



فصل نامه‌ی داروهای گیاهی

journal homepage: www.journal.iaushk.ac.ir

تأثیر عصاره هیدروالکلی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) بر سیستم ایمنی و اجزای پروتئینی خون در موش کوچک آزمایشگاهی

مهرداد مدرس*
*

دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان (اصفهان)، اصفهان، ایران

* مسئول مکاتبات (Email: mehرداد_modaresi@hotmail.com)

شناسه مقاله

چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۴/۲۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۰۶/۱۲

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: فارماکولوژی - فارماکولوژی

کلید واژگان:

✓ سیاهدانه

✓ سیستم ایمنی

✓ موش کوچک آزمایشگاهی

مقدمه و هدف: گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گیاه دارویی شناخته شده در طب سنتی محسوب می شود که با داشتن ترکیبات شیمیایی موثر در سیستم ایمنی کاربرد فراوانی در طب سنتی جهت مقابله با عفونت دارد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر نقش گیاه مذکور در سیستم ایمنی و پروتئین های خون است.

روش تحقیق: در این تحقیق موش های نر از نژاد Balb/c مورد آزمایش به چهار گروه تقسیم شدند. گروه شاهد و گروه های تجربی ۱، ۲ و ۳ که به ترتیب دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg از عصاره هیدروالکلی سیاهدانه را به صورت یک روز در میان و به مدت ۲۰ روز با تزریق درون صفاقی دریافت کردند. در پایان آزمایش، خون گیری انجام شد و جهت شمارش گلبول های سفید و الکتروفورز پروتئین های خون مورد استفاده قرار گرفت. داده های به دست آمده با نرم افزار SPSS_{۱۱.۵} در سطح $p < 0.05$ ارزیابی شد.

نتایج و بحث: نتایج این بررسی حاکی از آن است که عصاره سیاهدانه در سه گروه تجربی قادر به افزایش تعداد گلبول های سفید می باشد. سیاهدانه میزان پروتئین های آلبومین، آلفا ۱ و ۲ و نسبت A/G را افزایش داده است. گیاه سیاهدانه با تغییر در تعداد گلبول های سفید و میزان غلظت پروتئین های خون نظیر آلبومین، آلفا ۱ و ۲ و گاما در سیستم ایمنی بدن موثر بوده است.

توصیه کاربردی / صنعتی: با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می رسد در صنعت داروسازی کشور سیاهدانه می تواند نقش موثری در تقویت سیستم ایمنی بدن بازی کرده و در این راستا به عنوان یک گیاه دارویی کاربردی مورد استفاده قرار بگیرد.

۱. مقدمه

در طب سنتی سعی بر آن بوده است که با استفاده از ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان یا با مخلوط بخش های مختلف چند گیاه بتوان به صورتی عمل کرد که توازن بخش بیمار بدن با دیگر قسمت های بدن که سالم هستند، تنظیم شود. به عبارت دیگر در طب سنتی هدف بهبود عملکرد یک سیستم در ارتباط با دیگر سیستم ها می باشد و به همین دلیل نیز داروهای گیاهی طیف اثر

وسیع تری، نسبت به داروهای شیمیایی و سنتتیک موجود در طب دارو درمانی دارند. امروزه داروهای گیاهی در بسیاری از قسمت های اروپا به روش های علمی و کاملاً مشخص در درمان بیماری ها مورد استفاده قرار می گیرند و اغلب این داروها نیز به عنوان داروهای مکمل و کمکی همراه با روش های درمانی جدید تجویز می گردند (Pizzorno & Murrany, 1995). امروزه استفاده از عصاره های گیاهی و مواد شیمیایی خالص استخراج شده از گیاه

قاعدگی، مسهل، زیاد کننده ترشح شیر، ضد التهاب و آنالژیک (ضد درد) است (Merat & Fallahzadeh, 1996 ; Paradise, 2008).

هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره هیدروالکی میوه گیاه سیاه‌دانه بر سیستم ایمنی و پروتئین‌های خون در موش کوچک آزمایشگاهی می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۸۹ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان) انجام پذیرفت و روش کار آن بر اساس قوانین بین‌المللی طراحی گردیده و در کمیته اخلاق دانشگاه نیز به تصویب رسید.

در این تحقیق از موش‌های آزمایشگاهی نژاد Balb/C و دارای محدوده وزنی 5 ± 30 گرم استفاده شد. نمونه‌ها به صورت تصادفی در گروه‌های مختلف تقسیم بندی شدند. نمونه‌های مورد مطالعه به مدت یک ماه برای سازگاری با محیط در شرایط آزمایشگاهی قرار گرفتند در مدت نگهداری و تزریقات موش‌ها در دوره روشنائی/ تاریکی طبیعی، در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد رطوبت و نور کافی قرار داده شدند. تغذیه موش‌ها توسط غذای آماده استاندارد و بدون محدودیت در آب و خوراک انجام گرفت. در این تحقیق موش‌ها به چهار گروه تقسیم شدند و سپس هر گروه به شرح زیر در دستجات ۸ تایی تقسیم بندی شدند:

گروه شاهد: این گروه بدون هیچ‌گونه تزریق عصاره و صرفاً جهت دریافت SRBC و مقایسه با گروه‌های تیمار مورد استفاده قرار گرفتند.

گروه تیمار ۱: ده تزریق هر کدام شامل ۰/۵ سی سی عصاره هیدروالکی سیاه‌دانه با دوز 50 mg/kg به مدت ۲۰ روز به صورت یک روز در میان به این گروه تزریق شد.

گروه تیمار ۲: ده تزریق هر کدام شامل ۰/۵ سی سی عصاره هیدروالکی سیاه‌دانه با دوز 100 mg/kg به مدت ۲۰ روز به صورت یک روز در میان به این گروه تزریق شد.

گروه تیمار ۳: ده تزریق هر کدام شامل ۰/۵ سی سی عصاره هیدروالکی سیاه‌دانه با دوز 200 mg/kg به مدت ۲۰ روز به صورت یک روز در میان به این گروه تزریق شد.

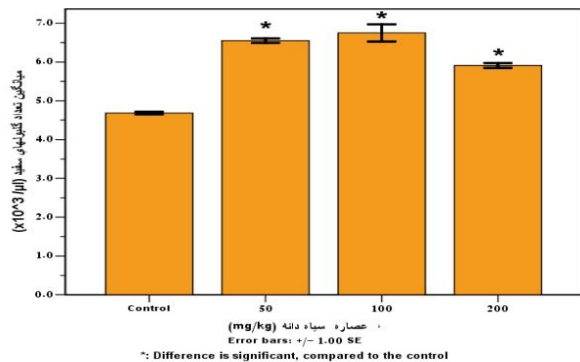
پس از بررسی‌های آزمایشگاهی در درمان بیماری‌ها استفاده می‌شوند (Jesse et al., 1997).

گیاه سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella sativa* L. از خانواده آلاله^۱ می‌باشد. سیاه‌دانه، گیاه علفی و یک ساله می‌باشد که در مناطق گرم و خشک به خوبی رشد می‌کند. از قدیم این گیاه را خصوصاً در کشورهای گرمسیری می‌کاشته‌اند و موطن اصلی این گیاه جنوب اروپا و آسیای غربی بوده است (Vahdati et al., 2005). اندام مورد استفاده آن دانه است. میوه آن به صورت کپسولی است که در آن دانه‌های سیاه و معطری قرار دارد. گیاه سیاه دانه بیش از ۲۰۰۰ سال است که به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده است. این گیاه در مصر بیش از ۳۰۰۰ سال قدمت دارد. سیاه‌دانه در گورهای پادشاهان مصری پیدا شده است. این گیاه به عنوان افزودنی غذا و چاشنی در بیشتر کشورها استفاده می‌شود و خواص متعدد دارویی دارد (Vahdati et al., 2005).

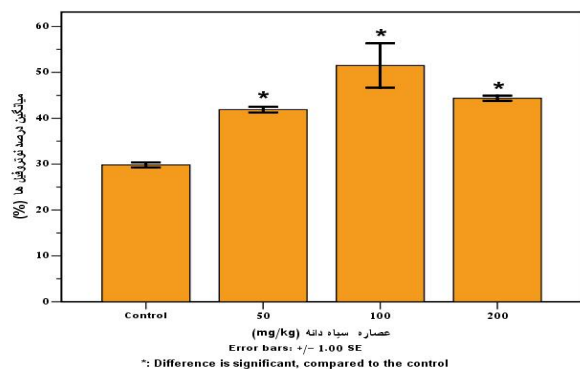
در هندوستان از زمان‌های قدیم ادویه‌ها کاربرد سنتی داشته‌اند (Lau & Adetumbi, 1983) که یک نوع آن یعنی سیاه‌دانه فعالیت‌های ضد میکروبی قوی در برابر *Saccharomyces cerevisiae*، اشریشیا کلی، *Bacillus subtilis* دارد (Santos et al., 1995). سیاه‌دانه حاوی تیموکینون (به عنوان ماده مؤثر اصلی)، آلانین، آرژنین، اسکوربیک اسید، هیدروکسی اسکوربیک اسید، آسپارژین، گلوکز، اسید گلوتامیک، گلايسين، آهن، ایزولوسین، لوسین، دلمونین، لینولئیک اسید، لیپاز، تئین، میتونین، میریستیک اسید، نگلین، نیگلون، اولئیک اسید، پالمیتیک اسید، فنیل آلانین، فیتواسترون، پتاسیم، بتاسیتواسترول، آلفا آپاسترول، سیتریک اسید، آستیک اسید، تانن و ترتونین می‌باشد و به علاوه به عنوان ماده‌ی ضد عفونی کننده و نگهدارنده غذا نیز استفاده می‌شود (Vahdati et al., 2005).

این گیاه طیف گسترده‌ای از خواص پزشکی را دارا است که شامل اثرات ضد میکروب، ضد تومور، ضد ویروس، ضد التهاب، آنتی اکسیدان، ضد لختی و انبساط ماهیچه می‌باشد (عطار، ۱۳۸۷). دانه این گیاه دارای خواص ضد کرم، ضد باکتری، ضد قارچ، منظم کننده

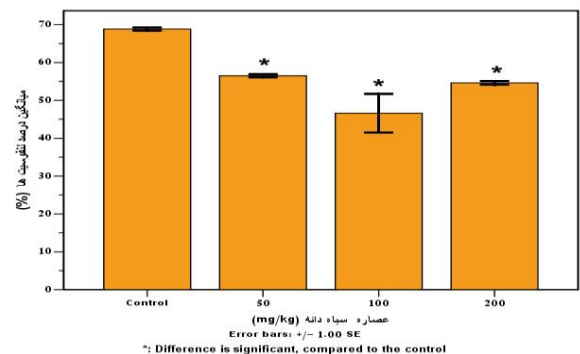
¹ Rununculaceneae



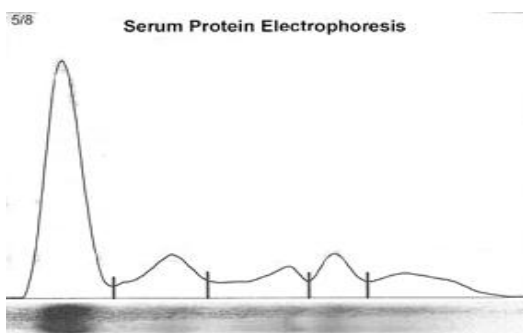
نمودار ۱. تأثیر عصاره سیاه دانه بر تعداد گلبول‌های سفید



نمودار ۲. تأثیر عصاره سیاه دانه بر تعداد نوتروفیل‌ها



نمودار ۳. تأثیر عصاره سیاه دانه بر تعداد لنفوسیت‌ها



شکل ۱. الکتروفور توگرام گروه تجربی سیاه دانه ۵۰ mg/Kg/48h

به منظور تحریک سیستم ایمنی، تزریق SRBC گلبول شسته شده‌ی گوسفندی (۱ درصد) در دو مرحله، ابتدا در فاصله تزریق پنجم و ششم و سپس در فاصله تزریق نهم و دهم به تمامی نمونه‌های شاهد و تیماری به صورت درون صفاقی تزریق شد. پس از پایان دوره تزریقات، از کلیه نمونه‌ها خون‌گیری به عمل آمده، خون درون میکروتوب‌های آغشته به ماده ضد انعقادی پنج درصد (EDTA) ریخته و به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه روتاتور قرار گرفته و بعد از این مراحل نمونه‌ها به جهت شمارش گلبول‌های سفید و الکتروفورز پروتئین‌های خون مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج حاصل از آزمایش با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح احتمال $(p < 0.05)$ و نرم افزار SPSS ۱۱.۵ انجام شد.

۳. نتایج و بحث

۳-۱. تعداد گلبول‌های سفید WBC

بررسی و شمارش تعداد گلبول‌های سفید و مقایسه در گروه‌های تجربی و شاهد نشان داد که میانگین تعداد گلبول‌های سفید در گروه تجربی دریافت کننده عصاره سیاه دانه در هر سه گروه تجربی ۱ (تیمار با دوز ۵۰ mg/kg) و ۲ (تیمار با دوز ۱۰۰ mg/kg) و ۳ (تیمار با دوز تجربی ۲۰۰ mg/kg) با گروه شاهد دارای افزایش معنی داری می باشد (نمودار ۱).

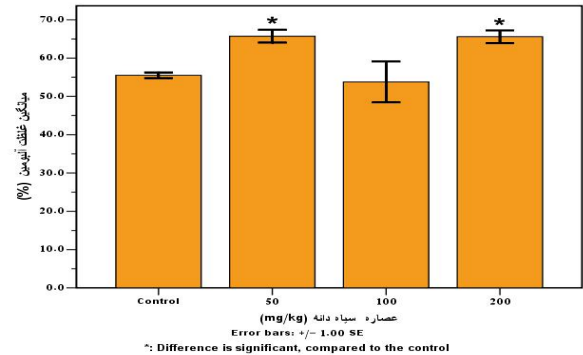
بررسی‌ها بیانگر آن است که درصد نوتروفیل‌ها در سه گروه تجربی دریافت کننده عصاره سیاه دانه نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است (نمودار ۲). شمارش تعداد لنفوسیت‌ها در گروه‌های تجربی نشان دهنده کاهش تعداد این سلول‌ها در نمونه‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه در سه دوز تجربی است (نمودار ۳).

۳-۲. الگوی الکتروفور تیک اجزای پروتئینی خون موش

در شکل ۱ به ترتیب الکتروفور توگرام مربوط به گروه‌های کنترل و تیمار با مقادیر ۵۰ mg/Kg/48h، عصاره سیاه دانه را نشان می‌دهد.

۳-۳. میزان آلبومین خون

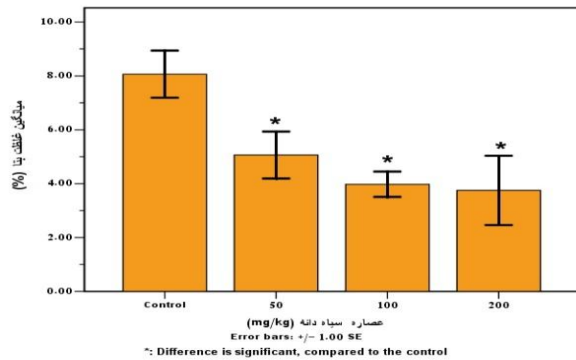
در الکتروفورز پلاسماي موش کوچک آزمایشگاهی میزان آلبومین اندازه گیری شد و نتایج آن نشان داد میزان آلبومین خون موش در دو گروه تجربی ۱ و ۳ دریافت کننده عصاره سیاه‌دانه در مقایسه با شاهد ($p < 0.05$) افزایش معنی داری داشته است (نمودار ۴).



نمودار ۴. تأثیر عصاره سیاه‌دانه بر میزان آلبومین

۳-۶. میزان بتاگلوبولین

بین میزان بتاگلوبولین موش‌های گروه‌های تجربی دریافت کننده عصاره سیاه‌دانه با گروه شاهد کاهش معنی دار دیده می‌شود (نمودار ۶).



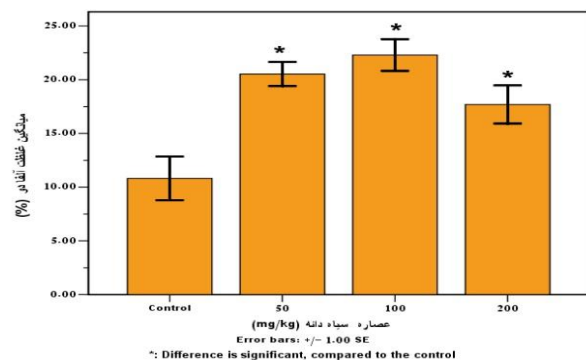
نمودار ۶. تأثیر عصاره سیاه‌دانه بر میزان بتا گلوبولین

۳-۴. بررسی میزان آلفا ۱- گلوبولین خون

بین گروه‌های تجربی دریافت کننده عصاره سیاه‌دانه و گروه شاهد میزان آلفا ۱- گلوبولین افزایش معنی داری وجود دارد.

۳-۵. میزان آلفا ۲- گلوبولین

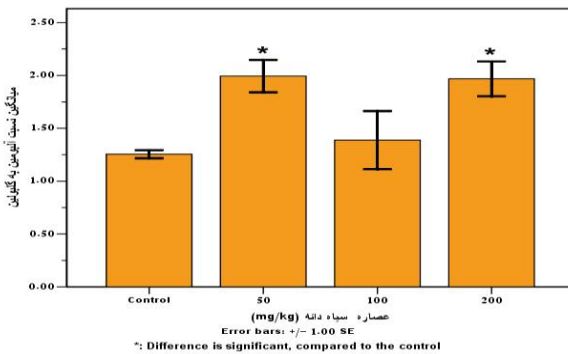
بررسی میزان آلفا ۲- گلوبولین خون موش‌های گروه تجربی دریافت کننده عصاره سیاه‌دانه در هر سه دوز تزریقی در سطح ($p < 0.05$) نشان می‌دهد که در این گروه‌ها افزایش معنی داری صورت پذیرفته است (نمودار ۵).



نمودار ۵. تأثیر عصاره سیاه‌دانه بر میزان آلفا ۲- گلوبولین

۳-۵. میزان نسبت A/G

مقایسه میزان نسبت A/G (آلبومین به گلوبولین) در گروه‌های تجربی ۱ و ۳ دریافت کننده عصاره سیاه‌دانه با استفاده از آزمون دانکن نشان داد این نسبت در این گروه‌ها دارای افزایش معنی داری با گروه شاهد می‌باشد (نمودار ۷).



نمودار ۷. تأثیر عصاره سیاه‌دانه بر میزان نسبت A/G (آلبومین به گلوبولین)

با توجه به این‌که در طب سنتی استفاده از گیاه دارویی سیاه‌دانه در تقویت سیستم ایمنی توصیه شده است، تحقیق حاضر انجام پذیرفت. سنتز آلبومین در بیماری‌های مختلف به خصوص در

اثرات تحریک سیستم ایمنی با دریافت گیاهان دارویی گوناگونی، روی ماهی قزل آلابی رنگین کمانی (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی شده است (Dugenci et al., 2003; Koscicnly, 1999). برای این منظور به ماهی رژیم غذایی شامل عصاره آبی دارویش (*Viscum album*)، گزنه (*Urtica dioica*) و زنجبیل (*Zingiber officinale*) داده شد. غذا حاوی عصاره خشک این گیاهان به مقدار ۰/۱ و ۱ درصد برای ۲ درصد از وزن بدن در هر روز به مدت سه هفته، بود. ماهی قزل آلابی رنگین کمانی به خصوص در گروهی که غذای حاوی ۱ درصد عصاره آبی از پودر ریشه زنجبیل برای سه هفته دریافت کرده بود، پاسخ معنی داری از سیستم ایمنی غیراختصاصی را نشان داد. فاگوسیتوزها و فعالیت از هم پاشی خارج سلولی لکوسیت های خونی، افزایش معنی داری در این گروه در مقایسه با گروه کنترل داشت.

۴. نتیجه گیری

نتایج این مطالعه بر روی موش های کوچک آزمایشگاهی نشان داد که با تزریق عصاره سیاهدانه، مقدار نسبت آلبومین به گلبولین در گروه های تزریقی سیاهدانه به طور معنی داری افزایش یافته است. مقدار آلبومین و گلبولین ها و هم چنین نسبت این دو پروتئین تصویرری از عمل کبد را نشان می دهد. افزایش در مقدار آلبومین در سیاهدانه و افزایش در نسبت آلبومین به گلبولین در این گروه به طور معنی دار نشان می دهد که تزریق سیاهدانه باعث افزایش در فعالیت کبد می شود. سنتز آلبومین در بیماری های مختلف به خصوص در بیماری های کبدی، کاهش می یابد و در پلاسمای مبتلایان به بیماری های کبدی غالباً نسبت آلبومین به گلبولین، کاهش نشان می دهد (ملک نیا، ۱۳۷۷). در نهایت می توان با توجه به نتایج به دست آمده گیاه سیاهدانه را به عنوان گیاه دارویی موثر در سیستم ایمنی بدن مورد توجه قرار داد.

بیماری های کبدی، کاهش می یابد (ملک نیا و هم کاران، ۱۳۷۷). بنابراین افزایش مقدار آلبومین در گروه های تزریقی سیاهدانه نشان می دهد که افزایش در مقدار مصرفی سیاهدانه نه تنها تخریبی در بافت کبد را موجب نشده، بلکه احتمال می رود که باعث افزایش در فعالیت کبد می شود. در این تحقیق، افزایش معنی داری در مقدار آلفا-۱-گلبولین در گروه های سیاهدانه مشاهده شد. بیشترین جزء آلفا-۱-گلبولین ها را آلفا-۱-آنتی تریپسین تشکیل می دهد (دشتی نژاد و هم کاران، ۱۳۷۲). کمبود آلفا-۱-آنتی تریپسین با آمفیزم و نوعی بیماری کبدی ارتباط دارد (ملک نیا و هم کاران، ۱۳۷۷). آلفا-۱-آنتی تریپسین یکی از گلیکوپروتئین های خون است که در پاسخ به آماس حاد افزایش می یابد ولی این افزایش از نقطه نظر بالینی ویژگی اندکی دارد و مختص به بیماری خاصی نیست (دشتی نژاد و هم کاران، ۱۳۷۲). استفاده از عصاره سیاهدانه در این مطالعه، افزایش معنی داری را در مقدار آلفا-۲-گلبولین در گروه های تجربی نشان می دهد. در سندروم نفروتیک، با از دست رفتن سایر پروتئین های کوچک، مقدار آلفا-۲-ماکروگلوبولین به ده برابر یا حتی بیشتر افزایش می یابد (دشتی نژاد و هم کاران، ۱۳۷۲). در این بیماری پروتئین های با وزن کم به ویژه آلبومین فیلتره می شوند و در ادرار ظاهر می گردند (Celermajer & Sorensen, 1994; Jepsen et al., 2000). و در الگوی الکتروفورزی افت آلبومین و آلفا-۱-گلبولین و افزایش آلفا-۲-ماکروگلوبولین به چشم می خورد (دشتی نژاد، ۱۳۷۲). در حالی که در این تحقیق سه ویژگی مذکور در اثر تزریق عصاره سیاهدانه افزایش یافته است. افزایش مقدار آلبومین، آلفا-۱-گلبولین و آلفا-۲-گلبولین در گروه های تجربی دریافت کننده عصاره سیاهدانه، نشان می دهد که احتمالاً مقادیر افزایش یافته این ترکیبات، تغییری در نفوذپذیری مویرگ های گلوامرولی ایجاد نکرده است. در این مطالعه، کاهش معنی داری در مقدار بتا-گلبولین تحت تأثیر عصاره سیاهدانه به چشم می خورد. تغییر معنی دار در مقدار ایمونوگلوبولین ها در گروه های تحت مطالعه در اثر تزریق سیاهدانه نشان می دهد که سیستم ایمنی، در این گروه ها تحریک شده و تزریق عصاره مذکور پاسخی را در گروه های دریافت کننده ایجاد کرده است.

well being. *British Journal of Clinical Research*, 6: 91-106.

Vahdati Mashhadian, N., Rakhshandeh, H. and Omidi, A. 2005. An investigation on LD₅₀ and subacutehepatic toxicity of *Nigella sativa* seed extract in mice. *Department of Pharmacology, Mashhad University of Medical Sciences*, 60 (7): 544-547.

۵. منابع

دشتی نژاد، و هم‌کاران. ۱۳۷۲. بیوشیمی بالینی (دیوید سون). چاپ اول. انتشارات آوا. ص ۲۱۸-۲۱۳ و ۲۲۵.

عطار. ۱۳۸۷. گیاهان دارویی سینا. ص: ۲۲

ملک نیا، ن.، شهبازی، پ.، کریم زاده، ح.، رفتاری، ع.، ابطحی، م. ۱۳۷۷. بیوشیمی هارپر (ترجمه). جلد دوم. انتشارات شهرآب.

Celermajer, D.S. and Sorensen, K.E. 1994. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age related decline in women. *Journal of the American College of Cardiology*, 24: 471-476.

Dugenci, S.K., Arda, N. and Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1): 99-106.

Jepson, R.G., Kleijnen, J. and Leng, G.C. 2000. Garlic for peripheral arterial occlusive disease. *Cochrane Database Of Systematic Reviews*, 2: 1469-1493.

Jesse, J., Mohseni, M. and Shah, N. 1997. Medical attributes of *Allium sativum* (garlic). *American Journal of Botany*, 81: 89-95.

Koscicnly, J., Klussendorf, D. and Lateza, R. 1999. The antitrombic effect of garlic. *Atherosclerosis*, 144: 237-249.

Lau, B.H. and Adetumbi, M.A. 1983. *Allium sativum* and atherosclerosis: A review, 3: 119-128.

Merat, A. and Fallahzadeh, M. 1996. Effect of garlic on some blood lipids and hmgoca reductase activity. *Iranian Journal Medical Science*, 21: 141-146.

Paradise, L.A. Black cumin seed extract. [cited 2008]. Available from: URL: <http://www.answers.com/topic/black-cumin-seed-extract>.

Pizzorno, O. and Murrany, 1995. A Textbook of Natural Medicine. Seattle, Bastyr.

Santos A, 1995. Effects of garlic powder and garlic oil preparations on blood lipids, blood pressure and