Archive of SID

مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران | شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2020.342190.2739

جلد ۳۶، شماره ۴، صفحه ۵۵۹-۵۵۲ (۱۳۹۹) | شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1399.36.552.102.4.1587.1610

سنجش اثر عصاره اتانولی دانه *Plantago major* L. بر روند انعقاد خون در محیط آزمایشگاهی

جواد مزینانی[۱]، جعفر وطن‌دوست[۲*]، محمدرضا واعظی کاخکی[۳] و فرشته قراط[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

پست الکترونیک: j.vatan@hsu.ac.ir

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

۴- استادیار، گروه طب سنتی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۸ | تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۹ | تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۹

چکیده

بارهنگ کبیر (*Plantago major* L.) گیاهی از خانواده Plantaginaceae، علفی و خودرو به ارتفاع ۱۰ تا ۴۵ سانتی‌متر و بدون ساقه است. این گیاه در منطقه وسیعی از دو قاره اروپا و آسیا و همچنین شمال آفریقا و آمریکای شمالی و در ایران تقریباً در تمام نقاط می‌روید. دانه گیاه در متوقف کردن خونریزی نقش داشته و به‌عنوان گیاهی شناخته می‌شود که حداقل در یکی از مسیرهای انعقاد نقش به‌سزایی ایفاء می‌کند. ازاین‌رو، این مطالعه با هدف سنجش اثر عصاره اتانولی دانه بارهنگ کبیر بر آزمایش‌های انعقادی انسانی در محیط آزمایشگاهی طراحی و اجرا شد. دانه گیاه بارهنگ کبیر در بوته‌چینی آسیاب شده و عصاره‌گیری پودر دانه در اتانول ۸۰٪ به‌مدت ۴۸ ساعت انجام شد. تبخیر الکل عصاره، با کمک دستگاه روتاری اواپوراتور در دمای ۵۰ درجه سلسیوس انجام شد و آب باقی‌مانده در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس خارج گردید. عصاره خشک گیاهی بدست آمده با غلظت‌های مختلف در بافر آون کلر تهیه و تأثیر آن بر شاخص‌های انعقادی زمان پروترومبین (PT)، زمان نسبی ترومبوپلاستین (APTT) و زمان انعقاد (CT) بررسی شد و نتایج به‌وسیله آزمون آماری t-test مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی دانه بارهنگ کبیر باعث کاهش شاخص انعقادی زمان نسبی ترومبوپلاستین (APTT) شد و بر زمان پروترومبین (PT) و زمان انعقاد (CT) اثر معنی‌داری نداشت. یافته‌های حاصل از این مطالعه حکایت از تأثیر انعقادی عصاره اتانولی دانه بارهنگ کبیر دارد. باوجوداین برای انجام تحقیقات تکمیلی، مطالعه بیشتر بر روی مدل‌های حیوانی و انسانی ضروری به‌نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: *Plantago major* L.، زمان پروترومبین، زمان نسبی ترومبوپلاستین، زمان انعقاد.

مقدمه

بارهنگ کبیر (*Plantago major* L.) گیاهی از خانواده Plantaginaceae، علفی و خودرو به ارتفاع ۱۰ تا ۴۵ سانتی‌متر و بدون ساقه است (Razavi *et al*., 2010). این خانواده شامل ۹۴ جنس بوده (Christenhusz & Byng, 2016) که در این میان جنس بارهنگ از ۲۶۵ گونه تشکیل

www.SID.ir

Archive of SID

شده است (Taskova *et al*., 2002). گیاه بارهنگ در منطقه وسیعی از دو قاره اروپا و آسیا و همچنین شمال آفریقا و آمریکای شمالی و در ایران تقریباً در تمام نقاط می‌روید. برگ‌های آن تماماً طوقه‌ای و رنگ گل‌هایش سبز متمایل به قهوه‌ای است. فصل گلدهی گیاه اردیبهشت تا شهریور ماه است. دانه‌های این گیاه قهوه‌ای تیره، کوچک، تخم‌مرغی شکل و در میوه‌ای پوستینه که به‌صورت کپسول تخم‌مرغی محتوی ۸-۴ دانه است، قرار دارند (Razavi *et al*., 2010). بارهنگ کبیر دارای مصارف دارویی زیادی ازجمله درمان بیماری‌های پوستی، ناراحتی‌های تنفسی، گوارشی، گردش خون، پیشگیری از سرطان، ضدهپاتیت و ویروس، ممانعت از تشکیل تومور، درمان زخم و عفونت‌ها است (Chiang *et al*., 2002؛ Samuelsen, 2000). از مواد مؤثره این گیاه می‌توان به تانن‌ها، برخی ترکیب‌های کومارینی، فلاونوئیدها، ترکیب‌های فنلی (مشتقات اسید کافئیک)، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و ویتامین C اشاره کرد (Galvez *et al*., 2003؛ Samuelsen, 2000). اثرهای درمانی ترکیب‌های این گیاه در مطالعات مختلفی بررسی شده است. برگ این گیاه با دارا بودن گلیکوزیداز فنولی به‌عنوان عامل ضدسرطان قوی در مهار سرطان پستان مؤثر است (Mirzaei *et al*., 2011). همچنین ترکیب تری‌ترپنوئیدی اسید یورسولیک موجود در بارهنگ دارای اثر مهارکنندگی بر پیشرفت تومورهای سرطانی است (Samuelsen, 2000). اثر مهاری عصاره متانولی بخش‌های هوایی (گل‌آذین و برگ) گیاه بارهنگ بر رده‌های سلول‌های سرطانی انسان به‌ویژه رده‌های سلولی (MCF-۷) و (UACC-۶۲) نشان داده شده است (Galvez *et al*., 2003). عصاره آبی- الکلی بارهنگ با کاهش ترشح اسید معده، اثر محافظت‌کنندگی در برابر زخم معده ناشی از داروی ایندومتاسین دارد (Paseban *et al*., 2019). شربت بارهنگ نیز تأثیر معنی‌داری در کاهش میانگین اُفت هموگلوبین و هماتوکریت خون پس از زایمان دارد و ممکن است که استفاده از این شربت به پیشگیری از عوارض کم‌خونی پس از زایمان کمک کند (Nejati *et al*., 2018). عصاره هیدروالکلی برگ بارهنگ به‌دلیل دارا بودن ترکیب‌های فلاونوئیدی دارای اثر ضداضطرابی است (Mojtahedin, 2016). ریشه، برگ و دانه این گیاه اثر نرم‌کنندگی دارد و از آنها به‌عنوان تصفیه‌کننده خون، آرام‌کننده و رفع تحریکات در لوله گوارش و بیماری آسم استفاده می‌شود (Abbasi Gharacheh Narloo & Pahlavan Sharif, 2017). عصاره بارهنگ برای رفع سرماخوردگی و گرفتگی صدا نیز مفید است (Abbasi Gharacheh Narloo & Pahlavan Sharif, 2017). جوشانده تخم بارهنگ زخم‌های لوله گوارش را بهبود می‌بخشد و برای درمان بیماری‌های ریه، تقویت کلیه، کبد و طحال نیز بکار برده می‌شود (Abbasi Gharacheh Narloo & Pahlavan Sharif, 2017). دانه این گیاه دارویی در متوقف کردن خونریزی نقش داشته و به‌عنوان گیاهی شناخته می‌شود که حداقل در یکی از مسیرهای انعقاد خون نقش به‌سزایی ایفاء می‌کند (Nayal *et al*., 2015). با توجه به اینکه در بررسی متون، مطالعه جامعی در مورد تأثیر عصاره اتانولی دانه بارهنگ کبیر بر آزمایش‌های انعقادی وجود نداشت، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر عصاره اتانولی دانه این گیاه بر آزمایش‌های انعقادی در محیط آزمایشگاهی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

انتخاب گیاه و تهیه عصاره گیاهی

بعد از تهیه دانه بارهنگ کبیر از مراتع شرقی شهرستان سبزوار، شناسایی (تعیین نام علمی) و پاک‌سازی آنها در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه حکیم سبزواری، دانه‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در سایه خشک شد و بعد در بوته‌چینی (هاون) آسیاب شد و با کمی تغییرات در مقایسه با روش Aminian و همکاران (۲۰۱۸)، میزان ۵ گرم از پودر دانه گیاه با ۱۰۰CC الکل (اتانول) ۸۰٪ مخلوط گردید و به‌مدت ۲۴ ساعت در دستگاه شیکر قرار داده شد. برای تبخیر الکل موجود در آن از دستگاه روتاری اواپوراتور با دمای ۵۰ درجه سلسیوس و چرخش ۳۰ دور در دقیقه و بعد از دستگاه سردکننده (سیرکولاتور) با دمای ۱۰ درجه سلسیوس استفاده شد. همچنین برای تبخیر آب باقی‌مانده، پلیت حاوی عصاره گیاهی در دستگاه آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۲ ساعت قرار داده شد. درنهایت عصاره خشک گیاهی از کف پلیت‌ها جمع‌آوری و

www.SID.ir

Archive of SID

وزن نهـــایی آن برابـــر بـــا ۰/۳۳ گـــرم مشـــخص گردیـــد.

ارزیابی شاخص‌های انعقادی

برای بررسی اثر عصاره دانه بارهنگ کبیر بر روند انعقاد خون، غلظت‌های ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ و ۰/۴۱۶ گرم بر لیتر، در حلال بافر آون کلر تهیه شد. همچنین برای انجام آزمایش‌های انعقادی، از پلاسمای نرمالی که از افراد دارای شاخص‌های طبیعی انعقاد جمع‌آوری شده بود، استفاده گردید.

آزمایش زمان پروترومبین (PT)

این آزمایش، زمان انعقاد پلاسمای خون در حضور غلظت بهینه فاکتور بافتی (ترومبوپلاستین بافتی) را می‌سنجد و نشان‌دهنده کارایی مسیر خارجی انعقاد خون است. ابتدا به‌منظور بررسی نمونه شاهد، به‌ترتیب مقدار ۲۰۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول PT و پلاسمای نرمال گرم (نگهداری شده در دمای ۳۷ درجه سلسیوس) مخلوط و پس از گذشت ۱۰ ثانیه به کمک چراغ مطالعه، زمان انعقاد خون (تشکیل اولین رشته‌های سفیدرنگ فیبرین) ثبت گردید. برای بررسی اثر انعقادی غلظت‌های مختلف عصاره دانه بارهنگ، مقدار ۱۰ میکرولیتر از غلظت موردنظر عصاره با ۱۹۰ میکرولیتر پلاسمای نرمال گرم در یک لوله شیشه‌ای مخلوط و پس از گذشت ۵ دقیقه درون بن‌ماری ۳۷ درجه، مقداری محلول PT گرم به آن افزوده شد و حدود ۱۰ ثانیه بعد زمان انعقاد ثبت گردید. این آزمایش دو مرتبه تکرار شد.

آزمایش زمان نسبی ترومبوپلاستین (APTT)

این آزمایش زمان انعقاد پلاسمای خون را بعد از فعال شدن فاکتورهای انعقادی (بدون افزودن ترومبوپلاستین بافتی) اندازه‌گیری می‌کند، بنابراین نمایانگر کارایی مسیر داخلی انعقاد خون است. برای بررسی نمونه شاهد، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول APTT گرم با ۱۰۰ میکرولیتر محلول پلاسمای نرمال گرم مخلوط گردید و به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس درون بن‌ماری گذاشته شد. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول کلرورکلسیم گرم به مخلوط فوق (APTT و پلاسمای نرمال گرم) افزوده شد و به‌مدت ۲۰ ثانیه درون بن‌ماری کمی تکان داده شد و پس‌ازآن زمان انعقاد به روش یادشده ثبت گردید. برای بررسی اثر انعقادی غلظت‌های مختلف عصاره دانه بارهنگ، مقدار ۱۰ میکرولیتر از غلظت مورد نظر عصاره با ۱۹۰ میکرولیتر پلاسمای نرمال گرم و ۱۰۰ میکرولیتر محلول APTT گرم در یک لوله مخلوط و پس از گذشت ۵ دقیقه درون بن‌ماری ۳۷ درجه، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول کلرورکلسیم گرم به آن افزوده شد و ۲۰ ثانیه بعد زمان انعقاد ثبت گردید. این آزمایش دو مرتبه تکرار شد.

آزمایش زمان انعقاد (CT)

این آزمایش توانایی مسیر داخلی در شروع تشکیل لخته را با فعال کردن فاکتور XII اندازه‌گیری می‌نماید، همچنین در مسیر مشترک انعقاد خون نیز نقش مهمی دارد (McPherson *et al*., 2007؛ Pagana & Pagana, 2013). برای اندازه‌گیری این شاخص از روش Lee و White استفاده شد (Kennedy & Rocks, 1973). به این صورت که ابتدا ۱۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره دانه بارهنگ در لوله‌های آزمایش ریخته و با خون گرفته‌شده به حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر رسانده شد. لوله‌ها در بن‌ماری با دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد و هر ۳۰ ثانیه یک‌بار برای تشکیل لخته مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش دو بار تکرار شد و میانگین زمان انعقاد در ۴ لوله به‌عنوان زمان انعقاد خون (CT) در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی دانه بارهنگ بر شاخص‌های انعقادی

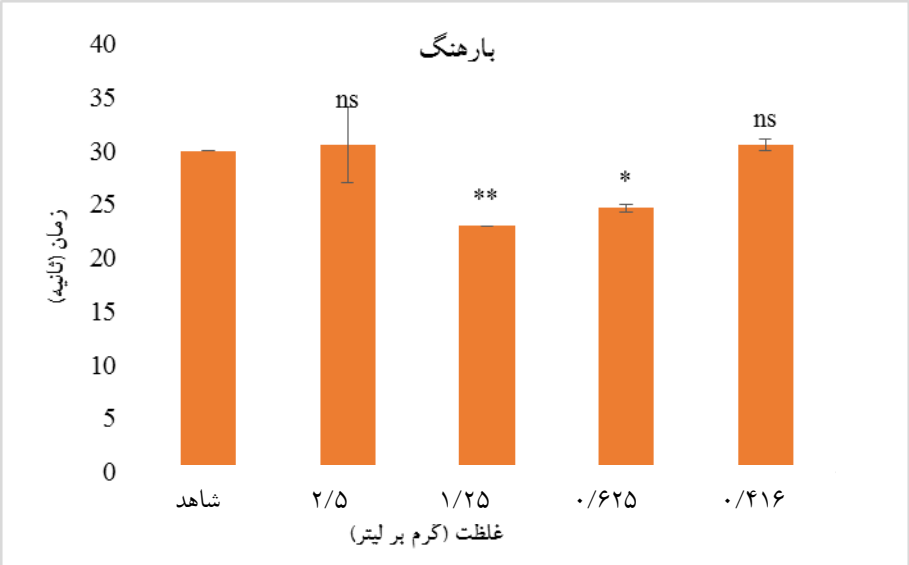
همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود عصاره دانه بارهنگ در غلظت‌های ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ و ۰/۴۱۶

www.SID.ir

Archive of SID

گرم بر لیتر، بر شاخص انعقادی PT نسبت به گروه شاهد اثر مناسبی نداشته، ازاین‌رو طی تجزیه‌وتحلیل‌های آماری انجام شده معنی‌داری قابل توجهی برای آنها تشخیص داده نشده است.

شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی دانه بارهنگ کبیر بر شاخص انعقادی PT



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی دانه بارهنگ کبیر بر شاخص انعقادی APTT

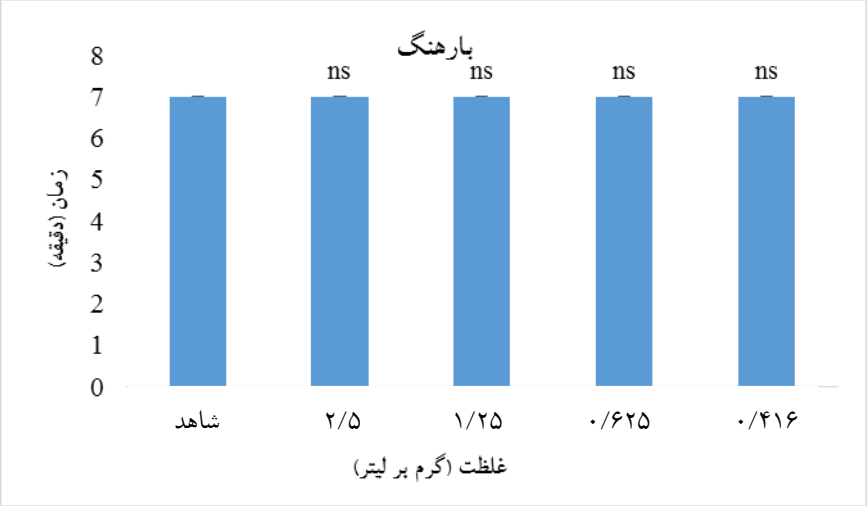
همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود عصاره دانه بارهنگ در غلظت‌های ۲/۵ و ۰/۴۱۶ گرم بر لیتر، بر شاخص انعقادی APTT نسبت به گروه شاهد اثر مناسبی نداشته، ازاین‌رو طی تجزیه‌وتحلیل‌های آماری انجام‌شده معنی‌داری قابل توجهی برای آنها تشخیص داده نشده است. عصاره دانه بارهنگ در غلظت‌های ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ گرم بر

www.SID.ir

Archive of SID

لیتر، در میان دیگر غلظت‌های در نظر گرفته‌شده به‌طور معنی‌داری زمان ترومبوپلاستین نسبی (APTT) را نسبت به گروه شاهد کاهش داده است. این اثر برای غلظت ۱/۲۵ در مقایسه با ۰/۶۲۵ به‌صورت پلکانی (کاهش- افزایش) است که به‌نظر می‌رسد با انجام بهینه‌سازی بیشتر برای غلظت‌های بکار برده شده می‌توان چنین استنباط کرد که در غلظت‌های رقیق‌تر (مشابه غلظت ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵) اثر معنی‌دار و مطلوب‌تری در کاهش زمان APTT نسبت به گروه شاهد قابل مشاهده است.

برای آزمایش CT با استفاده از غلظت اولیه (رقیق نشده) و نیز دیگر غلظت‌های تهیه شده از عصاره دانه بارهنگ، اثر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد (شکل ۳).



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی دانه بارهنگ کبیر بر شاخص انعقادی CT

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره اتانولی دانه بارهنگ کبیر بر روی شاخص انعقادی PT اثر معنی‌داری نداشته اما بر روی شاخص APTT در غلظت‌های ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ گرم بر لیتر، اثر معنی‌داری دارد و سبب کاهش زمان آن می‌شود. در رابطه با شاخص انعقادی CT نیز برای مجموع غلظت‌ها اثر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در ارتباط با عصاره بارهنگ و تأثیر معنی‌دار آن در کاهش زمان شاخص APTT در غلظت ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ گرم بر لیتر، این‌گونه به نظر می‌رسد که عصاره اتانولی این گیاه بر مسیر داخلی و مشترک انعقاد اثر مطلوب و معنی‌داری ندارد (عدم تأثیر بر شاخص CT) اما در مسیر داخلی می‌تواند یک عامل تسریع‌کننده روند تشکیل لخته (APTT) محسوب شود. شایان ذکر است که شاخص‌های PT، APTT و CT در هر دو مسیر (داخلی و خارجی) شاخص‌های قابل‌اعتماد و اطمینانی می‌باشند که نمایانگر هموستاز ثانویه هستند. شاخص PT فعالیت مسیر خارجی انعقاد خون و فاکتورهای I، II، V، VII و X را اندازه می‌گیرد. شاخص APTT فعالیت مسیر داخلی انعقاد خون و فاکتورهای I، II، V، VIII، IX، X، XI و XII را اندازه‌گیری می‌کند. شاخص CT نیز توانایی مسیر داخلی انعقاد در شروع تشکیل لخته را با فعال کردن فاکتور XII اندازه‌گیری می‌نماید، همچنین در مسیر مشترک انعقاد نیز نقش مهمی دارد.

با توجه به اینکه تانن موجود در این گیاه ازجمله ترکیب‌های بندآورنده خون شناخته شده است (Ashok & Upadhyaya, 2012)، می‌توان گفت وجود چنین ترکیب‌هایی در این گیاه نقش مهمی در انعقاد خون دارند.

www.SID.ir

Archive of SID

گروه‌های عاملی موجود در ساختار ترکیب‌های تانی به‌ویژه گروه‌های پلی‌فنولی امکان تشکیل ارتباطات بین پروتئین‌ها و سایر ماکرومولکول‌ها را فراهم می‌کنند که خود عامل مهمی در بندآوردن خونریزی است. اگرچه این مواد خاصیت قابض نیز داشته که دلیل دیگری در بندآوردن خون محسوب می‌شود (Ashok & Upadhyaya, 2012؛ Siebert *et al*., 1996). درواقع تانن‌ها باعث رسوب پروتئین‌ها می‌شوند و در اثر ترکیب با پروتئین‌ها، مقاومت آنها را در برابر آنزیم‌های پروتئولیتیک افزایش می‌دهند. پروتئین‌های موجود در بافت‌های سطحی با تانن منعقد می‌شوند و به این وسیله لایه محافظ ضعیفی بوجود می‌آید که در زیر آن تولید سلول‌های جدید امکان‌پذیر می‌گردد (Torkaman & Seyam, 2009).

نتایج بدست‌آمده از تحقیقات بر روی این گیاه دارویی در سراسر دنیا، تأییدکننده نتیجه بدست‌آمده از این مطالعه در مورد اثر انعقادی دانه بارهنگ کبیر است. Nayal و همکاران (۲۰۱۵) طی تحقیقاتی بر روی ۵ گیاه دارویی ازجمله بارهنگ متوجه شدند که این گیاه در متوقف کردن خونریزی نقش داشته و به‌عنوان گیاهی شناخته می‌شود که حداقل در یکی از مسیرهای انعقاد نقش به‌سزایی ایفاء می‌کند. Samuelsen و همکاران (۲۰۰۰) نیز به خاصیت درمان‌کنندگی زخم‌ها و خونریزی دهانی در مورد گیاه بارهنگ اشاره کرده‌اند. Emami و Amin (۲۰۱۰) آشامیدن عصاره بارهنگ را مهارکننده خونریزی‌های ریوی، بینی، داخلی و همچنین خونریزی هموروئید، خونریزی بیش از حد قاعدگی و استفراغ خونی بیان کرده‌اند. وجود ترکیب‌های شیمیایی ازجمله آپی‌ژنین، ایریدوئید، فلاونوئید، تانن، اسیدهای گیاهی، موسیلاژ، آلکالوئید، آمینواسید، کربوهیدرات و گلیکوزید در گیاه بارهنگ است که به‌نظر می‌رسد می‌توانند عامل انعقادی باشند. آپی‌ژنین موجود در بارهنگ ضدالتهاب و ادرارآور است و در بیماری التهاب مثانه همراه با خونریزی و نیز بیماری هموروئید خونریزی‌دهنده مصرف می‌شود (Newall *et al*., 1996).

در نهایت، از مجموع تأثیرات ذکرشده می‌توان چنین استنباط کرد که عصاره اتانولی دانه بارهنگ کبیر بر مسیر داخلی انعقاد خون اثر مطلوب و معنی‌داری دارد اما بر مسیر خارجی انعقاد اثری نداشته و نمی‌تواند یک عامل تسریع‌کننده روند تشکیل لخته (عدم تأثیر بر شاخص PT) محسوب شود. گفتنی است که این یافته‌ها قابل تعمیم به محیط in vivo نیست، زیرا جذب و متابولیسم این مواد در محیط in vivo برهم‌کنش‌های زیستی آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد؛ بنابراین به‌منظور ارزیابی هرگونه اثر انعقادی دانه بارهنگ کبیر، انجام آزمایش‌های in vivo در مدل‌های حیوانی و انسانی ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

از کارکنان محترم آزمایشگاه تشخیص طبی کلینیک ویژه دانشگاه علوم پزشکی شهرستان سبزوار و همچنین بیمارستان امداد شهید دکتر بهشتی سبزوار و نیز سرکار خانم فاطمه رهنمای قلعه رودخانی سپاسگزاری می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- Abbasi Gharacheh Narloo, M. and Pahlavan Sharif, M., 2017. Anthropological study in traditional herbal medicine in Markazi province (Case study: Mahallat city). Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine, 8(2): 283-296.
- Aminian, R., Mardani, M. and Davoodnia, B., 2018. The effect of hydro alcoholic extract of *Plantago major* and *Astragalus hamosus* on some gram-positive and gram-negative bacteria. Journal of Plant Research, 31(3): 956-967.
- Ashok, P.K. and Upadhyaya, K., 2012. Tannins are astringent. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1(3): 45-50.
- Chiang, L., Chiang, W., Chang, M., Ng, L. and Lin, C., 2002. Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds in vitro. Antiviral Research, 55(1): 53-62.
- Christenhusz, M.J. and Byng, J.W., 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase. Phytotaxa, 261(3): 201-217.
- Emami, A. and Amin, G., 2010. Barhang. Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine, 1(3): 287-290.

www.SID.ir

Archive of SID

1996. Herbal Medicines: A Guide For Health-CareProfessionals, The Pharmaceutical Press, 296p.
- Pagana, K.D. and Pagana, T.J., 2013. Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests. Elsevier Health Sciences, 1200p.
- Paseban, M., Fayzabadi, V.M., Meibodi, N.T., Yousefi, M., Doctor, A.H. and Rakhshandeh, H., 2019. The effect of hydro-alcoholic extract of *Plantago major* on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. Quarterly of Horizon of Medical Sciences, 25(1): 16-21.
- Razavi, S.M.A., Zahedi, Y. and Mahdavian Mehr, H., 2010. Some engineering properties of *Plantago major* L. (Barhang) seed. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 5(2): 88-96.
- Samuelsen, A.B., 2000. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. Journal of Ethnopharmacology, 71(1-2): 1-21.
- Siebert, K.J., Troukhanova, N.V. and Lynn, P.Y., 1996. Nature of polyphenol-protein interactions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44(1): 80-85.
- Taskova, R., Evstatieva, L., Handjieva, N. and Popov, S., 2002. Iridoid patterns of genus *Plantago* L. and their systematic significance. Zeitschrift für Naturforschung C, 57(1-2): 42-50.
- Torkaman, J. and Seyam, S., 2009. Measurement of tannin in treebarks of oak, beech, alder, horn beam and black walnut. Journal of Medicinal Plants, 8(29): 58-63.
- Galvez, M., Martin-Cordero, C., Lopez-Lazaro, M., Cortes, F. and Ayuso, M.J., 2003. Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines. Journal of Ethnopharmacology, 88(2-3): 125-130.
- Kennedy, C. and Rocks, M., 1973. Bedside control of heparin therapy by a simple whole blood clotting method. Journal of Clinical Pathology, 26(11): 893-894.
- McPherson, R.A., Pincus, M.R. and Henry, J.B., 2007. Henry s Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Saunders Elsevier, 1472p.
- Mirzaei, A., Mohammadi, J., Mirzaei, N. and Mirzaei, M., 2011. The antioxidant capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 1(3): 160-167.
- Mojtahedin, A., 2016. Study of the anxiolytic effects of *Plantago major* L. and possible role of gabaergic system in these effects in rats. Journal of Animal Physiology and Development, 9(3): 47-56.
- Nayal, R., Abajy, M.Y. and Takla, S., 2015. Investigating In Vitro the Hemostatic Effect of Some Medicinal Plants. Research Journal of Aleppo University, 100p.
- Nejati, N., Dolatian, M., Kamalinejad, M. and Khabazkhoob, M., 2018. The effect of *Plantago* oral syrup on hemoglobin and hematocrit levels in women with normal postpartum hemorrhage. Iranian Journal of Obstetrics Gynecology and Infertility, 21(4): 72-78.
- Newall, C.A., Anderson, L.A. and Phillipson, J.D.,

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of the *in vitro* effect of ethanolic extract of broadleaf plantain (*Plantago major* L.) seeds on the blood coagulation process

J. Mazinani[1], J. Vatandoost[2*], M. Vaezi Kakhki[3] and F. Ghorat[4]

1- M.Sc. student, Cellular and Molecular Biology, Faculty of Basic Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran
2*- Corresponding author, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran, E-mail: j.vatan@hsu.ac.ir
3- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran
4- Department of Traditional Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

Received: March 2020 Revised: May 2020 Accepted: June 2020

Abstract

Broadleaf plantain (*Plantago major* L.) is a herbaceous wild plant of the Plantaginaceae family with 10 to 45 cm in height and without stems. It grows in a wide area of Europe and Asia continents, as well as North Africa and North America, and in Iran almost everywhere. The seeds of the plant stop bleeding and are known as a plant source that plays an important role in at least one of the coagulation pathways. Therefore, this study was designed and implemented to evaluate the *in vitro* effect of ethanolic extract of broadleaf plantain seeds on human coagulation tests. The broadleaf plantain seeds were ground in a mortar and extracted in ethanol 80% for 48 hours. Extracts were dealcoholized by a rotary evaporator at 50 °C and the remaining water was removed from the oven at 40 °C. The obtained plant dry extract was prepared in different concentrations in Owren-Koller buffer and their effects on coagulation indices including prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT) and clotting time (CT) were evaluated and the results were analyzed by t-test. The results showed that the ethanolic extract of broadleaf plantain seeds reduced APTT, but had no significant effect on PT and CT. Although the ethanolic extract of broadleaf plantain seeds showed the coagulation effect in this study, further studies on animal and human models seem necessary.

Keywords: *Plantago major* L., prothrombin time, activated partial thromboplastin time, clotting time.

www.SID.ir