فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۵، شمارهٔ ٤، صفحهٔ ۵۸۰-۵۷۲ (۱۳۸۸)

بررسی فعالیت فیبرینولیتیک عصاره پلی‌فنلیک زردچوبه (*Curcuma domestica* Valet.)، دارچین (*Cinnamomum verum* J.Presl)، گلپر (*Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) در محیط برون‌تنی

غلامعلی نادری[۱]، نرگس جعفری دینانی[۲]*، نیکو نجابت[۳]، مریم کلاردشت[٤]، عباس جعفریان دهکردی[۵]، صدیقه عسگری[٦] و راهله شامی[۷]

۱- دانشیار، بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات قلب و عروق
۲*- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، پست الکترونیک: njdinani@gmail.com
۳- کارشناس بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان
٤- کارشناس بیوشیمی و عضو رسمی باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان
۵- استاد، فارماکوگنوزی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
٦- دانشیار، فارماکوگنوزی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات قلب و عروق
۷- دکترای داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۸۷ تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۸

چکیده

اختلالات هموستاتیک منجر به ایجاد لخته‌های نابجا و ترومبوآمبولی می‌گردد. داروهای فیبرینولیتیک نظیر استرپتوکیناز و اوروکیناز برای درمان ترومبوآمبولی بکار می‌روند. این داروها محدودیت‌هایی دارند و سبب ایجاد اثرهای ناخواسته و گاهی مرگبار می‌شوند. ترکیبهای گیاهی به‌عنوان ترکیبهایی سالم و بدون اثر جانبی در نظر گرفته می‌شوند. با نظر به اینکه چهار گیاه زردچوبه (*Curcuma domestica* Valet.)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.)، دارچین (*Cinnamomum verum* J.Presl) و گلپر (*Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer) در طب سنتی به‌عنوان گیاهان ضد انعقاد و رقیق‌کننده خون معرفی شده‌اند، در این مطالعه اثرهای فیبرینولیتیک این گیاهان مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی اثر فیبرینولیتیک، فیبرینوژن نشاندار شده با FITC با پلاسمای انسانی مخلوط و به آن ca^{+2} اضافه گردید. عصاره پلی‌فنلی تهیه شده چهار گیاه ذکر شده در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۵، ۵ و ۵۰ (mg/ml) به تنهایی و همراه با استرپتوکیناز به لخته نشاندار اضافه شدند و ۱۰، ۲۰، ٤۰ و ٦۰ دقیقه پس از اضافه نمودن عصاره‌ها فلورسانس ناشی از *FITC* تعیین گردید (*Em*=۵۱۰ و *Ex*=٤۷۸). نتایج نشان می‌دهند که عصاره‌های آویشن شیرازی، دارچین و زردچوبه دارای اثر فیبرینولیتیک می‌باشند. این اثرها معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) و وابسته به دوز می‌باشند. عصاره گلپر اثر فیبرینولیتیک معنی‌داری ندارد. اثر فیبرینولیتیکی ناشی از استرپتوکیناز در حضور عصاره آویشن شیرازی به صورت وابسته به دوز افزایش می‌یابد. در حضور عصاره زردچوبه و دارچین فقط در غلظت‌های ۵ و ۵۰ (mg/ml) اثر فیبرینولیتیکی ناشی از استرپتوکیناز به صورت معنی‌دار افزایش می‌یابد ($p\leq ۰/۰۵$). عصاره گلپر تأثیری بر اثر فیبرینولیتیک استرپتوکیناز ندارد. بنابراین می‌توان گفت که آویشن شیرازی دارای بیشترین اثر فیبرینولیتیک و پس از آن به‌ترتیب دارچین و زردچوبه دارای اثر فیبرینولیتیک معنی‌دار هستند و می‌توانند در شرایط آزمایشگاهی سبب حل لخته شوند. در پایان، پیشنهاد می‌شود که ترکیبهای موجود در این گیاهان که سبب حل لخته می‌شوند بررسی و همچنین خصوصیت حل لخته توسط این گیاهان در محیط *In vivo* در تحقیقات آینده شناسایی شوند.

واژه‌های کلیدی: فیبرینولیتیک، ترومبوآمبولی، زردچوبه (*Curcuma domestica* Valet.)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.)، دارچین (*Cinnamomum verum* J.Presl)، گلپر (*Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer).

مقدمه

بخشی از فعالیت طبیعی سیستم هموستاز بدن عملکرد فیبرینولیتیکی آن می‌باشد که به دنبال تشکیل لخته بلافاصله آغاز می‌شود. هموستاز طبیعی بدن به مشارکت پیچیده اجزای متعددی جهت پیدایش یک پلاک هموستاتیک در محل آسیب‌دیدگی عروق گفته می‌شود. پلاک هموستاتیک به دنبال فعال شدن گیرنده اختصاصی سطح پلاکتها، ترشح گرانولهای درون آنها و تجمع پلاکتها در محل آندوتلیوم آسیب‌دیده ایجاد می‌شود که نقش اساسی در کنترل و توقف خونریزی از وریدهای کوچک، مویرگها و شریانها دارد (Pachham, 1994؛ Dahlback, 2000؛ Baruah *et al.*, 2006).

بنابراین اختلال در سیستم هموستاتیک می‌تواند زمان خونریزی را زیاد کند و یا باعث ترومبوآمبولی شود. ترومبوآمبولی سبب اختلال در خون‌رسانی به اندامهای بدن می‌گردد (Stiene-Martin *et al.*, 1997؛ Simmons, 1993) و نقش اساسی در ایجاد بیماریهای ترومبوآمبولیک مثل انفارکتوس‌های قلبی و مغزی دارد. عوامل ترومبولیتیک مثل فعال‌کننده پلاسمینوژن بافتی، اروکیناز و استرپتوکیناز برای معالجه این گونه بیماریها بکار می‌روند. کاربرد این داروها با افزایش ریسک هموراژ و آنافیلاکسی‌های شدید همراه است (Wardlaw *et al.*, 2004؛ Capstick & Henry, 2005؛ Prasad *et al.*, 2007).

با توجه به مطالب فوق مطالعات گسترده‌ای در جهت یافتن گیاهانی با خاصیت فبیرینولیز که نسبت به داروهای سنتتیک نیز عوارض کمتری داشته باشند صورت می‌گیرد (Sweta *et al.*, 2007؛ Makino *et al.*, 2002؛ Levine, 2001؛ Zimbelman, 2000).

از آنجایی که موضوع مورد نظر این تحقیق بررسی خاصیت فیبرینولیز گیاهان بود، گیاهان دارای خواص ضد چسبندگی پلاکتی، ضد انعقاد و رقیق‌کننده خون کاندید مناسبی برای بررسی وجود و یا عدم وجود خاصیت فیبرینولیز بودند. بر همین اساس چهار گیاه آویشن شیرازی، زردچوبه، دارچین و گلپر که در طب سنتی به اثر مطلوب آنها بر سیستم گردش خون اشاره شده انتخاب و وجود خاصیت فیبرینولیز در آنها بررسی گردید (میرحیدر، ۱۳۷۲؛ زرگری، ۱۳۷۰).

مواد و روشها

برگ گیاه آویشن شیرازی در فروردین‌ماه از اطراف دزفول، میوه گلپر در اسفندماه از ییلاقات اطراف تهران، ریزوم دارچین و زرچوبه از بازار گیاهان دارویی تهیه شدند. پس ازشناسایی و تهیه نمونه هرباریمی از هر گیاه، گیاهان مورد نظر خشک، پودر و با الک شماره ۱۲ الک گردید.

برای تهیه عصاره فلاونوئیدی، پودر گیاهان مورد نظر به مدت ٤۸ ساعت در اتانول ۹۰٪ قرار داده شد. بعد از عبور دادن هر نمونه از صافی، تفاله‌ها به مدت ٤۸ ساعت در اتانول ۵۰٪ قرار داده شدند. محلول حاصل از صاف نمودن مرحله اول و دوم مخلوط و به وسیله دستگاه تقطیر در خلأ، الکل آن جدا گردید. بعد از جداسازی الکل محلول به وسیله کلروفرم دکانته و بعد در شرایط استریل و دمای مناسب خشک گردید (صمصام شریعت و همکاران، ۱۳۷۱). با این روش از هر ۱۰۰ گرم پودر گیاه آویشن شیرازی، زرچوبه، دارچین و گلپر به‌ترتیب حدود ۸/٤، ٦، ۵ و ٦ گرم عصاره بدست آمد. عصاره خشک در دی‌متیل‌سولفوکسید حل و به‌عنوان محلول استوک جهت

تهیه غلظت‌های مورد استفاده در تحقیق (۰/۰۵، ۰/۵، ۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بکار رفت.

جهت بررسی اثر فیبرینولیتیک گیاهان یاد شده، فیبرینوژن استریل خشک شده انسان تهیه و بعد محلول ۲ درصد حاصل از آن را با فلوئورسئین ایزوتیوسیانات (FITC) نشان‌دار کردیم. FITC ماده‌ای زرد رنگ با فرمول شیمیایی $C_{21}H_{11}NO_5S$ است. این ماده در محیط قلیایی (pH اپتیییم=۸) و بعد از ٢٤ ساعت انکوباسیون در دمای ٤̊C با گروه‌های آمین زنجیره‌های جانبی اسید آمینه ترکیب می‌شود. FITC با نسبت ۱ به ۲ به محلول فیبرینوژن اضافه و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٤̊C جهت تشکیل کمپلکس فیبرینوژن- فلوئورسئین ایزوتیوسیانات (FITC-FIB) انکوبه شد. بعد محلولی از سفادکس ۲۵ را درون بورت ریخته و محلول حاوی کمپلکس در مقادیر ۵ ml و به فواصل ۲۰ دقیقه جهت جدا کردن FITC آزاد از کمپلکس، روی آن ریخته شد. پس از تهیه محلول کمپلکس FIB-FITC با غلظت ۰/۱ mg/ml از محلول $CaCl_2$ به نحوی به آن اضافه گردید تا غلظت نهایی $CaCl_2$ در محیط ۲۰mmol/l باشد. این مخلوط به مدت ۸۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و بعد به منظور ته‌نشین شدن لخته در ته لوله به مدت ۱۵ دقیقه در ٤۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. برای حذف مقادیر اضافی کمپلکس، فیبرینوژن و FITC آزاد و $CaCL_2$، لخته با بافر ۰/۱ مولار شستشو داده شد(Sakharov & Rijken, 2000).

بدین ترتیب برای مشخص کردن طول موجهای Exitation و Emission با بکارگیری سه غلظت از استرپتوکیناز و با توجه به محدوده ارائه شده در مرجع طول موج Em و Ex آنقدر تغییر داده شد تا جایی که طول موجهایی بدست آمد که در آنها بالاترین میزان فلورسانس از نمونه قرائت گردید. در نتیجه، مقادیر مشخص شده طول موجها (Em =۵۱۰ و Ex =٤۷۸) به دستگاه فلوریمتر داده شد و دستگاه صفر شد (Sakharov & Rijken, 2000 ؛Remington, 2002).

بنابراین جهت بررسی اثر فیبرینولیتیک استرپتوکیناز، ابتدا ۱۰ غلظت مختلف از استرپتوکیناز تهیه و به لوله‌های حاوی لخته نشان‌دار و پلاسما افزوده شد. نمونه‌گیری در زمانهای ۱۰، ۲۰، ٤۰ و ٦۰ دقیقه پس از مجاورت استرپتوکیناز با محیط صورت گرفت (جهت نمونه‌گیری، از محیط آزمایش ۳۰۰ µl/ml برداشته و با افزودن بافر فسفات به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد). طول موجهای Em =۵۱۰ و Ex =٤۷۸ به دستگاه داده شد و بعد از صفر کردن دستگاه میزان فلورسانس نمونه‌ها قرائت شد.

پس از آن جهت بررسی اثر عصاره‌ها بر میزان فلورسانس محیط به تنهایی و در حضور استرپتوکیناز از محلول استوک هر عصاره چهار غلظت تهیه شد و ۱۰۰ µl از هر غلظت به لوله‌های حاوی پلاسما و لخته نشان‌دار جهت بررسی اثر عصاره‌ها به تنهایی اضافه گردید. جهت بررسی اثر عصاره‌ها بر میزان فلورسانس محیط در حضور استرپتوکیناز ۱۰۰ μl از هر غلظت به لوله‌های حاوی پلاسما، لخته نشان‌دار و ۵۰۰unit/ml استرپتوکیناز (غلظتی از استرپتوکیناز که با میزان فلورسانس ایجاد شده رابطه مستقیم برقرار نمود) اضافه گردید. نمونه‌گیری از لوله‌ها در زمانهای۱۰، ۲۰، ٤۰ و ٦۰ دقیقه پس از مجاورت نمونه‌ها با محیط انجام شد و میزان فلورسانس قرائت شد.

برای حذف اثر عصاره‌ها در فلورسانس نمونه‌های مورد آزمایش، هر یک از عصاره‌ها را به‌طور جداگانه و به میزان بالاترین غلظت مطالعه شده در این مطالعه در محیط

پلاسمایی حاوی لخته غیرنشان‌دار وارد نموده و در مقایسه با نمونه‌هایی که تنها حاوی پلاسما و لخته غیرنشان‌دار بود، فلورسانس احتمالی ناشی از عصاره اندازه‌گیری شد. همچنین جهت حذف اثر اجزای حاصل از لیز لخته بر فلورسانس بدست آمده از نمونه‌های مورد بررسی، بالاترین و پایین‌ترین غلظت استرپتوکیناز را در محیط لخته غیر نشان‌دار وارد کرده و با مقایسه فلورسانس این نمونه و نمونه‌ای که تنها حاوی لخته غیر نشان‌دار و پلاسما بود، تولید و عدم تولید فلورسانس از نمونه مورد نظر کنترل گردید.

آنالیز آماری

نتایج به صورت Mean±SD با منظور نمودن انحراف معیار نمونه‌ها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه آماری از نرم‌افزار SPSS13 استفاده شد. بدین منظور از ANOVA و متعاقباً Tukey test جهت مشخص نمودن اختلافات معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف هر عصاره و میان هر یک از عصاره‌ها و استرپتوکیناز استفاده شد. کلیه شکلهای مربوط نیز در برنامه نرم‌افزاری Excel رسم شد.

نتایج

استرپتوکیناز به صورت وابسته به دوز باعث افزایش حل لخته و در نتیجه افزایش میزان فلورسانس محیط گردید. در محدوده ٤۰۰ تا ۷۰۰ واحد در میلی‌لیتر، بین غلظت استرپتوکیناز و میزان فلورسانس رابطه خطی مشاهده شد. حداکثر فلورسانس محیط که نمایانگر حداکثر میزان لیز لخته می‌باشد در غلظت ۷۰۰ واحد در میلی‌لیتر ثبت شد و با افزایش غلظت استرپتوکیناز، افزایشی در فلورسانس محیط مشاهده نشد (شکل ۱). در ضمن بین افزایش زمان مجاورت استرپتوکیناز و افزایش اثر هیچ گونه ارتباط مستقیمی مشاهده نشد. به‌طوری که اندازه‌گیری میزان فلورسانس محیط در دقایق ۱۰، ۲۰، ٤۰ و ٦۰ پس از افزودن استرپتوکیناز تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (نتایج مربوط به این اثر در شکل گزارش نشده است).

نتایج مربوط به تاثیر عصاره‌ها بر میزان حل لخته و در نتیجه افزایش فلورسانس در شکل ۲ نمایش داده شده است. همان گونه که از روی شکل ۲ مشخص است عصاره آویشن شیرازی به صورت وابسته به دوز سبب لیز لخته و افزایش میزان فلورسانس می‌گردد. افزایش زمان مجاورت عصاره با لخته، باعث افزایش محسوسی در لیز لخته است و در نتیجه افزایش فلورسانس ایجاد نمی‌کند و به عبارتی رابطه فلورسانس- زمان مشاهده نمی‌گردد. (رابطه فلورسانس- زمان در شکل بیان نشده است).

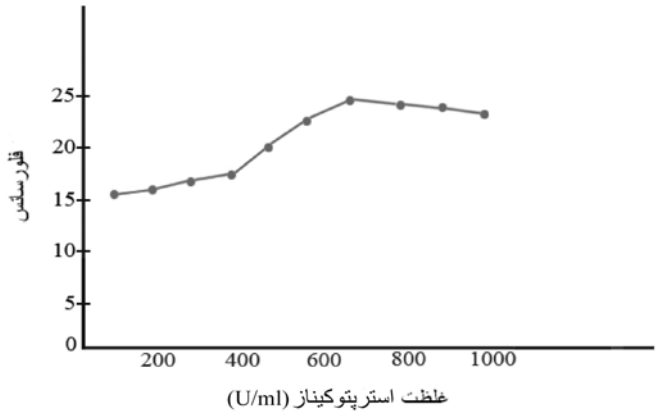
عصاره زردچوبه به صورت وابسته به دوز سبب لیز لخته و افزایش میزان فلورسانس می‌گردد. البته میزان فلورسانس در غلظت‌های ۰/۵۰ و ۰/۰۵۰ عصاره زردچوبه بسیار کم و قابل چشم‌پوشی است و تفاوت معنی‌داری بین این دو غلظت مشاهده نمی‌گردد. تفاوت میزان فلورسانس در غلظت‌های ۵ و ۵۰ معنی‌دار است (شکل ۲).

عصاره دارچین به صورت وابسته به دوز سبب لیز لخته و افزایش میزان فلورسانس می‌گردد. تفاوت میزان فلورسانس در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۵، ۵ و ۵۰ معنی‌دار است (شکل ۲).

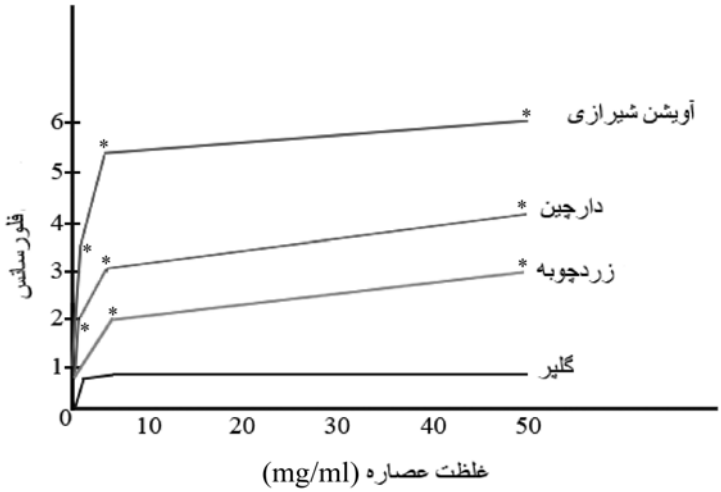
فلورسانس ناشی از هر چهار غلظت عصاره گلپر تقریباً یکسان بوده و اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود ندارد. افزایش زمان مجاورت عصاره با لخته، افزایش محسوسی در

لیز لخته و در نتیجه افزایش فلورسانس ایجاد نمی‌کند و به عبارتی رابطه فلورسانس- زمان مشاهده نمی‌گردد. (شکل ۲) (رابطه فلورسانس- زمان در شکل بیان نشده است). رابطه فلورسانس-زمان در مورد عصاره دارچین و زردچوبه نیز مشاهده نمی‌گردد.

میزان فلورسانس ناشی از حل لخته توسط استرپتوکیناز در حضور غلظت‌های مختلف هر یک از عصاره‌ها در شکل ۳ نشان داده شده است. عصاره آویشن شیرازی به صورت وابسته به دوز باعث افزایش فلورسانس ناشی از حل لخته توسط استرپتوکیناز می‌گردد. البته غلظت ۰/۰۵ mg/ml این عصاره اثر افزاینده محسوسی ندارد. عصاره دارچین و زردچوبه تنها در غلظت ۵۰ mg/ml باعث افزایش معنی‌دار فلورسانس ناشی از حل لخته توسط استرپتوکیناز می‌گردد. عصاره گلپر در هیچ یک از غلظت‌های بکار رفته در حضور استرپتوکیناز اثر افزایشی بر فلورسانس ناشی از حل لخته توسط استرپتوکیناز نشان نمی‌دهد (شکل ۳).

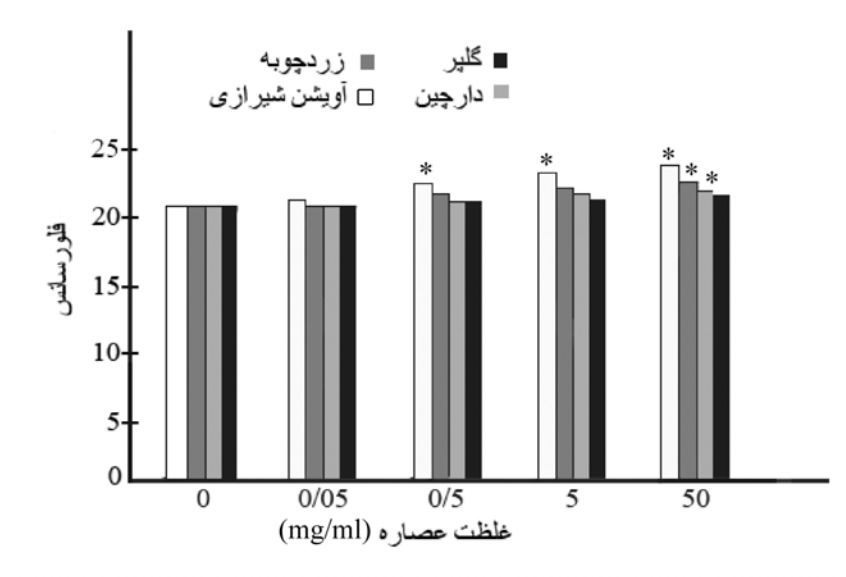


شکل ۱- تغییرات فلورسانس ناشی از فلوئورسئین ایزوتیوسیانات (FITC) در برابر غلظت‌های مختلف استرپتوکیناز



شکل ۲- تغییرات فلورسانس ناشی از فلوئورسئین ایزوتیوسیانات (FITC) در برابر غلظت‌های مختلف عصاره‌های آویشن شیرازی، زردچوبه، دارچین و گلپر

*اختلاف معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف هر عصاره



شکل ۳- تغییرات میزان فلورسانس ناشی از فلوئورسئین ایزوتیوسیانات (FITC) در غلظت‌های مختلف عصاره‌های آویشن شیرازی، زردچوبه، دارچین و گلپر در حضور ۵۰۰U/ml استرپتوکیناز

*: اختلاف معنی‌دار در مقابل فلورسانس ناشی از FITC در حضور ۵۰۰U/ml استرپتوکیناز

بحث

عصاره آویشن باعث افزایش قابل‌توجهی در فلورسانس محیط گردید که بیانگر اثر فیبرینولیز قابل توجه این گیاه می‌باشد. خاصیت فیبرینولیتیک عصاره این گیاه وابسته به دوز و غیر وابسته به زمان بود. همچنین در حد قابل توجهی باعث افزایش فلورسانس ناشی از لیز لخته توسط استرپتوکیناز در محیط گردید که به صورت وابسته به دوز و غیر وابسته به زمان بوده و بیانگر تأثیر سریع عصاره آویشن در طی دقایق اولیه می‌باشد. قابل ذکر است که عصاره آویشن نسبت به عصاره سایر گیاهان مورد مطالعه در این طرح افزایش بیشتری در فلورسانس محیط ایجاد نمود. این در حالی بود که در حضور استرپتوکیناز نیز در مقایسه با سایر عصاره‌های گیاهی اثر افزایشی بیشتری در میزان لیز لخته توسط استرپتوکیناز اعمال نمود که با توجه به نتایج حاصل در مرحله اول و بدون حضور استرپتوکیناز قابل انتظار بود. عصاره آویشن حاوی ترکیبهایی مثل رزمارینیک اسید است. Rampart و Bult (۱۹۹۸) گزارش کردند که رزمارینیک موجود در عصاره آویشن اثر ضد لخته و ضد انعقاد دارد. همچنین در طب سنتی اشاره به قدرت رقیق‌کنندگی خون و حل شدن لخته خون در اندام توسط این گیاه گزارش شده که با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد (میرحیدر، ۱۳۷۲).

عصاره زردچوبه اثر فیبرینولیتیکی کمی از خود نشان داد که این اثر وابسته به غلظت و غیر وابسته به زمان بود، به طوری که پس از افزودن عصاره زردچوبه به محیط حامل لخته در حضور استرپتوکیناز تنها بالاترین غلظت عصاره باعث افزایش در قدرت لیز لخته توسط استرپتوکیناز شده و فلورسانس محیط را به صورت معنی‌دار افزایش داد. به بیان دیگر، اسانس و عصاره این گیاه تنها در غلظت‌های بالا اثر افزایشی بر قدرت فیرینولیز

استرپتوکیناز اعمال می‌نماید. در صورتی که در ارتباط با اثر لیز لخته توسط عصاره به صورت منفرد رسیدن به چنین نتیجه‌ای منطقی می‌باشد. اثر ضد تجمع پلاکتی زردچوبه (Ammon *et al.,* 1993) و ذکر خاصیت رقیق‌کنندگی و افزایش جریان خون برای این گیاه (Mills.& Bone, 2000) گزارش شده است. همچنین مشخص شده که ماده کورکومین که در زردچوبه وجود دارد به صورت *in vivo* باعث افزایش فیبرینولیز در مدل حیوانی می‌گردد (Cang, 1997).

در مورد عصاره دارچین اثر فیبرینولیتیک کم و وابسته به غلظت بود. با گذشت زمان افزایشی در میزان لیز لخته مشاهده نشد. بکارگیری عصاره این گیاه در محیط پلاسمایی نشان داد که تنها بالاترین غلظت عصاره قادر به ایجاد اثر افزایشی معنادار در قدرت لیز لخته توسط استرپتوکیناز می‌باشد و با توجه به مباحث فوق این نتیجه منطقی به نظر می‌رسد. خاصیت حل لخته برای ترکیب اورژنول در منابع (Rasheed, 1981) و وجود این ترکیب در دارچین، وجود ترکیبهای کومارینی در گیاه و ذکر خاصیت افزایش جریان خون محیطی توسط دارچین (Newall *et al.*, 1996) می‌تواند دلایل وجود خاصیت فیبرینولیتیک در این گیاه باشد.

پس از بکارگیری غلظتهای مختلف عصاره گیاه گلپر در محیط پلاسمایی حامل لخته، نتایج نشان داد که عصاره این گیاه را می‌توان فاقد اثر فیبرینولیتیک دانست. بکارگیری عصاره گلپر در محیط پلاسمایی و در حضور استرپتوکیناز هیچ گونه اثر افزایشی معناداری را در میزان فلورسانس ناشی از لیز لخته توسط استرپتوکیناز نشان نداد که با توجه به نتایج حاصل از قدرت حل لخته توسط عصاره و اسانس گیاه به تنهایی این نتیجه دور از انتظار نبود. مطالعات انجام شده بر روی بخش‌های مختلف گیاه گلپر نشان داده که فورانوکومارینهای موجود در ریشه، میوه و برگ گلپر خاصیت ضد انعقاد خون دارد (fritz & Fintelman, 2000). بنابراین می‌توان گفت که این گیاه ممکن است برای فعالیت‌های آنتی‌ترومبوتیک و ضد تجمع پلاکتی کاندید مناسبی باشد، اما خاصیت فیبرینولیتیک قابل توجهی از خود نشان نمی‌دهد.

در پایان پیشنهاد می‌شود که ترکیبهای شاخص گیاهانی که اثر فیبرینولیتیک قابل توجهی از آنها گزارش شد جداسازی و پس از انجام مراحل تغلیظ و خالص‌سازی، تحت آزمونهای *in vivo* و *in vitro* اثر فیبرینولیتیک آنها در مدلهای حیوانی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین پارامترهایی نظیر دوز مؤثر این ترکیبها، بررسی آلرژی‌زا بودن یا نبودن این ترکیبها و احتمال ایجاد خونریزی به علت غیر انتخابی عمل نمودن آنها، تحت آزمون قرار گیرد تا در صورت تأیید بتوان مصرف این ترکیبها را در قالب یک فرم دارویی قابل قبول و یا به صورت بخشی از رژیم غذایی بیماران با سابقه اختلالات قلبی عروقی مورد بررسی قرار داد.

منابع مورد استفاده

- صمصام شریعت، ه.، معطر، ف. و افشاری‌پور، س.، ۱۳۷۱. درمان با گیاه، مبانی نسخه‌پیچی گیاهی. مؤسسه انتشاراتی مشعل، اصفهان، ۲۳۶ صفحه.
- میرحیدر، ح.، ۱۳۷۲. معارف گیاهی. جلد ۲، انتشارات فرهنگ اسلامی، تهران، ۷۴۹ صفحه.
- زرگری، ع.،۱۳۷۰. گیاهان دارویی. جلد ۵، انتشارات دانشگاه تهران، ۸۴۵ صفحه.
- Ammon, H.P., Safayhi, H., Mack, T. and Sabieraj, J., 1993. Mechanism of antiinflammatory action of curcumine and bowellic acids. Journal of Ethnopharmacology, 38: 105-112.

- Baruah, D.B., Dash, R.N., Chaudhari, M.R. and Kadam, S., 2006. Plasminogen activators: A comparison. Vascular Pharmacology, 44: 1-9.
- Cang, H., 1997. Pharmacology and application of chines material medicine. World Scientific, 36: 939-943.
- Capstick, T. and Henry, M.T., 2005. Efficacy of thrombolytic agents in the treatment of PE. European Respiratory Journal, 26: 864-874.
- Dahlback, B., 2000. Blood coagulation. Lancet, 355: 1627-1632.
- Fritz, R. and Fintelman, V., 2000. Herbal medicine revised and expanded. 2th ed. New York: Thieme, 1263p.
- Levine, M., 2001. Hemorrhagic complication of anticoagulant treatment. Chest, 119: 108-121.
- Makino, T.H., wakuhima, T., Okamaoto, Y., Okukubo, K., Salyo J. and Ykano, B., 2002. Effects of Kangen-karyu on coagulation system and platelet aggregation in mice. Biological Pharmaceutical Bulletin, 25(4): 523-525.
- Mills, S. and Bone, K., 2000. Principle and practice of phytotherapy. 1st ed. London: Churchil Livingston, 199p.
- Newall, C.A., Anderson, L. and Philipson, J.D., 1996. Herbal medicine guide for health care professional. The Pharmaceutical press, London, 925p.
- Pachham, M.A., 1994. Role of platelets in thrombosis and homeostasis. Journal of Physiology and Pharmacology, 72: 278-284.
- Prasad, S., Singh, K.R., Deopujari, J., Purohit, H., Taori, G. and Daginawala, H., 2007. Effect of *Fagonia arabica* (Dhamasa) on in vitro thrombolysis. BMC Complementary and Alternative Medicine, 7: 36-41.
- Rampart, M. and Bult, H., 1998. Complete dependent stimulation of prostacyclin biosynthesis: inhibitory by rosmarinic acid. Biochemical Pharmacology, 35: 1397-1400.
- Rasheed, A., 1981. Eugenol and phenolic essence: effect on prostaglandin and prostacyclin. England Journal of Medicine, 510: 50-56.
- Remington, 2002. The science and practice of pharmacy. 20th ed. Lippincott Wiliams and Wikins, London, 2393p.
- Sakharov, V. and Rijken, C., 2000. The effect of flow lysis of plasma clots in a plasma environment. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 83: 469-474.
- Simmons, M.L., 1993. Individual streptokinase assessment for intracranial hemorrhage during thrombolytic therapy. Lancet, 342: 1523-1528.
- Stiene-Martin, E.A., Lotspeich, C.A. and Koepke, J.A., 1997. Clinical hematology, principles, procedures, correlation. 2th ed., Lippist Philladellphia, NewYork, 848p.
- Sweta, P., Rajpal, S., Jayant, D., Hemant, P., Girdhar, T. and Hatim, D., 2007. Effect of *Fagonia arabica* (Dhamasa) on in vitro thrombolysis. BMC Complementary and Alternative Medicine, 7: 36-41.
- Wardlaw, J.M., Berge, E., del Zoppo, G. and Yamaguchi, T., 2004. Thrombolysis for acute ischemic stroke. Stroke, 35: 2914-2915.
- Zimbelman, J., 2000. Unusual complication of warfarin therapy: skin necrosis and priapism. Journal of Pediatric, 137: 266-268.

In vitro fibrinolytic activity by polyphenolic extract of *Zataria moltiflora* Boiss., *Curcuma domestica* Valet., *Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer and *Cinnamomum verum* J.Presl

Gh. Naderi[1], N. Jafari Dinani[2*], N. Nejabat[3], M. Kelardasht[4], A. Jafarian Dehkordi[5], S. Asgary[1] and R. Shami[5]

1- Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2*- Corresponding author, Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
E-mail: njdinani@gmail.com
3- Islamic Azad University of Flavarjan, Iran
4- Member of young researchers Club, Islamic Azad University of Flavarjan, Iran
5- Isfahan University of Medical Sciences

Received: February 2009 Revised: June 2009 Accepted: July 2009

Abstract

Disturbance in haemostatic system causes abnormal clots in vessels and thromboambolia. Streptokinas and urokinas are used for emergency treatment of thromboambolia. These drugs have certain limitations which cause serious and sometimes fatal consequences. Herbal preparations are considered to be safe and without side-effects. Since in ancient times it was reported that *Zataria moltiflora* Boiss., *Curcuma domestica* Valet., *Cinnamomum verum* J.Presl and *Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer present anticoagulant effects. This study performed to evaluate fibrinolytic effects of these plants. To evaluate fibrinolytic effects, labeled fibrinogen with FITC and Ca^{2+} was added to human plasma. Polyphenolic extracts (0.05, 0.5, 5, 50mg/ml) without and with streptokinas, were added to labeled clot. Fluorescence was determined after 10, 20, 40 and 60 minutes (Ex=478, Em= 510). Our findings show that extract of *Zataria moltiflora*, *Curcuma domestica* and *Cinnamomum verum* reveal fibrinolytic effects ($P<0.05$). This effects are significant and dose dependable, but *Heracleum persicum* had no significant fibrinolytic effect ($P>0.05$). Fibrinolytic effects of streptokinase in presence *Zataria moltiflora* are increased significantly and dose dependably. This effect in presence of *Curcuma domestica* and *Cinnamon* only in 5 and 50 mg/dl are increased. *Heracleum persicum* does not affect fibrinolytic properties of streptokinase. The present study indicate that, *Zataria moltiflora* presents best fibrinolytic effect, then *Curcuma domestica* and *Cinnamon verum* respectively reveal significant fibrinolytic effect and could lysis blood clots in vitro. Consequently, we suggest that further studies to determine *in vivo* clot dissolving properties and active component(s) of these herbs for clot lysis are warranted.

Key words: fibrinolytic, thromboambolia, *Curcuma domestica* Valet., *Zataria moltiflora* Boiss., *Cinnamomum verum* J.Presl, *Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer.