

اثر عصاره برگ مو بر فعالیت مکانیکی ایلئوم موش صحراوی

دکتر محمد کاظم خربب ناصری^۱، زیبا نجفی اردکانی^۲، ندا اعتماد^۳

چکیده

مقدمه: تاکنون در مورد خواص دانه انگور (*Vitis Vinifera*) تحقیقات فراوانی انجام شده ولی در باره خواص فارماکولوژی برگ انگور کمتر تحقیق شده است. عصاره آبی الکلی برگ مو انقباض ناشی از کلوروپتاسیم و اکسیتوسین را در رحم موش صحراوی مهار کرده و نیز سبب شل شدن آنورت می‌گردد. هدف این تحقیق بررسی اثر عصاره آبی الکلی برگ مو بر انقباضات ناشی از چند محرك شناخته شده در ایلئوم موش صحراوی و تا حدودی روش نمودن مکانیسم این اثر می‌باشد.

روش بررسی: عصاره برگ مو با استفاده از الکل ۷۰٪ با روش خیساندن تهیه و حلال آن تبخیر گردید. قطعاتی به طول ۲cm از انتهای ایلئوم موش صحراوی Sprague Dawley در حمام بافت حاوی محلول تایرود قرار داده شد. محلول حمام بافت به طور دائم اکسیژنه می‌شد. جهت تحریک ایلئوم از کلوروپتاسیم، استیل کولین و کلوروباریم استفاده شد. انقباضات ایلئوم به روش ایزووتونیک و تحت ۵/۰ گرم کشش اولیه ثبت شد و نتایج به صورت میزان کوتاه شدگی (بر حسب میلی متر) و یا میزان شل شدگی بر حسب درصد محاسبه گردید.

یافته‌ها: عصاره آبی الکلی برگ مو (۰/۰۵، ۰/۰۲ و ۰/۰۴ mg/ml) بصورت وابسته به غلظت سبب مهار انقباض ناشی از کلوروپتاسیم (۶۰ mM) می‌شود ($P<0/001$). بکاربردن آنتاگونیست آدرنوسپتورها (پروپرانولول ۱μM) مانع بروز این اثر مهاری نگردید. همچنین عصاره (۱mg/ml) انقباض ایلئوم ناشی از استیل کولین (۰/۰۵ و ۰/۰۵ μg/ml) را کاهش داد (به ترتیب $P<0/001$ و $P<0/05$). با این وجود، عصاره (۲mg/ml) تأثیری بر انقباض ناشی از کلوروباریم (۴mM) نداشت.

نتیجه‌گیری: عصاره آبی الکلی برگ مو احتمالاً از طریق مسدود کردن کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ موجب مهار انقباض ایلئوم موش صحراوی شده است. کلوروباریم با افزایش رهایش کلسیم از منابع درون سلولی سبب انقباض گردیده و لذا عصاره قادر به مهار انقباض ناشی از آن نبوده است. همچنین نتایج این تحقیق با کاربرد ستی برگ مو برای معالجه اسهال همخوانی دارد.

واژه‌های کلیدی: برگ مو، موش صحراوی، ایلئوم، کلوروپتاسیم استیل کولین، کلوروباریم

مقدمه

به طور مثال، بعضی از اجزای گیاهی مانند برگ مو در رژیم غذایی قرار می‌گیرد ولی به خواص درمانی آن توجه کافی نشده است. انگور یا مو (*Vitis Vinifera*) از تیره Vitaceae گیاهی است که بنا به بعضی از منابع، منشای انتشار آن در جهان و منطقه آسیای صغیر بوده ولی در حال حاضر تقریباً در تمام مناطق در نیم کره شمالی و جنوبی پرورش داده می‌شود^(۱). میوه انگور به صورت نارس (غوره)، رسیده و خشک

امروزه با مصرف فراینده داروهای صنعتی، بعضی از بیماران به عوارض جانبی این داروها مبتلا شده ولی در دهه‌های اخیر، بعد از سالها فراموشی نسبی، مصرف گیاهان دارویی مجدداً مورد توجه جوامع پزشکی و محققین قرار گرفته است.

۱- دانشیار گروه فیزیولوژی

۲- کارشناس مامایی

۳- دانشجوی دکترای داروسازی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی جندی شاپور - اهواز

با ۲۵۰ میلی لیتر الكل ۷۰٪ مخلوط شد و در دمای آزمایشگاه به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شد. سپس محلول عصاره از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. محلول صاف شده عصاره در مجاورت هوا و در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا حلal آن تبخیر شده و ماده خشک عصاره بdest آید.

ب - حیوانات و آماده سازی بافت: موشها (Sprague Dowley) نر و ماده با محدوده وزنی ۱۸۵ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و دمای اتاق حیوانات ۲۲°C تا ۲۶°C و علاوه بر غذای استاندارد جوندگان به موشها سبزیجات تازه نیز داده می شد. موشها ۲۴ ساعت قبل از آزمایش در قفس های ویژه با کف توری (به منظور جلوگیری از عمل مدفوع خواری) از غذا محروم شده ولی دسترسی آزاد به آب داشتند. موشها با زدن ضربه ناگهانی به پشت گردن کشته شدند و بلافصله باز کردن شکم و مشخص کردن ایلئوم، قطعاتی به طول ۲cm از انتهای آن جدا گردید و درون آنها با جریان ملایم محلول تایروود اکسیژن شده شستشو داده شد تا بقایای ترشحات و مواد موجود در آنها خارج شود. یکی از قطعات ایلئوم را درون حمام بافت (۱۰ ml) حاوی محلول تایروود با دمای ۳۷°C و PH ۷/۴ قرار داده و یک طرف ایلئوم به گیره استیل ته حمام بافت و طرف دیگر آن بوسیله قلاب و نخ به بازوی ترانسدیوسر ایزوتوونیک (Harvard Universal) متصل گردید. یک وزنه ۰/۵ گرمی متصل به بازوی مقابله ترانسدیوسر، ایلئوم را در حال کشش دایم قرار می داد. انقباضات ایلئوم منتقل شده به ترانسدیوسر پس از تقویت توسط دستگاه ثبات (Harvard Universal Oscilograph) با سرعت ۰/۱ میلی متر در ثانیه به صورت منحنی های بر روی کاغذ رسم می شد. با توجه به کالیبراسیون دستگاه، تغییرات طول ایلئوم در شرایط مختلف بصورت Mean \pm SEM مواردی نیز درصد شل شدگی ایلئوم محاسبه و ارایه گردیده اند. ترکیب محلول تایروود (بر حسب mM) شامل مواد زیر بود^(۱۳):

کلرور سدیم (۹/۱۳۶)، کلرور پتاسیم (۲/۶۸)، کلرور کلسیم (۱/۸)، یکربنات سدیم (۹/۱۱)، کلرور منیزیم (۰/۱۰۵)، فسفات منوسدیک (۰/۴۲) و گلوکز (۵/۵۵). دوره سازگاری ایلئوم در حمام بافت ۶۰ دقیقه بود که طی آن هر ۱۵ دقیقه محلول حمام

شده (کشمکش) استفاده می شود. با این وجود از برگ انگور ندرتاً در بعضی از کشورها از جمله ایران در تهیه غذا (دلمه برگ مو) استفاده می شود. در کتب گیاهان دارویی اشاره شده است که برگ انگور جهت درمان اسهال مفید است^(۲). گزارشهای متعددی در مورد اثرات مفید عصاره دانه انگور در کاهش رادیکالهای آزاد^(۳،۴)، کاهش کلسترول و تری گلیسریدها^(۵)، افزایش قدرت گلوبولهای قرم خون در برابر همولیز ناشی از تابش نور ماورای بنفش ارایه شده است^(۶). با این وجود مصرف دراز مدت این عصاره تا ۹۰ روز اثر سویی ندارد^(۷). از جمله محدود گزارش های ارایه شده در مورد برگ انگور می توان به اثر درمانی آن بر بیماری عدم کفایت مزمن وریدی (Chronic Venous Insufficiency) در انسان اشاره نمود^(۸). همچنین بنابر یک گزارش، عصاره برگ مو انقباضات رحم موش صحرایی ناشی از محركهای شناخته شده این اندام مانند کلورپتاسیم و هورمون اکسی توسین را کاهش می دهد و احتمال داده شده که این اثر مهاری از طریق انسداد کانالهای کلیسیمی وابسته به ولتاژ رخ می دهد^(۹). علاوه بر این، عصاره آبی الکلی برگ مو سبب کاهش انقباض ناشی از فنیل افرین و کلورپتاسیم در آثرت جدا شده موش صحرایی می گردد و پیشنهاد شده است که این اثر مهاری وابسته به اندوتیلیوم بوده و با دخالت نیتریک اکساید (NO) انجام می شود^(۱۰). همچنین این عصاره موجب کاهش انقباض در نای^(۱۱) و مجرای دفران^(۱۲) موش صحرایی می گردد. با توجه به عدم انجام تحقیق مدون در مورد اثرات عصاره برگ مو بر حرکات یکی از بخشهای دستگاه گوارش و نیز ضرورت شناسایی خواص گیاهان در کشور و تعیین دقیق کاربرد آنها در درمان بیماریها، هدف پژوهه حاضر تعیین اثر عصاره آبی الکلی برگ مو بر فعالیت مکانیکی ایلئوم موش صحرایی می باشد. همچنین سعی گردید تا حد امکان مکانیسم این اثر روشن شود.

روش بررسی

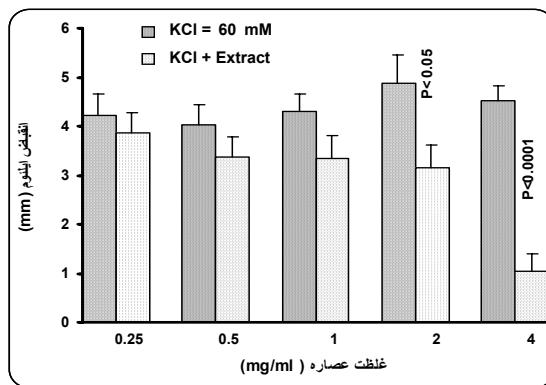
الف - تهیه عصاره: برگهای جوان مو در ابتدای بهار در شهر اهواز تهیه شد و پس از شستشو و خشک کردن آنها در سایه، بوسیله آسیاب برقی تبدیل به پودر گردید. مقدار ۵۰ گرم پودر تهیه شده

یک طرفه (جهت مقایسه نتایج چند گروه) ارزیابی و مقایسه شدن و مقدار P کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی دار تلقی گردید.

نتایج

الف - اثر عصاره برگ مو بر انقباض ایلشوم ناشی از کلورپتاسیم:

نمودار (۱) نشان می دهد که غلظتهای مختلف عصاره آبی الکلی برگ مو (۰/۲۵، ۰/۰۵، ۱، ۲ و ۴ mg/ml) بصورت وابسته به غلظت سبب کاهش انقباض ناشی از کلورپتاسیم (۶۰ mM) در ایلشوم موش صحراوی شده است ($n=10$). عدم تفاوت معنی دار ($P>0/05$) انقباضات ایلشوم طی ۵ مرحله کاربرد جداگانه کلورپتاسیم نشان می دهد که عضله در مدت اجرای آزمایش دچار خستگی نشده و همچنان قادر به انجام انقباضات مشابه می باشد. در نمودار (۲) میزان درصد شل شدگی ایلشوم را پس از به کار بردن غلظتهای مختلف (۰/۰۵، ۰/۰۵، ۱، ۲ و ۴ mg/ml) عصاره آبی الکلی برگ مو و پس از انقباض بوسیله کلورپتاسیم نشان می دهد. همانطور که در نمودار (۲) مشاهده می شود مقایسه آماری (آزمون t-test) بین اثر شل کنندگی عصاره در غلظتهای ۰/۰۵ و ۰/۰۵ mg/ml و نیز ۲ و ۴ mg/ml اختلاف معنی داری وجود دارد (به ترتیب: $P<0/05$ و $P<0/001$). مقایسه نتایج اثر مهاری غلظتهای مختلف (با استفاده از آزمون ANOVA) نیز وابسته بودن پاسخ مهاری را به غلظت عصاره نشان می دهد ($P<0/0001$).



مقایسه آماری (t-test) اثر مهاری عصاره در غلظتهای ۲ و ۴ mg/ml به ترتیب با P کمتر از ۰/۰۵ و ۰/۰۰۰۱ معنی دار می باشند ($n=10$).

نمودار ۱ - اثر غلظتهای مختلف عصاره آبی الکلی برگ مو بر انقباض ناشی از کلورپتاسیم در ایلشوم موش صحراوی.

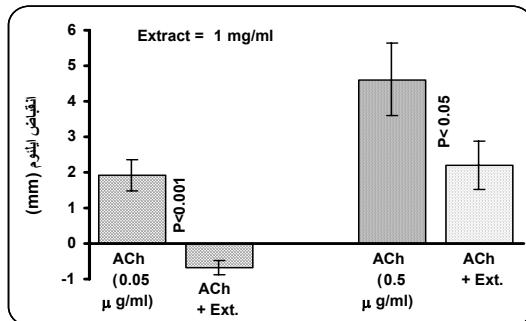
بافت تعویض می گردید. جریان دائم حبابهای اکسیژن در حمام بافت، ضمن تأمین اکسیژن بافت موجب یکنواخت شدن غلظت مواد اضافه شده به حمام بافت می گردید.

ج - روش کار: در این تجربه از غلظتهای نهایی ۰/۰۵، ۰/۰۵ و ۴ mg/ml عصاره و یا یکی از غلظتها استفاده شد. جهت تحریک ایلشوم از غلظتهای نهایی کلورپتاسیم با غلظت ۶۰ mM (۱۴) و کلوروباریم با غلظت ۴ mM (۱۵) و استیل کولین با غلظت ۰/۰۵ و ۰/۰۵ µg/ml (۱۳) استفاده شد. همچنین جهت بررسی دخالت ریپتورهای آدرنرژیک، از ماده پروپرانولول با غلظت ۱ µM (۱۶) استفاده شد. مدت اثر عصاره، مواد محرك و پروپرانولول بین ۱ تا ۳ دقیقه و فاصله زمانی بین بکاربردن غلظتهای مختلف عصاره حداقل ۱۰ دقیقه و یا برگشت تون ایلشوم به حالت اولیه خود بود. پس از هر بار استفاده از عصاره، محلول حمام بافت سه بار تعویض می گردید تا بقایای عصاره و سایر مواد از حمام بافت خارج شود. در تمام مدت آزمایش، جریان اکسیژن در حمام بافت برقرار بود. به منظور جلوگیری از تغییر غلظت ترکیب یونی محلول حمام، عصاره و کلیه مواد اضافه شده به حمام بافت در محلول تایرود حل شده و کلیه غلظتهای ذکر شده در متن، غلظت نهایی آنها میباشد. قبل از بررسی اثر مهاری عصاره، از پایدار بودن اثر انقباضی هر یک از مواد محرك (کلورپتاسیم، استیل کولین و کلوروباریم) طی ۳ دقیقه حضور آنها و نیز تکرار پذیر بودن اثر انقباضی اطمینان حاصل می شد و در غیر این صورت قطعه ایلشوم تعویض می گردید. چنانچه هدف ثبت منحنی غلظت - پاسخ بود، یک دقیقه بعد از حضور ماده محرك و رسیدن پاسخ انقباضی به حالت کفه، عصاره با غلظت مشخص اضافه می شد. بعد از اتمام این مرحله، حمام بافت ۳ بار تعویض می گردید و حداقل ۱۰ دقیقه به بافت استراحت داده می شد تا تون ایلشوم به حالت استراحت بازگردد و مجدداً این مراحل ولی با غلظت بیشتر عصاره تکرار می شد.

د - مواد: کلیه نمکهای استفاده شده از شرکت مرك (آلمان)، پروپرانولول از شرکت سیگما (آمریکا) تهیه شد.

نتایج مراحل مختلف آزمایش با استفاده از آزمونهای آماری t-test (جهت مقایسه نتایج دو گروه) و ANOVA

نمودار ۳ - اثر عصاره آبی الکلی برگ مو (۲mg/ml) بر انقباض ناشی از کلوروپتاسیم در غیاب و در حضور پروپرانولول در موش صحرایی
 ج- اثر عصاره بر انقباض ایلنوم ناشی از استیل کولین: در این مرحله ابتدا، استیل کولین با غلظت نهایی $0.05\text{ }\mu\text{g/ml}$ و $0.5\text{ }\mu\text{g/ml}$ و به مدت ۳ دقیقه بر ایلنوم اثر داده شد که موجب انقباض آن در تمام مدت حضور استیل کولین گردید. پس از تکرار همین مرحله به منظور مشاهده تکرار پذیر بودن این اثر، در مراحل بعد پس از یک دقیقه حضور استیل کولین عصاره با غلظت نهایی 1 mg/ml به حمام بافت اضافه شد. همانطوری که در نمودار (۴) دیده می‌شود عصاره نه فقط سبب از بین رفتن انقباض ایلنوم ناشی از استیل کولین ($0.05\text{ }\mu\text{g/ml}$) گردید بلکه موجب شده است که طول ایلنوم از مقدار استراحت آن نیز بیشتر شود. همین مراحل در مورد غلظت $0.5\text{ }\mu\text{g/ml}$ استیل کولین تکرار شد. مقایسه نتایج دو غلظت استیل کولین نشان می‌دهد که با افزایش غلظت استیل کولین انقباض قویتری در ایلنوم ایجاد شده ولی اثر شل کنندگی عصاره اگر چه کمتر شده ولی همچنان قابل ملاحظه

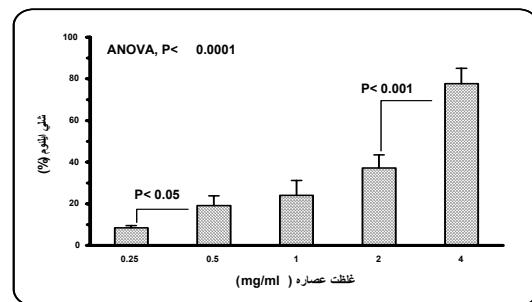


می‌باشد (به ترتیب: $P<0.001$ و $P<0.05$ و $n=5$).

آزمونهای آماری انجام شده (t-test) وجود اختلاف معنی‌دار را در هر دو مورد نشان می‌دهد.

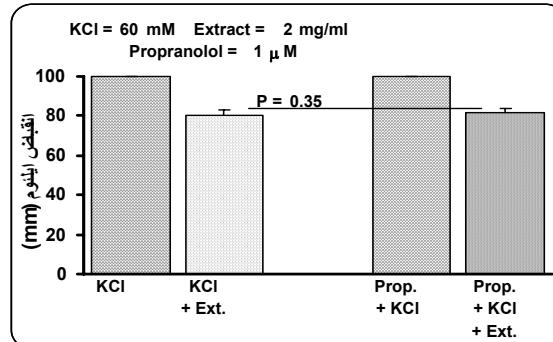
نمودار ۴ - عملکرد مهاری عصاره آبی الکلی برگ مو (۱mg/ml) بر انقباض ایلنوم موش صحرایی ناشی از دو غلظت مختلف استیل کولین

د- اثر عصاره بر انقباض ایلنوم ناشی از کلروبراریم: در این مرحله کلروبراریم با غلظت 4 mM به مدت ۳ دقیقه بر ایلنوم اثر داده شد و با تکرار این مرحله اطمینان حاصل شد که اولاً انقباض ایجاد شده پایدار بوده و ثانیاً اثر مشاهده شده تکرار پذیر می‌باشد. طی



آزمون t-test اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. همچنین آزمون آماری آنالیز واریانس وایستگی پاسخ مهاری را به غلظت عصاره نشان می‌دهد (n=10). نمودار ۲- درصد شل شدن ایلنوم ناشی از غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی برگ مو به دنبال انقباض ایلنوم حاصل از کلوروپتاسیم در موش

ب- عملکرد مهاری عصاره بر انقباض ایلنوم ناشی از کلوروپتاسیم در حضور پروپرانولول: با توجه به اینکه تحریک آدرنوپتیورها موجب کاهش فعالیت مکانیکی ایلنوم می‌گردد لذا، در این مرحله سعی گردید با بکار بردن آنتاگونیست این رسپتورها (پروپرانولول) از بروز این اثر احتمالی جلوگیری شود. لذا، ابتدا عملکرد مهاری عصاره آبی الکلی برگ مو (۲mg/ml) بر انقباض ناشی از کلوروپتاسیم (60 mM) به عنوان مرحله شاهد ثبت شد. محلول حمام ۳ بار تعویض گردید و حداقل ۱۰ دقیقه به بافت استراحت داده شد. سپس غلظت نهایی $1\text{ }\mu\text{M}$ از پروپرانولول در حمام بافت ایجاد شد و فرست داده شد تا اثرات خود را طی ۲ دقیقه نشان دهد و در حضور پروپرانولول، اضافه کردن کلوروپتاسیم و عصاره با همان غلظت تکرار شد. نمودار (۳) نشان می‌دهد که پروپرانولول بر انقباض ناشی از کلوروپتاسیم اثری ندارد. همچنین، حضور پروپرانولول تأثیری بر

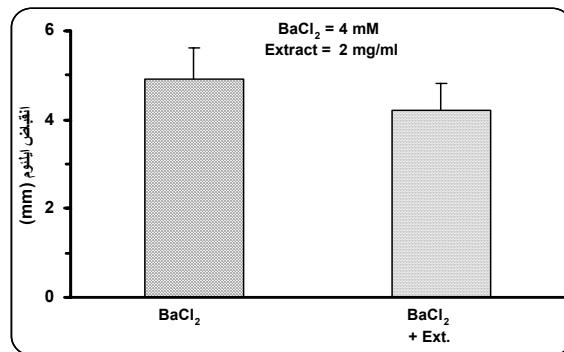


عملکرد مهاری عصاره نداشته است.

مرحله بعدی، پس از یک دقیقه حضور کلرورباریم و در حضور آن، عصاره با غلظت 2mg/ml به حمام اضافه شد.

مطرح شود که در عصاره حاضر ترکیبات محرک این رسپتورها وجود داشته باشد. اما، عدم تأثیر حضور پروپرانونولول (آتاگونیست غیر انتخابی رسپتورهای β) بر شلی ناشی از عصاره، این فرضیه را رد می‌کند. در مورد استیل کولین باید اشاره نمود که این ماده با اتصال به رسپتورهای اختصاصی خود روی غشاء سلولهای عضله صاف موجب دپولاریزه شدن و در نهایت باز شدن کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ و انقباض آن می‌گردد^(۱۶). بروز اثر مهاری عصاره بر انقباض ایلئوم ناشی از استیل کولین نیز می‌تواند مؤید انسداد این کانالها به وسیله عصاره باشد. از طرف دیگر ممکن است احتمال داده شود که عملکرد عصاره با دخالت رسپتورهای کولینرژیک انجام می‌شود. ولی گزارش دیگری نشان می‌دهد که این عصاره سبب کاهش نیروی انقباضی و ضربان قلب ایزوله قورباغه گردیده ولی آتروپین بر این عملکرد مهاری تأثیری نداشته است^(۱۹) و لذا فرضیه دخالت مستقیم رسپتورهای کولینرژیک نیز رد خواهد شد. از طرف دیگر عصاره بر انقباض ایلئوم ناشی از کلوروباریم اثر قابل ملاحظه‌ای نداشته است. در مورد نحوه اثر کلوروباریم پیشنهاد شده است که این ماده با انسداد کانالهای پتاسیمی سبب جلوگیری از خروج پتاسیم از سلول شده و با دپولاریزه شده غشاء موجب انقباض می‌گردد ولی کلسیم مورد استفاده در این انقباض از منابع درون سلولی تأمین می‌شود^(۲۱). احتمالاً به همین دلیل در این تجربه، عصاره به‌خوبی قادر به جلوگیری از انقباض ناشی از کلوروباریم نبوده است. از طرف دیگر، یکی از ترکیبات موجود در برگ مو فلاونوئید Quercetin می‌باشد^(۲۲) که موجب شل شدن رحم موش صحرایی می‌شود^(۲۳). لذا این احتمال وجود دارد که Quercetin موجود در برگ مو عامل اصلی عملکرد مهاری عصاره در تجربه حاضر باشد. با توجه به اینکه بعضی از اسهال‌ها ناشی از افزایش فعالیت سیستم پاراسمپاتیکی و افزایش رهایش استیل کولین از پایانه‌های عصبی این سیستم رخ می‌دهد بنابراین، نتایج تحقیق حاضر نیز مؤید مصرف سنتی برگ این گیاه به عنوان یک ماده ضد اسهال می‌باشد. با توجه به اینکه از برگ مو منحصرآ در تهیه یک نوع غذا استفاده می‌گردد، لذا با ادامه این گونه تحقیقات شاید بتوان از اثرات درمانی آن نیز بهتر بهره‌مند گردید.

نمودار(۵) نشان می‌دهد که عصاره موجب شل شدن مختصراً در ایلئوم گردیده است ولی این اثر معنی دار نمی‌باشد.



نمودار ۵ مقایسه میزان انقباض ایلئوم موش صحرایی ناشی از کلوروباریم به تنهایی و نیز تأثیر مهاری عصاره آبی الکلی برگ مو بر انقباض

بحث

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره آبی الکلی برگ مو به صورت وابسته به غلظت سبب کاهش انقباض ایلئوم ناشی از کلوروپتاسیم و کاهش انقباض ناشی از استیل کولین گردیده ولی اثر قابل ملاحظه‌ای بر انقباض ناشی از کلوروباریم نداشته است. کلوروپتاسیم از شناخته‌ترین عوامل انقباضی عضله صاف لوله گوارش است که از طریق دپولاریزه کردن سلولها سبب بازشدن کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ می‌گردد^{(۱۴) و (۱۷)}. اثر قوی مشاهده شده از عصاره بر انقباض ناشی از کلوروپتاسیم می‌تواند مؤید وجود موادی در عصاره باشد که سبب انسداد کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ می‌گردد. زیرا پیشنهاد شده است که موادی که بتوانند انقباض ناشی از کلوروپتاسیم را مهار کنند، مسدود کننده کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ هستند^(۱۸). نتایج این مرحله با نتایج مهاری گزارش شده از این عصاره بر انقباض ناشی از کلوروپتاسیم بر رحم^(۴)، آئورت^(۱۰)، نای^(۱۱) و مجرای دفران^(۱۲) در موش صحرایی هم خوانی دارد. همچنین، اثر قوی همین عصاره بر قلب ایزوله نیز احتمال انسداد کانالهای کلسیمی در تحقیق حاضر را تقویت می‌کند^(۱۹). با توجه به اینکه تحریک آدرنوسپتورها در ایلئوم موجب مهار انقباض می‌گردد^(۲۰)، لذا ممکن است این فرضیه

References

- 1- Bombardelli E, Morazzoni P; *Vitis vinifera*. Fitoterapia. 1995; 66: 291-317.
- 2- زرگری علی. گیاهان دارویی. جلد اول. انتشارات دانشگاه تهران. تهران. ۱۳۷۱: ۵۴۴-۵۳۶.
- 3- Bagchi D, Gray A, Krohn RL, Bagchi M, Tran MX, Stohs SJ: *Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro*. Res Commun Mol Pathol Pharmacol. 1997; 95: 179-189.
- 4- Pataki T, Bak I, Kovacs P, Bagchi D, Das DK, Tosaki A: *Grape seed proanthocyanidins improved cardiac recovery during reperfusion after ischemia in isolated rat hearts*. Am J Clin Nutr. 2002; 75(5): 894-899.
- 5- Yu H, Zhao X, Xu, G, Wang SE. *Effect of grape seed extracts on blood lipids in rabbits model with hyperlipidemia*. Wei Sheng Yan Jiu. 2002; 31(2): 114-116.
- 6- Carini M, Aldini G, Bombardelli E, Morazzoni P, Maffei Fracino R. *UVB-induced hemolysis of rat erythrocytes: protective effect of procyanidins from grape seeds*. Life Sci. 2000; 67 (15): 1799-1814.
- 7- Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S, Kikuchi M. *Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds*. Food and Chemical Toxicology. 2002; 40(5): 599-607.
- 8- Kiesewetter H, Koscielny J, Kalus U, Vix J.M, Peil H, Petrini O, van Toor B.S, de Mey C. *Efficacy of orally administered extract of red vine leaf AS 195 (folia vitis viniferae) in chronic venous insufficiency (stage I-II). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Arzneimittelforschung 2000; 50(2):109-117.
- 9- غریب ناصری محمد کاظم، احسانی، پروین. اثر عصاره آبی اکلای برگ مو *Vitis vinifera* بر رحم جدا شده موش صحرایی. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، جلد هفتم، شماره ۲، ۱۳۸۲: ۱۱۴-۱۰۷.
- 10- غریب ناصری محمد کاظم، نوید حمیدی، مژده حیدری، اثر شل کننده عروقی عصاره برگ مو بر آثربورت جدا شده موش صحرایی. فصلنامه گیاهان دارویی، سال سوم، شماره ۴: ۱۳۸۲-۴: ۴۳-۴۳.
- 11- Gharib Naseri MK, Heidari A. *Relaxatory effect of Vitis vinifera leaf extract on rat isolated trachea*. 2nd International Congress Traditional Medicine and Materia Medica. Tehran, 2004 :156.
- 12- Gharib Naseri MK, Vakilzadeh G. *Rat vas deferens relaxation induced by Vitis vinifera leaf extract*. 2nd International Congress Traditional Medicine and Materia Medica. Tehran, 2004, :155.
- 13- Basle R, Stuttgart H, Hugstetten H. *Experiments on isolated smooth muscle preparations. HSE Biological measuring techniques*. Germany, 1980: 134- 41.
- 14- Madeira SVF, Matos FJA, Leal-Cardoso JH, Criddle DN. *Relaxant effects of the essential oil of Ocimum gratissimum on isolated ileum of the guinea pig*. J Ethnopharmacol. 2002; 81: 1-4.
- 15- Yarim M, Sarac S, Ertan M, Batu OS, Erol K. *Synthesis, structural elucidation and pharmacological properties of some 5-acetyl3,4-dihydro-6-methyl-4-(substituted phenyl)-2(1H)-pyrimidinones*. Farmac 1999; 54(6): 359-363.
- 16- Gutierrez M, Gracia de Boto M.J, Cantabrina B, Hidalgo A. *Mechanisms involved in the spasmolytic effect of extracts from Sabal serrulata fruit on smooth muscle*. Gen Pharmacol. 1996; 27(1): 171-176.
- 17- Sadraei H, Ghannadi A, Malekshahi K. *Relaxant effect of essential oil of Melissa officinalis and citral on rat ileum contractions*. Fitoterapia 2003; 74: 445-452.
- 18- Wang GJ, Wu XW, Lin YL, Ren J, Shum AYC, Wu YY, Chen CF. *Ca²⁺ channel blocking effect of iso-S-petasin in rat aortic smooth muscle*

- cells.* Eur J Pharmacol.2002;445:239-245.
- ۱۹- غریب ناصری، محمد کاظم. اثر عصاره آبی الکلی بر گرگ پو قلب پروفیوز شده قورباغه. مجله طبیب شرق، سال پنجم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۲: ۲۲۷-۲۳۵.
- ۲۰- Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman Gilman A. *Goodman & Gilman's, The Pharmacological Basis of Therapeutics.* 9th ed. New York: McGraw-Hill; 1996:110.
- ۲۱- Smaili SS, Jurkiewicz NH, Gracia AG, Jurkiewicz A. *Comparison of the effect of calcium withdrawal from the medium and of blockage of extracellular calcium entry by isoradipine on the contractile responses of the isolated rat stomach.* Braz J Med Biol Res 1991; 24(9): 953-956.
- ۲۲- Diaz Lanza AM, Elias R, Maillard C, Faure R, de Sotto M, Balansard G. *Flavonoids of 3 cultivars vine leaves, Vitis Vinifera L. var. tinctoria (Alicante, Carignan, Grand noir). Value in chemical control.* Ann Pharm Fr. 1989; 47(4): 229-234.
- ۲۳- Revuelta MP, Hidalgo A, Cantabrana B. *Involvement of cAMP and beta-adrenoceptors in the relaxing effect elicited by flavonoids on rat uterine smooth muscle.* J Auton Pharmacol.1999; 19(6): 353-358.