

بررسی اثر هم افزایی عصاره ترخون (*Artemisia dracunculus*) و آسپیرین (ASA) بر روی فعالیت پلاکتی

امیرحسین حیدریان^۱، محسن حمیدپور^{۲*}، عبدالمجید آیت الهی^۳، مهدی اله بخشیان فارسانی^۲

۱- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- دکترای هماتولوژی، مرکز تحقیقات سلول های بنیادی خونساز- دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- دکترای فاماگونوزی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات فیتوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

* آدرس مکاتبه: تهران، میدان قدس، خیابان دربند، دانشکده پیراپزشکی، گروه خون شناسی

صندوق پستی: ۱۹۷۱۶۵۳۳۱۳

تلفن: ۲۲۷۱۷۵۰۴ (۰۲۱)، نمابر: ۲۲۷۲۱۱۵۰ (۰۲۱)

پست الکترونیک: mohsenhp@sbmu.ac.ir

تاریخ تصویب: ۹۷/۳/۷ [doi: 10.29252/jmp.2.70.87](https://doi.org/10.29252/jmp.2.70.87)

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۴

چکیده

مقدمه: فعالیت انعقادی پلاکت ها در شکل گیری ترومبوز، پلاک آترواسکلروز و بروز بیماری های قلبی- عروقی نقش ویژه ای را از خود نشان داده است. برای این منظور از مهارکننده های پلاکتی برای درمان و جلوگیری از عارضه قلبی استفاده می شود که پرمصرف ترین آنها آسپیرین می باشد. امروزه استفاده از داروهای گیاهی موردنظر متخصصین طب سنتی می باشد.

هدف: هدف از این مطالعه، تعیین میزان فعالیت پلاکت ها در مواجهه با عصاره گیاه (ترخون) *Artemisia dracunculus* در کنار داروی مهارگر پلاکتی آسپیرین می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه پلاکت های افراد سالم پس از آماده سازی برای مدت زمان ۶۰ دقیقه با غلظت های (۱۲۵-۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$) عصاره متانولی گیاه ترخون و غلظت های (0.31-1.26 $\mu\text{g/ml}$) [Acetyl Salisic (ASA) Acid]، هر کدام به تنهایی و هر دو عصاره و دارو با هم مواجه شدند، سپس آزمایش های فعالیت پلاکتی که شامل: چسبندگی پلاکتی، آگریگومتری و آزادسازی پروتئین بر روی آنها انجام شد. نتایج: نتایج به دست آمده نشان می دهد که رویارویی پلاکت های طبیعی با عصاره ترخون توانسته است فعالیت پلاکت ها را در هر سه مرحله تجمع، چسبندگی و رهاسازی پلاکتی به طور چشمگیری، در مقایسه با کنترل کاهش دهد. همچنین، در ادامه این عصاره توانست به نحو قابل توجهی ($P \leq 0.001$) فعالیت هم افزایی ضدپلاکتی ASA بر روی پلاکت های طبیعی را نیز تقویت نماید.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که استفاده همزمان عصاره گیاه ترخون و ASA می تواند به عنوان یک ترکیب مؤثر سبب القای فعالیت ضدپلاکتی شود، لذا استفاده از این عصاره در درمان بیماری های قلبی- عروقی و ترومبوتیک پیشنهاد کرد.

کل واژگان: عصاره ترخون، فعالیت پلاکتی، مهارکننده پلاکت



مقدمه

آترواسکلروز یا تصلب شرایین یکی از اصلی‌ترین علت‌های حمله‌ها و سکته‌های قلبی می‌باشد. علیرغم تمام پیشرفت‌ها در علم پزشکی و تسهیل تشخیص و درمان بیماری‌های قلبی و عروقی، متأسفانه هنوز هم شیوع این بیماری‌ها در کشورها رو به افزایش است. از آنجایی که پروسه فعالیت بیش از حد پلاکتی نقش عمده‌ای در ایجاد آترواسکلروز و ترومبوز شریانی ایفا می‌کند [۱]، استفاده از مهارکننده‌های پلاکتی یکی از راه‌های جلوگیری از بیماری‌های قلبی می‌باشد. یکی از این داروها که به عنوان پیشگیری‌کننده از فعالیت پلاکت‌ها استفاده می‌شود آسپرین می‌باشد. به طوری که آسپرین می‌تواند تا ۲۵ درصد از میزان مرگ و میر به دلیل MI یا سکته قلبی را کاهش دهد. میزان تأثیر آسپرین در زنان و مردان برابر است اما در مردان عمده‌تأثیر موجب کاهش ریسک MI ولی در زنان باعث کاهش ریسک سکته مغزی می‌شود. همچنین میزان عوارض با دوز دارو رابطه‌ی مستقیمی دارد و عمده‌تأثیر برای بیشتر موارد از دوز ۷۵ - ۱۰۰ استفاده می‌شود از جمله عوارض ناشی از مصرف آسپرین می‌توان به عوارض گوارشی، کلیوی، هماتولوژیک، ازدیاد حساسیت اشاره کرد [۲-۵]. طب سنتی یا مکمل در درمان بیماری‌ها، سابقه‌ی ۲۰۰۰ ساله دارد [۶-۸].

Artemisia dracunculus L. (Tarragon) ترخون به صورت گسترده در دنیا و ایران به عنوان یک سبزی صرف می‌شود، این گیاه فعالیت ضد انعقادی آن در طب سنتی ایرانی شناخته شده است [۹].

ترخون نام فارسی این گیاه است و متعلق به خانواده *Asteracea* و از نوع گیاهان پایا و دارای برگ‌های سبز است. خواص دارویی آن نیز از دیرباز مورد توجه بوده است و در منابع متعددی به خواص دارویی و اهمیت آن اشاره شده است [۱۰]. ترخون تجمع، چسبندگی پلاکتی و بیان پروتئین‌های سطحی القاء شده توسط ترومبین را به صورت وابسته به دوز مهار می‌کند و با این اوصاف می‌توان از آن برای مهار پلاکت‌ها که یکی از فاکتورهای مهم در ایجاد بیماری‌های مانند آترواسکلروز است، استفاده کرد [۱۱]. با توجه به مکانیسم اثر و عوارض جانبی ناشی از مصرف آسپرین در این مطالعه

میزان اثر سینرژیک ASA با عصاره گیاه ترخون بر فعالیت پلاکت‌ها مورد بررسی قرار گرفت، زیرا ترخون ضمن داشتن اثرات مهارکنندگی پلاکتی، فاقد عوارض جانبی مشابه آسپرین می‌باشد و از آن می‌توان، جهت پیشگیری و یا ممانعت از پیشرفت بیماری‌های قلبی عروقی بهره برد.

مواد و روش‌ها

تهیه و عصاره‌گیری گیاه

گیاه ترخون گونه (*Artemisia dracunculus* L.) مورد بررسی را با توجه به اطلاعات موجود در کتاب فلور ایرانیکا [۱۲] از منطقه غرب ایران جمع‌آوری شد و پس از شناسایی توسط گیاه‌شناس مرکز تحقیقات فیتوشیمی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی یک نمونه هرباریومی از آن تهیه شد که در هرباریوم آن مرکز نگهداری می‌شود. پس از تهیه‌ی گیاه آن را در اتاق دور از نور مستقیم خورشید خشک کرده و از برگ‌های خشک شده آن پودر درست کرده و در جای خنک نگهداری شد. ۲۵۰ گرم از پودر گیاه با استفاده از ۱۰ لیتر متانول به روش ماسراسیون [۱۳]، به مدت ۵ روز خیسانده شد سپس عصاره به دست آمده را با استفاده از دستگاه روتاری و پمپ خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و حلال آن جدا شد، حاصل کار ۱۰۰ گرم عصاره تغلیظ شده بود. قبل از تهیه غلظت‌های موردنیاز ماده فنی عصاره در مرکز تحقیقات فیتوشیمی دانشکده داروسازی به روش اسپکترومتري تعیین شد. با توجه با میزان غلظت فنولی عصاره و روش‌های استانداردسازی مندرج در مقالات [۱۳]، ۱ گرم عصاره تغلیظ شده را در اتانول خالص حل کرده و سپس غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه کرده، تهیه غلظت‌های مختلف به طور روزانه تهیه می‌شد.

تهیه‌ی آسپرین

بعد از تهیه پودر ASA (Sigma-Aldrich, USA) برای استفاده از آن در شرایط *In vitro* دوزی که معادل مصرف یک قرص ۸۰ میلی‌گرمی در یک فرد ۷۰ کیلوگرمی باشد با استاندارد



حاوی پروتئین آزاد شده پلاکت است که طبق روش Lowry [۱۶] پروتئین سنجی سطح پروتئین آزاد شده، اندازه‌گیری شده و از آن طریق میزان خاصیت مهاري ASA و عصاره ترخون بررسی شدند.

نتایج

تعیین میزان ماده فنولی عصاره

میزان ماده فنولی عصاره ترخون را توسط اسپکتروفتومتری و با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین انجام شد که نتایج آن در جدول شماره ۱ منعکس شده است.

میزان تجمع پلاکت‌های خون در مواجهه با عصاره ترخون و آسپیرین

به منظور بررسی میزان فعالیت پلاکت‌های نرمال در مواجهه با عصاره ترخون از آزمون اگریگومتری استفاده نمودیم. پلاکت‌های به دست آمده در PRP فرد سالم داوطلب با غلظت‌های مختلف از عصاره ترخون (۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) برای مدت زمان ۶۰ دقیقه مواجه شدند. سپس آزمون اگریگومتری برای آنها انجام پذیرفت. همانگونه که در شکل شماره ۱ مشاهده می‌شود، نتایج نشان می‌دهد که پلاکت‌های به دست آمده از خون فرد نرمال در مواجهه با غلظت‌های مختلف این عصاره، با افزایش غلظت عصاره، دچار کاهش شدیدتر در فعال‌سازی پلاکت‌ها پس از افزودن آگونیست کلاژن در کانال دستگاه اگریگومتری شدند.

در ادامه، با توجه به اینکه ما در این مطالعه قصد داریم تا میزان فعالیت پلاکتی را در کنار دارویی که به طور متداول در بیماران با افزایش فعالیت پلاکتی و بیماران قلبی استفاده می‌شود نیز مورد سنجش قرار دهیم، تصمیم گرفتیم تا پلاکت‌های به دست آمده را

بر مقالات ۱/۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد [۱۴]. با توجه به موارد فوق غلظت‌های مورد نیاز از آسپیرین با حل کردن پودر آسپیرین در بافر Phosphate Buffer Saline (PBS) تهیه شد.

اگریگومتری پلاکتی

در این تست عملکرد پلاکت در *in vitro* از نظر تجمع و اگریگاسیون مورد بررسی قرار گرفت. جهت فعال کردن پلاکت از آگونیست‌های پلاکتی کلاژن استفاده شد. بدین‌منظور پلاکت‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با غلظت‌های ۱۲۵-۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ عصاره ترخون و ۰/۶۳-۱/۲۶ $\mu\text{g/ml}$ ASA انکوبه شدند و سپس توسط کلاژن (۰/۲۵ U/mL) فعال شدند و میزان تجمع پلاکت‌ها توسط دستگاه اگریگومتری (CHRONO-LOG - Model 700) اندازه‌گیری شد.

تست چسبندگی پلاکتی

این آزمایش بر اساس روش اصلاح شده اریکسون و همکاران [۱۵] انجام شد. به طور خلاصه، پلاکت‌های موجود در پلاسما غنی از پلاکت پس از مواجهه با غلظت‌های ۰/۶۳-۱/۲۶ $\mu\text{g/ml}$ ASA و ۱۲۵-۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ عصاره ترخون و فعال شدن با آگونیست کلاژن در مواجهه با چاهک کوت شده با لامینین و کلاژن چسبندگی به سطح چاهک را انجام شد و سپس با افزودن سوبسترای p-nitrophenyl phosphate و کمک گرفتن از تکنیک طیف‌سنجی میزان اتصال پلاکت به سطح چاهک تعیین شده و از این طریق میزان خاصیت مهاري ASA و عصاره ترخون بررسی و با کنترل مقایسه شدند.

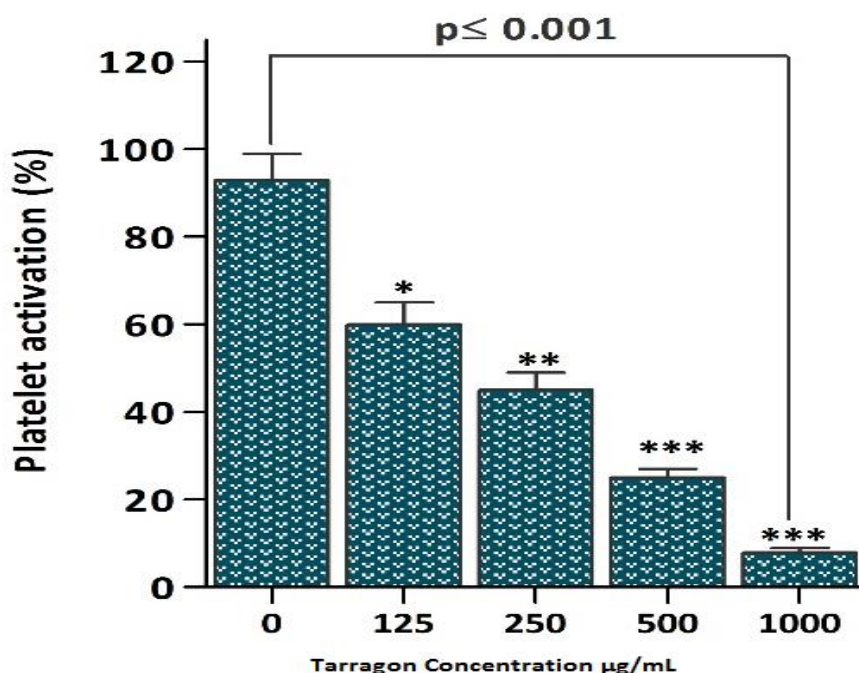
تست ترشح پروتئین

سوسپانسیون پلاکت انسانی که با غلظت‌های ۰/۶۳-۱/۲۶ $\mu\text{g/ml}$ ASA و ۱۲۵-۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ عصاره ترخون انکوبه شدند، سپس بوسیله آگونیست ۵ میکرولیتر کلاژن فعال شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۱۱۰۰ g سانتریفیوژ کرده. مایع رویی

جدول شماره ۱ - میزان ماده فنولی عصاره ترخون

عصاره ترخون	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Total phenol/quercetin ($\mu\text{g/ml}$)	Total Phenol%
الکلی	۴۰۰	۱۰/۱۷	۲/۵۴





شکل شماره ۱ - نتایج به دست آمده نشان می دهد که افزایش غلظت عصاره ترخون با کاهش فعالیت پلاکتی همراه است. میانگین و انحراف معیار نتایج حاصل از سه بار آزمایش مختلف (mean ± SD) محاسبه و p value به دست آمده (*، بیانگر $P < 0.05$ ، **، بیانگر $P < 0.01$ و ***، بیانگر $P < 0.001$) نشانگر معنادار بودن نتایج از نظر آماری در مقایسه با نمونه کنترل بود.

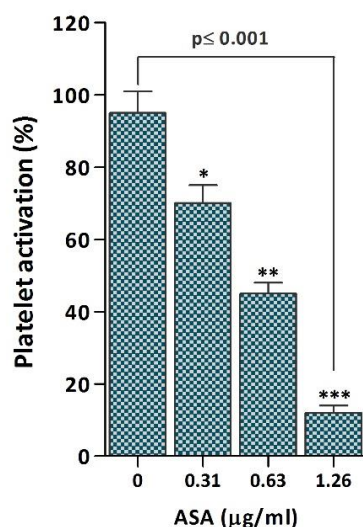
عوامل نیز به دست آمد، در نتیجه در این قسمت به بررسی تأثیر عصاره ترخون در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر (که نتایج مناسب تری نسبت به سایر غلظت ها داشت) در کنار غلظت های ۰/۳۱، ۰/۶۳، ۱/۲۶ از ASA می پردازیم. پس از استخراج تعداد مناسب پلاکت PRP، پلاکت ها برای مدت زمان ۶۰ دقیقه با غلظت های گفته شده از عصاره ترخون و ASA، چه در حالت تنهایی و چه در حالت مواجه همزمان، انکوبه شدند و سپس آزمون اگریگومتری برای آنها انجام پذیرفت. همان طور که در شکل شماره ۳ مشاهده می شود، نتایج به دست آمده نشان می دهد که استفاده همزمان عصاره ترخون و ASA توانسته است میزان فعالیت پلاکتی را به طرز چشمگیری نسبت به استفاده هر کدام از داروها به تنهایی کاهش دهد که این مسأله استفاده کارآمد همزمان از عصاره ترخون و ASA را نشان می دهد.

با غلظت های مختلف داروی ASA نیز مواجه کنیم. بدین منظور فعالیت پلاکت های طبیعی را پس از انکوباسیون ۶۰ دقیقه ای با غلظت های مختلف ASA، پس از فعال سازی با آگونیست کلاژن، در دستگاه اگریگومتری مورد سنجش قرار دادیم که نتایج حاصله در شکل شماره ۲ نشان داده شده است.

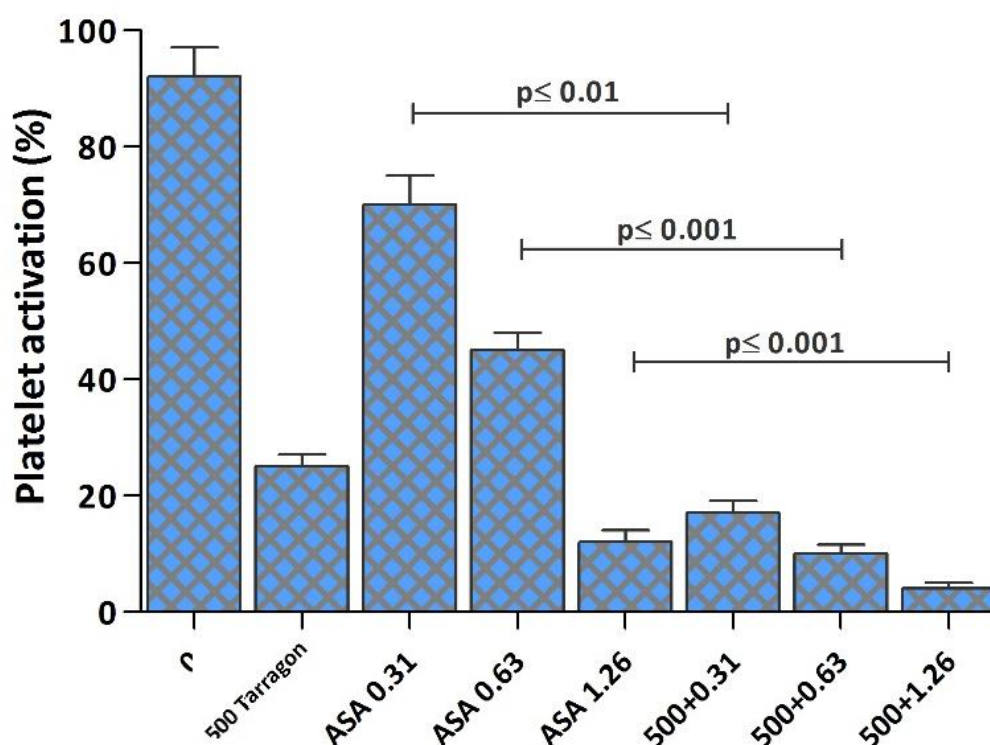
همان طور که در شکل شماره ۲ مشاهده می شود، پس از مواجه پلاکت ها با غلظت های ۰/۳۱، ۰/۶۳ و ۱/۲۶ میکروگرم بر میلی لیتر ASA، میزان فعالیت پلاکت ها به نحو چشمگیری کاهش یافته است و به ترتیب به ۷۰، ۴۵ و ۱۲ درصد رسیده است.

بررسی میزان تجمع پلاکت های خون در مواجه همزمان با عصاره ترخون و ASA

با توجه به اینکه زمان مناسب برای انکوباسیون دارو و عصاره مورد ارزیابی قرار گرفت و همچنین غلظت مناسب



شکل شماره ۲ - تأثیر داروی ASA بر فعالیت پلاکت‌ها. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که علی‌رغم وجود فعالیت ۹۰ درصدی در گروه کنترل، فعالیت پلاکت‌ها در مواجهه با آگونیست کلاژن در غلظت ۱/۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر ASA به حدود ۱۲ درصد کاهش پیدا کرده است. میانگین و انحراف معیار نتایج حاصل از سه بار آزمایش (\pm mean SD) محاسبه و p value به دست آمده (*، $P < 0.05$ ، **، $P < 0.01$ و ***، $P < 0.001$) نشانگر معنادار بودن نتایج از نظر آماری در مقایسه با نمونه کنترل بود.



شکل شماره ۳ - ارزیابی تأثیر عصاره ترخون، آسپیرین و استفاده همزمان از هر دو بر فعالیت پلاکت‌های طبیعی. نتایج به دست آمده از انکوباسیون همزمان هر دو عامل عصاره ترخون (۵۰۰ µg/ml) و ASA (۱/۲۶، ۰/۶۳، ۰/۳۱) نشان می‌دهد که استفاده همزمان از این عوامل به نحو کارآمدی می‌تواند فعالیت پلاکت‌ها را در مواجهه با آگونیست کلاژن کاهش دهد. میانگین و انحراف معیار نتایج حاصل از سه بار آزمایش (\pm mean SD) محاسبه و p value به دست آمده نشانگر معنادار بودن نتایج از نظر آماری در مقایسه با نمونه کنترل بود.



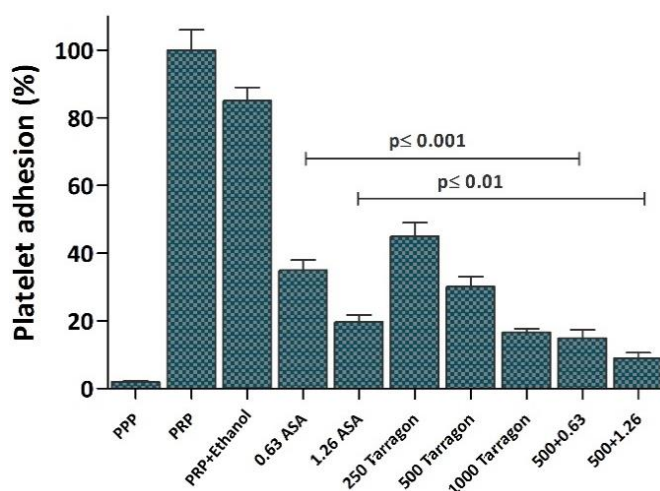
تا ۱۴ و ۹ درصد شود که این نتیجه نشان می دهد که ترکیب این دو عامل توانسته است تأثیر قابل توجهی را بر فرآیند چسبندگی پلاکتی از خود برجای بگذارد.

ارزیابی فعالیت رهاسازی (release) پلاکتی در انکوباسیون

با عصاره ترخون، ASA و مواجه همزمان با هر دو ماده یکی دیگر از مراحل بسیار مهم که در روند فعال سازی پلاکت ها حائز اهمیت است، مرحله رهاسازی پروتئین های پلاکتی می باشد. در این مرحله، پلاکت ها با آزاد سازی فاکتورهای محرک و سایر عوامل موجود در گرانول های خود سعی در فعال سازی سایر پلاکت ها و در نتیجه گسترش فعالیت انعقادی و شکل گیری اگریگاسیون پلاکتی دارند. در این مطالعه پس از انکوباسیون ۶۰ دقیقه ای پلاکت های PRP نرمال با غلظت های ۰/۶۳ و ۱/۲۶ ASA و همچنین ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره ترخون، چه در حالت تک و چه در حالت انکوباسیون همزمان، غلظت پروتئین ترشح شده از پلاکت مورد بررسی قرار گرفت. همان گونه که در شکل شماره ۵ نشان

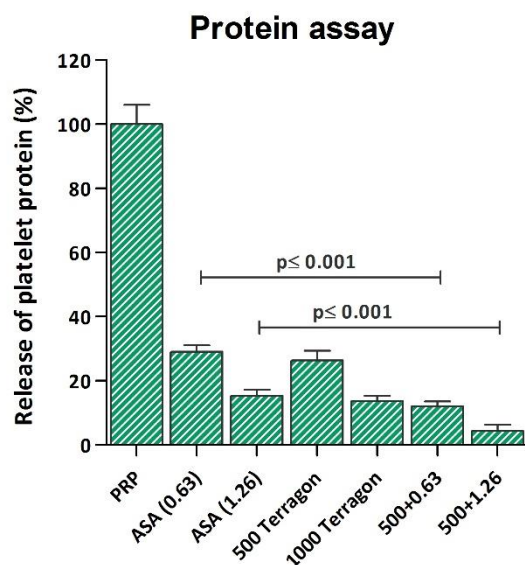
ارزیابی فعالیت چسبندگی پلاکتی در انکوباسیون با عصاره ترخون، ASA و مواجه همزمان با هر دو ماده

به منظور بررسی اینکه آیا عصاره ترخون و استفاده همزمان این عصاره با داروی ASA می تواند تأثیری بر فعالیت چسبندگی پلاکت های طبیعی بگذارد یا خیر. همان گونه که در شکل شماره ۴ نشان داده شده است، استفاده از عصاره ترخون در غلظت های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر توانسته است میزان فعالیت چسبندگی پلاکت های طبیعی را به ترتیب تا ۴۵، ۳۰ و ۱۶ درصد نسبت به فعالیت چسبندگی پلاکت ها در نمونه کنترل، یعنی PRP، کاهش دهد. از طرف دیگر، با توجه به اینکه در این مطالعه قصد بررسی و مطالعه همزمان اثر این عصاره در کنار یک داروی مهارگر پلاکتی وجود دارد، در نتیجه لازم بود تا میزان تأثیر تک داروی ضد پلاکت ASA نیز مورد ارزیابی قرار گیرد. نتایج به دست آمده نشان می دهد که، ASA در غلظت های ۰/۶۳ و ۱/۲۶ میکروگرم بر میلی لیتر توانسته است فعالیت چسبندگی پلاکتی را تا مقدار ۳۵ و ۱۹/۷ درصد کاهش دهد. در ادامه به بررسی نقش استفاده همزمان این دو عامل ضد پلاکتی پرداختیم که نتیجه به دست آمده نشان می دهد که استفاده همزمان غلظت ۵۰۰ از عصاره ترخون در کنار غلظت های ۰/۶۳ و ۱/۲۶ از آسپیرین سبب کاهش قدرت چسبندگی پلاکت ها



شکل شماره ۴- ارزیابی تأثیر عصاره ترخون، آسپیرین و استفاده همزمان از هر دو عامل، بر فعالیت چسبندگی پلاکت ها به لامینین و کلاژن. در این مطالعه از نمونه PRP فرد سالم به عنوان کنترل (بدون مواجه با دارو)، از نمونه PPP نیز به عنوان کنترل بلانک استفاده گردید. همچنین با توجه به اینکه عصاره به دست آمده از نوع عصاره الکلی است، برای حذف اختلال ناشی از این مسئله از مواجه PRP با اتانول استفاده نمودیم، که همانطور که در شکل مشهود است اتانول تأثیر چندانی را بر میزان فعالیت چسبندگی پلاکت ها، در مقایسه با گروه PRP، نگذاشته است. میانگین و انحراف معیار نتایج حاصل از سه ران کاری مختلف ($\text{mean} \pm \text{SD}$) محاسبه و p value به دست آمده نشانگر معنادار بودن نتایج از نظر آماری در مقایسه با نمونه کنترل بود.





شکل شماره ۵ - ارزیابی تأثیر عصاره ترخون، ASA و استفاده همزمان از هر دو عامل، بر میزان رهاسازی پروتئین‌های گرانول‌های پلاکتی. میانگین و انحراف معیار نتایج حاصل از سه بار آزمایش (mean \pm SD) محاسبه و p value به دست آمده نشانگر معنادار بودن نتایج از نظر آماری در مقایسه با نمونه کنترل بود.

به منظور پیشگیری از شکل‌گیری پلاک آترواسکلروز و همچنین درمان این افراد از عوامل مهارگر پلاکت همچون ASA استفاده می‌شود [۱۹]. از گذشته‌های دور برای درمان بیماری‌های مرتبط با قلب و عروق از عوامل گیاهی متنوعی استفاده می‌شده است تا اینکه در سال‌های اخیر تأثیر بعضی از این عصاره‌های گیاهی بر فعالیت پلاکت‌ها نیز مورد سنجش و بررسی قرار گرفته و اثبات شده است [۲۰، ۲۱]. در همین زمینه، ما مطالعه‌ای را طراحی کردیم تا تأثیر عصاره ترخون بر مراحل اصلی شکل‌گیری پلاک (لخته سفید) شامل مرحله چسبندگی پلاکت‌ها، تجمع و همچنین رهاسازی پروتئین‌های پلاکتی را مورد ارزیابی قرار دهیم.

به طور کلی، پلاکت‌ها در پاسخ به فاکتورهای بسیار زیادی که در اثر آسیب به دیواره رگ‌ها و همچنین نمایان شدن لایه زیرین اندوتلیال عروقی (که حاوی کلاژن، لامینین و...) است فعال می‌شوند. در ادامه‌ی این روند، پلاکت‌های فعال شده نیز با ترشح آگونیست‌ها و پروتئین‌های مختلفی همچون ترومبین، کلسیم، فاکتورهای رشد و... سبب گسترش این فعال‌سازی و در نتیجه شکل‌گیری پلاک می‌شوند. تحت این فعال‌سازی‌ها

داده شده است، میزان پروتئین ترشح شده از پلاکت‌های طبیعی (با گرفتن نسبت و گزارش آن به صورت درصد در مقایسه با نمونه PRP در گروه انکوئاسیون همزمان عصاره و ASA نسبت به گروه‌های مواجه شده با هر کدام از این داروها به تنهایی، با کاهش چشمگیری همراه بوده است که این مسأله بیانگر کارآمدی این ترکیب دارویی در کاهش دادن ریلیز پلاکتی و در نتیجه جلوگیری از گسترش اگريگاسیون پلاکتی می‌باشد.

بحث

پلاکت‌های موجود در خون نقش بسیار مهمی را در فرآیند هموستاز و ترومبوز بر عهده دارند، از طرف دیگر، پلاکت‌ها یکی از عوامل مهم مشارکت‌کننده در تشکیل پلاک آترواسکلروز و در نتیجه سکت‌های قلبی نیز محسوب می‌شوند [۱۷]. از طرفی کاهش میزان گیرنده‌های اسکاونجر سطح پلاکتی که نقش اساسی در انتقال کلسترول سلولی دارد می‌تواند در فعال کردن پلاکت‌ها و به دنبال آن افزایش سطح پلاک اترواسکلریز نقش بسزایی را ایفا کند [۱۸]. بر همین اساس،



عصاره توانسته است در شرایط *In vivo* نیز فعالیت پلاکتی را کاهش داده و همچنین زمان خون‌رَوش (Bleeding time) را افزایش دهد [۱۳]. روش کار آنها برای فعالیت پلاکتی با اسپکتروفتومتری بود. ما با استفاده از روش استاندارد اگریگومتری، تأثیر این عصاره بر اگریگاسیون پلاکتی را مورد سنجش قرار دادیم، که نتایج حاصله تأثیر قابل‌توجه این عصاره به صورت وابسته به دوز را در پلاکت‌های فعال شده با کلاژن نشان داد که این مسأله نیز بیانگر توانایی این عصاره در جلوگیری از پدیده‌ی اگریگاسیون پلاکتی است.

احتمالاً عصاره ترخون از دو طریق عملکرد پلاکت‌ها را کاهش می‌دهد. اولین مسیر با بلوکه کردن یا تغییر شکلی ساختار گلیکوپروتئین‌های پلاکتی مثل GP Ia/IIa که گیرنده کلاژن می‌باشد یا GP IIb/IIIa گیرنده فیبرینوژن که مانع از تجمع پلاکت‌ها می‌شود. این گلیکوپروتئین، به عنوان گیرنده اصلی فیبرینوژن بر سطح پلاکت‌ها شناخته شده و هنگام فعال شدن پلاکت‌ها با واسطه فیبرینوژن موجب تجمع پلاکتی می‌شود [۳۰]. از طرفی عصاره گیاه مرزه ممکن است همانند ASA عمل کند. مکانیسم ASA شناخته شده است، به طوری که از فعالیت آنزیم سیکلو اکسیژناز در پلاکت‌ها جلوگیری کرده و مانع از تولید ترومبوکسان داخل پلاکتی شده و در نهایت از تشکیل لخته ترومبوزی جلوگیری می‌کند [۳۱]. استفاده از قرص ASA ۸۰ میلی‌گرمی در روز توسط بیماران قلبی عروقی، میزان تجمع پلاکت‌ها را تا ۴۰ درصد کاهش می‌دهد. کاهش فعالیت پلاکتی تا میزان ۳۵-۴۵ درصد برای پیشگیری از بروز ترومبوز وریدی مورد قبول متخصصین قلب می‌باشد [۳۲]. نتایج حاصل از تحقیق ما در این پروژه نشان داد که، استفاده همزمان از دوز پایین ASA ۰/۶۳ میکروگرم در میلی‌لیتر برابر (قرص ۴۰ میلی‌گرمی) با غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره ترخون، نشان داد که فعالیت پلاکت‌ها را تا حدود ۳۰ درصد کاهش داد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، یافته‌های به دست آمده بیانگر آن است که این عصاره به تنهایی و هم در حالت سینرژیک با دوز پایین ASA

پلاکت‌ها با تغییر شکل مورفولوژیک خود از فرم دیسکوئیدی به فرم پهن شده (آمبوییدی) تبدیل می‌شوند [۲۲]. هر کدام از این مراحل می‌تواند نقش کلیدی را در روند فعال‌سازی پلاکتی بر عهده داشته باشند که در این صورت ایجاد نقص در هر یک از این مراحل با استفاده از داروها و عصاره‌های آنتی‌پلاکتی می‌توان از فعال شدن پلاکت‌ها جلوگیری نمود. مطالعات بسیار زیادی وجود دارند که چگونگی نقش داروهای گیاهی را در مهار عملکرد پلاکت‌ها بیان کردند، از جمله این داروهای گیاهی که برای جلوگیری از تشکیل پلاک اتروزسکلروتیک و کاهش فعالیت پلاکتی استفاده می‌شود می‌توان به عصاره گیاهان زردچوبه (*Curcuma longa*) [۲۳]، زرشک (*Berberis vulgaris*) [۲۴]، زیتون (*Osmanthus fragrans*) [۲۵]، منگولیا [۲۶]، مرزه [۲۷] و سیر (*garlic*) [۲۸] اشاره کرد. در میان این عوامل، عصاره گیاه ترخون نیز اثرات ویژه‌ای را در مطالعات انجام پذیرفته در مدل‌های موشی از خود نشان داده است. این گیاه به عنوان یک چاشنی در آشپزی سابقه‌ی طولانی دارد. علاوه بر این خواص دارویی آن نیز از دیرباز مورد توجه بوده است. بخصوص در قرن‌های ۱۶ تا ۱۹ به طور ویژه‌ای به آن توجه شده و در منابع متعددی به خواص دارویی و اهمیت آن اشاره شده است [۲۹]. در مطالعه‌ی ای که در سال ۲۰۰۷ صورت پذیرفته نشان داده شده است که عصاره متانولی برگ‌های گیاه ترخون توانسته است فعالیت پلاکت‌ها را در پلاکت‌های فعال شده با ترومبین به نحو قابل توجهی تحت تأثیر قرار داده و کاهش دهد [۱۱]. نتایج به دست آمده از مطالعه ما بر فعالیت چسبندگی پلاکتی نشان می‌دهد که این عصاره گیاهی توانسته است به نحو قابل توجهی فعالیت چسبندگی پلاکت‌های طبیعی را کاهش دهد به گونه‌ای که در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان فعالیت چسبندگی پلاکت‌های فعال شده با کلاژن ۲۰ درصد حالت اولیه یعنی PRP کاهش یافته است، در نتیجه یافته‌ی ما نشان می‌دهد که عصاره گیاه ترخون توانسته است فعالیت چسبندگی پلاکت‌ها را به میزان قابل توجهی تحت تأثیر خود قرار دهد. همچنین در مطالعه‌ی دیگری که توسط یزدانپرست و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام پذیرفته است، نشان داده شده است که این



در درمان پلاک آترواسکلروز، بر عهده دارند و همچنین استفاده از درمان‌های ترکیبی نوین‌تری را در این افراد ایجاد نماید.

می‌تواند به نحو کارآمدی سبب مهار فعالیت پلاکتی شود و در نتیجه به نظر می‌رسد که این عصاره بتواند رویکرد جدیدی را

منابع

1. Sarrafzadegan N, Sadeghi M, Oveisgharan S and Iranipour R. Incidence of cardiovascular diseases in an Iranian population: the Isfahan Cohort Study. *Archives of Iranian Medicine* 2013; 16 (3): 138.
2. Shimokawa T, Smith W. Prostaglandin endoperoxide synthase. The aspirin acetylation region. *J. Biological Chem.* 1992; 267 (17): 12387-92.
3. Cooke GE, Liu-Stratton Y, Ferketich AK, Moeschberger ML, Frid DJ, Magorien RD and et al. Effect of platelet antigen polymorphism on platelet inhibition by aspirin, clopidogrel, or their combination. *J. the American College of Cardiol.* 2006; 47 (3): 541-6.
4. Folts JD, Crowell EB and Rowe GG. Platelet aggregation in partially obstructed vessels and its elimination with aspirin. *Circulation* 1976; 54 (3): 365-70.
5. Massberg S, Brand K, Gruner S, Page S, Muller E, Muller I and et al. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *The J. Experimental Medicine* 2002; 196 (7): 887-96.
6. Murphy KJ, Chronopoulos AK, Singh I, Francis MA, Moriarty H, Pike MJ and et al. Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *The American J. Clinical Nutrition* 2003; 77 (6): 1466-73.
7. Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M and Shahlari M. Cinnamon from the selection of traditional applications to its novel effects on the inhibition of angiogenesis in cancer cells and prevention of Alzheimer's disease, and a series of functions such as antioxidant, Anti cholesterol, anti diabetes, antibacterial, antifungal, nematocidal, acaracidal, and repellent activities. *J. Traditional and Complementary Medicine* 2015; 5: 66-70.
8. Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M, Shahlari M, Sohraby M, Shahlari N and Hamidpour R. Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.): From a variety of traditional medicinal applications to its novel roles as active antioxidant, anti-inflammatory, anti-mutagenic and analgesic agent. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 2017; 7: 24-29.
9. Khorasani MH. Makhzan al adviah. Safa Publication, Tehran. 1992, pp: 583-584.
10. Obolskiy D, Pischel I, Feistel B, Glotov N and Heinrich M. *Artemisia dracunculus* L. (tarragon): a critical review of its traditional use, chemical composition, pharmacology, and safety. *J. Agricultural and Food Chem.* 2011; 59 (21): 11367-84.
11. Shahriyary RY L. Antiplatelet and Antithrombotic Activities of *Artemisia dracunculus* L. Leaves Extract. *Pharmacologyonline* 2009; 1 (217): 2-8.
12. Rechinger K. H. and et al. Flora Iranica: Flora des iranischen Hochlandes und der umrahmenden Gebirge, Graz, Austria, 1971, 240-241.
13. Shahriyary L and Yazdanparast R. Inhibition of blood platelet adhesion, aggregation and secretion by *Artemisia dracunculus* leaves extracts. *J. Ethnopharmacol.* 2007; 114 (2): 194-8.
14. Lianne Kokoska, Dana El Masri, Helen Berlie and Candice Garwood. Aspirin prescribing patterns for primary prevention of cardiovascular disease in geriatric patients with diabetes: Survey of prescribers based on experience. *Journal of Clinical Gerontology & Geriatrics* 2016; 7: 33-36.
15. Eriksson AC and Whiss PA. Measurement of adhesion of human platelets in plasma to protein surfaces in microplates. *J. Pharmacological and Toxicological Methods* 2005; 52 (3): 356-65.



16. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biological Chem.* 1951; 193 (1): 265-75.
17. Willoughby S, Holmes A and Loscalzo J. Platelets and cardiovascular disease. European journal of cardiovascular nursing: *J. the Working Group on Cardiovascular Nursing of the European Society of Cardiol.* 2002; 1 (4): 273-88.
18. Nehzati P, Hamidpour M, Bashash D, Nikoogoftar M, Hedari MR and Khadem Mabodi AA. The Detection of HDL receptor on platelet surface in patients with Coronary artery disease (CAD). *J. Paramedical Sci.* 2017; 8 (1): 33-38.
19. Schrader BJ and Berk SI. Antiplatelet agents in coronary artery disease. *Clinical Pharmacy* 1990; 9 (2): 118-24.
20. Mohd Nor NH, Othman F, Mohd Tohit ER and Md Noor S. Medicinal Herbals with Antiplatelet Properties Benefit in Coronary Atherothrombotic Diseases. *Thrombosis* 2016; 2016: 1-7.
21. Murphy KJ, Chronopoulos AK, Singh I, Francis MA, Moriarty H, Pike MJ and et al. Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *The American J. Clinical Nutrition* 2003; 77 (6): 1466-73.
22. Ghezelbash B, Amini kafiabad S, Hojjati MT, Hamidpour M, Vaeli Sh, Tabatabae MR and Gharehbaghian A. In Vitro Assessment of Platelet Lesions during 5-day Storage in, *Iraninan Blood Transfusion Organization (IBTO) centers. Archives of Iranian Medicine* 2015; 18 (2): 114-116.
23. Prakash P, Misra A, Surin WR, Jain M, Bhatta RS, Pal R and et al. Anti-platelet effects of Curcuma oil in experimental models of myocardial ischemia-reperfusion and thrombosis. *Thrombosis Res.* 2011; (2) 127: 111-118.
24. Huang CG, Chu ZL, Wei SJ, Jiang H and Jiao BH. Effect of berberine on arachidonic acid metabolism in rabbit platelets and endothelial cells. *Thrombosis Res.* 2002; 106 (4-5): 223-7.
25. Tang W, Cao J, Zhang X and Zhao Y. *Osmanthus fragrans* seeds, a source of secoiridoid glucosides and its antioxidizing and novel platelet-aggregation inhibiting function. *Journal of Functional Foods* 2015; 14: 337-44.
26. Teng CM, Chen CC, Ko FN, Lee LG, Huang TF, Chen YP and et al. Two antiplatelet agents from *Magnolia officinalis*. *Thrombosis Res.* 1988; 50 (6): 757-65.
27. Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M, Shahlari M and Sohraby M. Summer Savory: From the Selection of Traditional Applications to the Novel Effect in Relief, Prevention, and Treatment of a Number of Serious Illnesses such as Diabetes, Cardiovascular Disease, Alzheimer 's Disease, and Cancer. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 2014; 4: 140 - 144.
28. Banerjee SK and Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutrition J.* 2002; 1: 4-10.
29. Obolskiy D, Pischel I, Feistel B, Glotov N and Heinrich M. *Artemisia dracuncululus* L. (tarragon): a critical review of its traditional use, chemical composition, pharmacology, and safety. *J. Agricultural and Food Chem.* 2011; 59 (21): 11367-84.
30. Paolo Gresele, Jos'eA. L'opez, Clive P. Page, JosVermynlen: Platelets in hematologic and cardiovascular disorders. Cambride: Cambridge University Press, 2007, 26-27.
31. Dai Y and Ge J. Clinical use of aspirin in treatment and prevention of cardiovascular disease. *Thrombosis* 2012; 2012: 1-7.
32. Lianne Kokoska, Dana El Masri, Helen Berlie and Candice Garwood. Aspirin prescribing patterns for primary prevention of cardiovascular disease in geriatric patients with diabetes: Survey of prescribers based on experience. *J. Clinical Gerontology & Geriatrics* 2016; 7: 33-36.

The Synergic Effect of *Artemisia Dracunculus* (Tarragon) Extract and Aspirin (ASA) on Platelet Function

Hedaryan AH (M.Sc.)¹, Hamidpour M (Ph.D.)^{2*}, Ayatolahi AM (Ph.D.)³, Allah bakhshian Farsiani M (Ph.D.)²

1- Department of Hematology and Blood Banking, School of Allied Medicine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- HSCT Research Center-Department of Hematology and Blood Banking, School of Allied Medicine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Phytochemistry Research Center, School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Corresponding author: Department of Hematology and Blood Banking, School of Allied Medicine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, HSCRC- Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Tel: +98-21-22717504, Fax: +98-21-22721150

E-mail: mohsenhp@sbmu.ac.ir

Abstract

Background: Coagulation activity of platelets plays an important role in thrombosis formation, Atherosclerotic plaque establishment and cardiovascular disorders. ASA are using as an anti platelet activity drug for patients with Coronary Artery Disease (CAD). Using of plant extraction as a complementary medicine for these patients (CAD) is mostly recommended by traditional medicine specialist.

Objective: In this study we investigated platelet activity after treatment with extract of *Artemisia dracunculus* (Tarragon) and it's synergic with ASA treatment.

Methods: After preparation of platelets from healthy volunteers, platelets confronted with desired concentrations (125-1000 µg/ml) of methanol extract of *Artemisia dracunculus* (tarragon) and (0.31-1.26 µg/ml) of (ASA) alone and in combination. The platelet function such as adhesion, aggregation and protein release were assayed on treated platelets and controls.

Results: Our results demonstrated that Tarragon extract significantly effective on adhesion, aggregation and protein release in comparison with healthy volunteers platelets ($P \leq 0.001$). The Tarragon extract also raised the anti-platelet activity of ASA on these platelets.

Conclusion: Tarragon extract, either as single agent or combination with ASA, has been able to induce anti-platelet activity. Therefore, it would be suggested to use of the tarragon extract with or without common treatments, i.e. ASA, in treatments of cardiovascular disorders and patients with deep vein thrombosis.

Keywords: *Artemisia dracunculus*, Platelet activity, Platelet inhibitor, Tarragon

