افزوده شد که افزایش در میزان فلورسانس مشاهده نگردیده است.

هر چه ترکیب دارای قدرت فیبرینولیز بیشتری باشد میزان بیشتری از لخته حل شده و مقدار بیشتری FITC در محیط پلاسما آزاد می‌گردد و در نتیجه مقدار فلورسانس بیشتری ثبت خواهد شد.

در مورد استرپتوکیناز در محدودهٔ غلظت ۳۰۰ تا ۷۰۰ واحد در میلی‌لیتر در محیط پلاسمایی رابطهٔ خطی بین غلظت و میزان فلورسانس مشاهده شد (نمودار شماره ۱) و برخلاف رابطه مستقیم غلظت اثر در مورد استرپتوکیناز، طول زمان و اثر با یکدیگر مرتبط نبودند چرا که مقدار فلورسانس بعد از افزودن استرپتوکیناز در دقایق ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p>0/05$). یعنی استرپتوکیناز دارویی است که سریع اثر می‌کند. حداکثر فلورسانس محیط که نمایانگر حداکثر مقدار حل شدن لخته می‌باشد در حدود غلظت ۷۰۰ واحد در میلی‌لیتر استرپتوکیناز ثبت گردیده است.

اسانس کرفس کوهی باعث افزایش میزان فلورسانس به صورت وابسته به غلظت گردید ولی با زمان رابطه نشان نداد. به عبارت دیگر مقادیر فلورسانس در دقایق ۱۵ تا ۶۰ اختلاف معنی‌داری نشان نداد، بنابراین نتایج تنها در زمان ۶۰ دقیقه گزارش گردید (نمودار شماره ۲).

عصاره کرفس کوهی باعث افزایش میزان فلورسانس یا افزایش حل شدن لخته به صورت وابسته به غلظت گردید ولی با زمان رابطه نشان نداد. بنابراین نتایج تنها در زمان ۶۰ دقیقه گزارش گردیده است (نمودار شماره ۳).

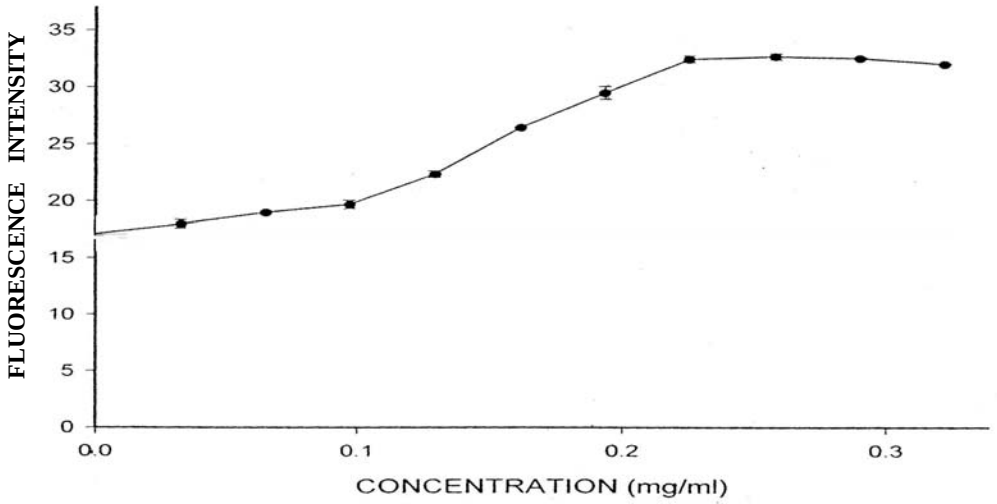
بحث

مطالعات نشان داده‌اند که ترومبوآمبولی یک اختلال در سیستم هموستاز یا بندآورنده خون است و می‌تواند وضعیت بیمار مبتلا را بر حسب اینکه لخته نا به جا در کجا تشکیل شده به شدت به خطر می‌اندازد [۳،۴].

در طب سنتی برای کرفس آثار ضد التهاب و ضد درد قایل هستند. نتایج نشان می‌دهد عصاره تام، فلاونوییدی و اسانس این گیاه در موش‌های مورد مطالعه دارای اثر ضدالتهاب و ضددرد می‌باشد که در این مورد تاثیر اسانس بیشتر بوده است [۲۰]. همچنین مصرف این گیاه در حیوانات آزمایشگاهی موجب کاهش تشکیل Fatty Streak از طریق کاهش کلسترول، LDL – کلسترول و CRP کمی شده است [۲۱،۲۲]. بنابراین مطالعات تاکنون خواص ضدالتهابی و نیز کاهش آترواسکلروز را جهت این گیاه تاثیر می‌نماید.

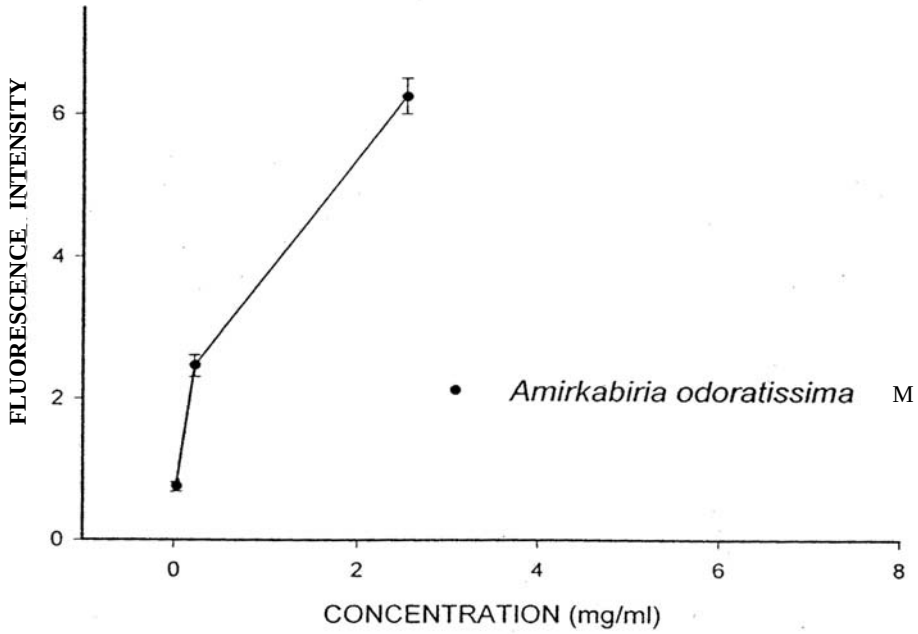
Archive of SID
www.SID.ir

نمودار شماره ۱- تغییرات میزان فلورسانس در برابر غلظت‌های مختلف استرپتوکیناز SK



لخته نشان‌دار شده با FITC تهیه گردید و در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۲ میلی‌لیتر پلاسما و غلظت‌های مختلف استرپتوکیناز قرار داده شد و پس از ۶۰ دقیقه انکوباسیون میزان فلورسانس هر غلظت توسط دستگاه اسپکتروفتوفلوریمتر اندازه‌گیری گردید.

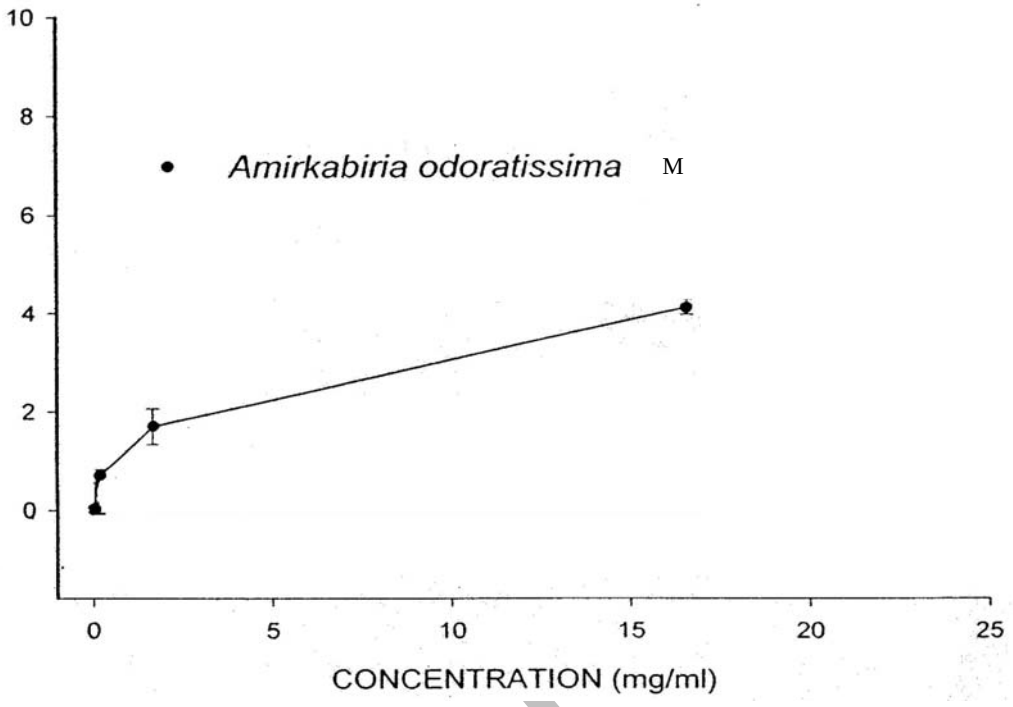
نمودار شماره ۲- تغییرات میزان فلورسانس در برابر غلظت‌های مختلف اسانس کرفس کوهی



لخته نشان‌دار شده با FITC تهیه گردید و در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۲ میلی‌لیتر پلاسما و غلظت‌های مختلف اسانس کرفس کوهی قرار داده شد و پس از ۶۰ دقیقه انکوباسیون میزان فلورسانس هر غلظت توسط دستگاه اسپکتروفتوفلوریمتر اندازه‌گیری گردید.

www.SID.ir

نمودار شماره ۳- تغییرات میزان فلورسانس در برابر غلظت‌های مختلف عصاره کرفس کوهی



لخته نشان‌دار شده با FITC تهیه گردید و در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۲ میلی‌لیتر پلاسما و غلظت‌های مختلف عصاره کرفس کوهی قرار داده شد و پس از ۶۰ دقیقه انکوباسیون میزان فلورسانس هر غلظت توسط دستگاه اسپکتروفتوفلوریمتر اندازه‌گیری گردید.

ایـن گـیاه دارای فلاونویـید، آنتوسـیانیدین، پروآنتوسـیانیدین و اسـانس مـی‌باشد [۸،۹]. فتالید یکی از مواد تشکیل‌دهنده روغن فرار ایـن گیاه است که می‌تواند دارای اثر ضدالتهابی خوبی باشد و نیز در فلاونویـیدها اثر ضدالتهابی ثابت شده است. از طرفی فتالیدها موجب کاهش ویسکوزیته خون می‌گردند [۱۱،۱۲،۱۳،۱۴].

در مطالعـهٔ حاضـر اسـانس ایـن گـیاه نـسبت بـه عصاره آن اثر فیبـرینولیتیک بهتـری داشته است ($p>0/05$). با در نظر گرفتن این کـه مقایـسه بـین رقت ۱/۱ عصاره و ۱/۱۰ اسانس صورت می‌گیرد، مـی‌تـوان گفت مصرف این گیاه به عنوان غذا در کنترل و پیشگیری بـیماری‌هـای قلبـی- عروقی موثر خواهد بود. مصرف کرفس کوهی باعـث کاهش خطر ابتلا به بیماری آترواسکلروز، کاهش کلسترول و VLDL مـی‌شـود و همچنـین در جلوگیـری از پیـشرفت Fatty Streak نقش عمده‌ای را به عهده دارد [۲۱،۲۲].

اسـتفاده از ایـن گـیاه کـه دارای اثر فیبرینولیتیک است در رژیم غذایـی بـیماران مستعد ترومبوز آمبولی نکته حایز اهمیتی است. این روش مـی‌تـواند ضـمن پیشگیری از بروز ترومبوآمبولی و حالت‌های خطـرناک ناشـی از آن در بـیماران، مـصرف داروهایـی مانـند اسـترپتوکیناز را در مواقـع لـزوم کـاهش دهـد و از عوارض آنها بکاهد.

بـه هر حال ادامه بررسی اثر فیبرینولیتیک گیاهانی مانند کرفس کوهـی مبنایی برای تحقیقات بعدی می‌تواند باشد و افق‌های تازه‌ای را برای درمان بگشاید.

منابع

1. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser S, Lonjo DL, Jameson JL. *Principles of Internal Medicine.* 15th ed. McGraw-Hill, USA. 2001, Vol. 1, pp: 251-260.

2. Goldman L, Clande Benneti J. *Textbook of Medicine.* 21st ed. W.B.Sannders Company. USA. 2000, Vol 2, pp: 291-296.

3. Shinton NK. CRC Desk Reference for

Archive of SID
www.SID.ir

Hematology London. CRC Press. 1998; 230-37.

4. Simmons A. Hematology, A Combined Theoretical and Technical Approach. 2nd ed. New York: Botterworth-Heinemann. 1977, 210-213.

5. Stiene-Martin EA, Lotspeich CA, Koepke JA. Clinical Hematology, Principles, Procedures, Correlations. 2nd ed. New York: Lippist Philadelphia. 1998, 612-649.

6. Lee K, Foerster J, Luken J, Paraskeras F, Greer JA, Rodgers GM. Wintrobe's Clinical Hematology. 10th ed. London: Williams and Willkins. V2 1999, 1744-91.

۷. کاتزونگ، برترام، جی. فارماکولوژی پایه و بالینی. چاپ ششم. ترجمه ابراهیمی و، حسینی ج، فنایی ا. تهران انتشارات ارجمند، ۱۳۷۶، جلد دوم، صفحات ۷۸ -۲۶۴ و ۶۵-۳۶۴.

۸. گندم‌کار محسن. *بررسی فیتوشیمی روغن فرار گیاه کرفس کوهی*. پایان‌نامه دکترای عمومی داروسازی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان. ۱۳۷۸، صفحات ۴،۵ و ۳۸.

۹. دادخواه تهرانی زهرا. بررسی فیتوشیمیایی گیاه *Amirkabiria Odoratissima* Mozaffarin. پایان‌نامه دکترای عمومی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان. ۱۳۷۸، صفحات ۵۴ و ۵،۲۹.

10. Evans WC. *Trease and Evans Pharmacognosy*. 13th London. Bailliere and Tindiall. 1989, p: 247.

11. Harbrone JB. *The flavonoids advances in research science*. London, Chapman S hall. 1994; 1-20-292-5-480-5000.

12. Craker LE. *Herbs species and medicinal plants*. Encanto. Oxyx Press. 1984; 2: 15-16.

13. Kerry N, Rice Evans C. Peroxynitrite oxidices catechols to quinnones. *FEBS Lett.* 1998; 437 (3): 167-171.

14. Kaouadji M, DE Pachtere F, Pouget C, Chulia AJ. Three additional phthalide derivatives, an epoxymonomer and two dimmers, from ligusticum wallichii rhizomes. *J. Nat. Prod.* 1986; 49: 872-877.

۱۵. صمصام‌شریعت هادی. *عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی، روش‌های شناسایی و ارزیابی آنها*. اصفهان، انتشارات مانی. ۱۳۷۱، ۱۳-۱۲: ۱۸۳.

16. *British Pharmacopoeia*. London: British Pharmacopeia Commission 1993; A154-7.

17. Remington. *The science and practice of pharmacy*. 20 the ed. USA Lip Willi & Wilk. 2000, pp: 845-6.

18. SIGMA-Aldrich-Products for Life Science Research. Germany: ES Chenstrabe. 2000; 133.

19. Sakharov DV, Rijkon DC. The Effect of Flow lysis of Plasma Clots in a Plasma Environment. *J. Thromb. Hoemost.* 2000; 83: 469-74.

۲۰. حاج‌هاشمی ولی‌ا...، قنادی علیرضا، سلطانی لیلا. بررسی اثرات ضد درد و ضد التهاب گیاه کرفس کوهی. *پژوهش در علوم پزشکی*، سال هفتم، ۱۳۸۲، ۱۲۵-۱۲۱.

۲۱. سجادیان علی. *بررسی تاثیر استفاده از داروهای ضد التهاب گیاهی در تشکیل و توسعه Fatty Streak در حیوانات آزمایشگاهی*. پایان‌نامه دکترای حرفه‌ای عمومی. ۱۳۸۱، صفحات ۶۵-۵۴.

22. Asgary S, Naderi Gh, Dashti Gh, Paknahad Z. Effect Of *Amirkabiria Odoratissima Mozaffarian* On The Development And Progression Of Fatty Streaks On Hypercholesterolemic Rabbits. Phytotherapy Research Journal. 2004; 18, 370-372.

Archive of SID

www.SID.ir