

اثر عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی (*Zataria multiflora Boiss*)

بر ایلئوم موش صحرائی

دکتر محمد کاظم غریب ناصری*

چکیده :

سابقه و هدف : آویشن یا آفیشن (*Zataria multiflora Boiss*) گیاهی از تیره نعناع با تأثیرات ضد تشنج و ضدالتهاب و ضد درد است و در کتب گیاهان دارویی اشاره شده است که این گیاه مسکن دردهای قاعدگی می باشد. تاکنون اثر این گیاه بر حرکات دستگاه گوارش بررسی نشده است، لذا هدف این تحقیق اولیه، بررسی اثر عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی بر ایلئوم موش صحرائی در حضور چند محرک شناخته شده می باشد.

مواد و روش ها : از پودر برگ آویشن به روش خیساندن و با کمک الکل ۷۰٪ عصاره گیری شد. از انتهای ایلئوم موش های نر و ماده بالغ، قطعاتی به طول ۲cm تهیه و در حمام بافت حاوی محلول تایرود استاندارد قرار داده شد. انقباضات بافت ناشی از کلروپتاسیم، استیل کولین و کلروباریم به روش ایزوتونیک در حضور غلظت های معین از عصاره تحت نیم گرم کشش اولیه ثبت گردید. انقباضات در مراحل مختلف بر حسب mm و یا درصد تغییرات طول محاسبه و مقایسه شدند.

یافته ها : غلظت های نهایی عصاره (۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ mg/ml) انقباضات ایلئوم ناشی از کلروپتاسیم (۶۰mM) را به صورت وابسته به غلظت کاهش داد ($P < ۰/۰۰۰۱$). حضور پروپرانولول (۱μM) تأثیری در عملکرد شل کنندگی عصاره نداشت ($P = ۰/۲۸$). همچنین، عصاره (۱mg/ml) توانست انقباض ایلئوم ناشی از استیل کولین (۰/۰۵μg/ml) را کاهش دهد ($P < ۰/۰۰۱$). همین غلظت عصاره انقباض ایلئوم ناشی از کلروباریم (۴ mM) را نیز کاهش داد ($P < ۰/۰۵$).
بحث : از نتایج به دست آمده می توان نتیجه گیری نمود که عصاره آبی الکلی برگ آویشن احتمالاً از طریق انسداد کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ، سبب کاهش انقباض ایلئوم ناشی از کلروپتاسیم، استیل کولین و کلروباریم گردیده، است ولی این اثر مهارتی نتیجه وجود مواد آگونیستی آدرنرژیک در عصاره نمی باشد. با توجه به اثر مهارتی شدیدتر به پاسخ انقباضی ناشی از استیل کولین، به نظر می رسد که این عصاره دارای خاصیت آنتی کولینرژیکی نیز باشد. نتایج به دست آمده، همچنین تأییدی بر مصرف این گیاه در طب سنتی می باشد.

کلید واژه ها : آویشن، ضداسپاسم، موش صحرائی، ایلئوم، کلروپتاسیم، استیل کولین.

* استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اهواز

* عهده دار مکاتبات: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، دکتر محمد کاظم غریب ناصری، شماره تلفن های تماس :

مقدمه:

و Carvacrol موجود در آن می‌دانند (۹). علاوه بر این، گزارش شده که عصاره آبی الکلی برگ آویشن سبب کاهش انقباضات رحم ناشی از به‌کارگیری استیل‌کولین و کلروپتاسیم در موش صحرایی می‌گردد و نتیجه‌گیری شده که احتمالاً این اثر مهاری ناشی از انسداد کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ باشد (۱۰). با توجه به اینکه تاکنون بررسی دقیقی در مورد اثر آویشن بر حرکات دستگاه گوارش گزارش نشده است؛ لذا هدف تحقیق حاضر بررسی اثر عصاره آبی الکلی برگ آویشن بر عملکرد چند محرک شناخته شده بر ایلئوم موش صحرایی و تا حد امکان، روشن نمودن مکانیسم این اثر می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

گیاه آویشن از عطاری‌های معتبر اهواز خریداری و برگ‌های آن از گل و ساقه جدا و آسیاب شد تا به‌صورت پودر درآیند. گیاه توسط کارشناسان مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان شناسایی و تأیید گردید. برای تهیه عصاره از روش خیساندن استفاده شد (۱۱). بدین منظور، ۲۵ گرم پودر در الکل ۷۰٪ به مدت ۷۲ ساعت قرار داده و هر روز در چند نوبت مخلوط به‌هم زده شد. در پایان این دوره، محلول عصاره از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. محلول صاف‌شده روی سطح شیشه گسترده شد تا حلال آن در دمای اتاق تبخیر شود. سپس، عصاره خشک‌شده از سطح شیشه تراشیده شد و تا زمان استفاده، در دمای ۴°C نگهداری شد. مقدار عصاره خشک برابر ۳/۲۷۵ گرم و نسبت استخراج ۱۳/۱٪ بود. موش‌های صحرایی نر و ماده

آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) از تیره نعناع (Labiatae) گیاهی بوته‌مانند با ساقه‌های متعدد و نازک و بسیار منشعب، برگ‌های کوچک و گل‌های سفید رنگ است. این گیاه بومی کشورهای افغانستان و پاکستان بوده است (۱) و در ایران نیز در استان‌های لرستان، خوزستان، اصفهان، فارس، کرمان و خراسان می‌روید (۲). از نام‌های دیگر این گیاه، آفشن، آویشم و آبشن شیراز می‌باشد (۲). از ترکیبات این گیاه می‌توان به *zatatriol*، *p-cymene*، *thymol* و β -sitosterol اشاره نمود (۳). اعضای مختلف این گیاه دارای خواص درمانی مشابه انواع دارویی *Origanum* و از جمله ضد تشنج، تقویت‌کننده دستگاه عصبی، مسکن درد معده و کاهش دردهای قاعدگی هستند (۲). تأثیرات ضد التهابی و ضد درد برگ آویشن نیز گزارش شده است (۱). در همین مورد گزارش شده است که این گیاه می‌تواند التهاب مزمن را مهار کند و چون نالوکسان عملکرد ضد درد این عصاره را مهار می‌کند، لذا احتمال داده شده است که این عصاره از طریق رسپتورهای اپیوئیدی عمل می‌کند (۱). بنا به یک گزارش، عصاره آبی الکلی برگ آویشن در مقایسه با دیگر عصاره‌های این گیاه به‌طور مؤثرتری درد پیچش شکم را در موش سوری تسکین می‌دهد (۴). تأثیرات درمانی این گیاه علیه برفک دهانی در انسان (۵ و ۶) و قدرت ضد قارچی (۷) این گیاه گزارش شده است و نیز فعالیت *antiplasmodial* این گیاه را مربوط به وجود *Betulinic acid* (۸) و عملکرد ضد میکروبی اسانس آن را مربوط به تیمول

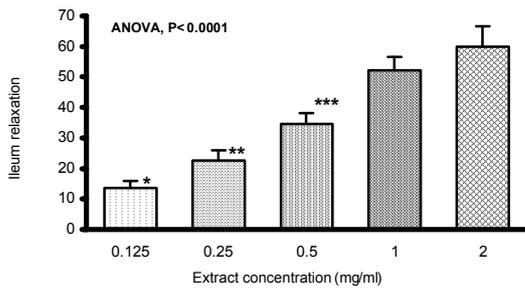
شرکت مرک آلمان و پروپرانولول از شرکت Astra Zeneca (UK) بودند. به منظور جلوگیری از تغییر ترکیب محلول حمام، عصاره و مواد استفاده شده همگی در محلول تایرود حل شدند. ترکیب محلول تایرود (بر حسب mmol/l) شامل کلرورسدیم (۱۳۶/۹)، کلرورپتاسیم (۲/۶۸)، کلرورکلسیم (۱/۸)، بیکربنات سدیم (۱۱/۹)، کلرور منیزیم (۱/۰۵) و گلوکز (۵/۵۵) بود (۱۲). غلظت‌های نهایی استفاده شده عصاره ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بودند و حداقل فاصله زمانی بین به کار بردن غلظت‌های مختلف عصاره، ۱۰ دقیقه و یا بازگشت تون ایلئوم به حد پایه بود.

یافته‌ها :

الف- اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ آویشن شیرازی بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرورپتاسیم:

به منظور بررسی اولیه اثر کلرور پتاسیم بر ایلئوم، ابتدا کلرور پتاسیم ۶۰ mM (۱۳) طی دو مرحله جداگانه و به مدت ۳ دقیقه بر بافت اثر داده شد تا از انجام انقباضات مشابه و استمرار قدرت انقباضی ایلئوم در حضور کلرور پتاسیم اطمینان حاصل شود. سپس، بعد از یک دقیقه حضور کلرور پتاسیم (۶۰ mM)، عصاره با غلظت نهایی ۰/۱۲۵ mg/ml به حمام بافت اضافه گردید و ۲ دقیقه فرصت داده شد تا تأثیر خود را نشان دهد. پس از شستشو و ۱۰ دقیقه استراحت، مشابه مرحله قبل مجدداً به حمام بافت کلرورپتاسیم و عصاره، ولی با غلظت بالاتر اضافه شد. غلظت‌های

(گرم ۱۵/۲ ± ۲۴۷/۵) در اتاق حیوانات دانشکده پزشکی اهواز (دمای ۲۰ تا ۲۴°C و سیکل روشنایی ۱۲ ساعته) نگهداری و با غذای کنسانتره (تهیه شده از خوراک دام بهبهان) تغذیه می‌شدند. حیوانات پس از ۲۴ ساعت نگهداری در قفس‌های ویژه با کف توری (به منظور جلوگیری از مدفوع خواری) و محرومیت از غذا، ولی دسترسی آزاد به آب، با زدن ضربه به پشت گردن کشته شدند و پس از باز کردن شکم، از انتهای ایلئوم چند قطعه به طول ۲cm جدا گردید. داخل قطعات ایلئوم با محلول سرد و اکسیژنه تایرود به آرامی شستشو شدند و تا زمان استفاده در محلول تایرود استاندارد اکسیژندار (۱۲) و در یخچال نگهداری شدند. در حمام بافت (۱۰ ml) که دائماً اکسیژنه می‌شد، بافت از یک طرف به گیره استیل در ته حمام و از بالا به وسیله قلاب و نخ به بازوی ترانس دیوسر ایزوتونیک (Harvard) متصل و تحت نیم گرم کشش قرار داده شد. دمای حمام بافت ۳۷°C و pH آن ۷/۹ (۱۲) تنظیم شد و دوره سازگاری بافت ۴۵ تا ۶۰ دقیقه بود که طی این دوره، هر ۱۵ دقیقه محلول حمام تعویض می‌شد. حرکات بازوی ترانس دیوسر ناشی از انقباض ایلئوم به وسیله دستگاه ثبت (Harvard Universal Oscillograph) تقویت و با سرعت ۰/۱ mm/s روی کاغذ ثبت می‌شد. انقباضات ثبت شده ایلئوم با توجه به کالیبراسیون انجام شده بر حسب میلی‌متر و یا درصد تغییرات طول محاسبه و نتایج (خطای معیار ± میانگین) با استفاده از آزمون‌های t-test و ANOVA مقایسه و P کوچکتر از ۰/۰۵ معنادار تلقی گردید. استیل کولین و همه نمک‌های استفاده شده محصول

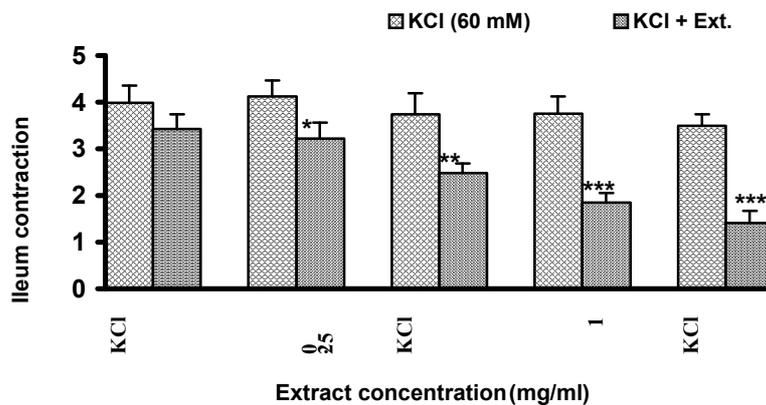


نمودار ۲- مقایسه درصد اثر مهاری غلظتهای مختلف عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی بر انقباض ناشی از کلروپتاسیم (۶۰mM) در ایلئوم موش صحرائی (n = ۷-۸).
 * P < ۰/۰۵ ، ** P < ۰/۰۲ و *** P < ۰/۰۱

ب - اثر حضور پروپرانولول بر تأثیر شل‌کنندگی عصاره:

در این گروه ابتدا، اثر یک دقیقه کلروپتاسیم (۶۰mM) و سپس تأثیر ۲ دقیقه عصاره (۱ mg/ml) در حضور کلروپتاسیم ثبت شد. بعد از شستشوی بافت و ۱۰ دقیقه استراحت، مرحله قبلی تکرار شد با این تفاوت که به مدت یک دقیقه پروپرانولول (۱ μM)

نهایی بکار رفته عصاره شامل ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر بودند. نتایج این مرحله نشان می‌دهد، عصاره به صورت وابسته به غلظت، انقباض ایلئوم ناشی از کلروپتاسیم را کاهش می‌دهد (ANOVA و P < ۰/۰۰۰۱) که نتایج آن در نمودار ۱ نشان داده شده‌اند. همچنین مقایسه انقباضات ناشی از کلروپتاسیم طی پنج مرحله متوالی نشان می‌دهد که این انقباضات اختلاف معناداری با هم ندارند (ANOVA و P = ۰/۸۴). نمودار ۲ نیز درصد کاهش نیروی انقباضی ایلئوم را در حضور غلظت‌های مختلف عصاره نشان می‌دهد. درصد کاهش انقباض ناشی از کلروپتاسیم در حضور عصاره با غلظت ۰/۱۲۵ mg/ml برابر ۲/۴۱ ± ۱۳/۵٪ و با غلظت ۲ mg/ml برابر ۶/۸ ± ۵۹/۹٪ بود و به عبارت دیگر کاهش انقباض حاصله وابسته به غلظت عصاره است (ANOVA و P < ۰/۰۰۰۱). مقایسه‌های آماری بین تأثیرات غلظت‌های مختلف عصاره به روش t-test نیز در نمودار ۲ ارائه شده‌اند.

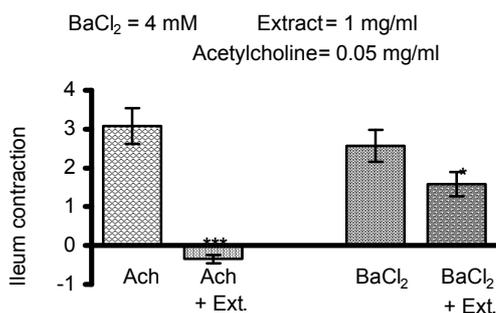


نمودار ۱- مقایسه اثر انقباضی کلروپتاسیم (۶۰mM) در ایلئوم موش صحرائی در غیاب و در حضور غلظتهای مختلف عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی (n = ۷-۸) و مقادیر P با روش ANOVA برای اثرات کلروپتاسیم برابر ۰/۸۴ و برای اثرات عصاره کوچکتر از ۰/۰۰۰۱ می‌باشد).
 * P < ۰/۰۵ ، ** P < ۰/۰۱ و *** P < ۰/۰۰۱

۰/۰۵ μg/ml) به مدت یک دقیقه و بعد از آن، اثر ۲ دقیقه عصاره (۱ mg/ml) در حضور استیل کولین ثبت شد. عصاره اثر انقباضی استیل کولین را کاملاً از بین برد ($P < ۰/۰۰۰۱$) و حتی طول ایلئوم بیش از حالت استراحت آن گردید. نتایج این گروه در نمودار ۴ نشان داده شده است.

د- اثر عصاره برگ آویشن شیرازی بر انقباض ایلئوم ناشی از کلرورباریم:

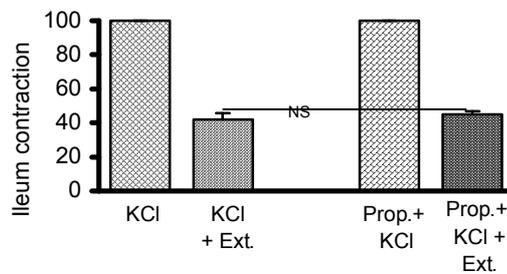
در این مرحله، ابتدا کلرورباریم ۴mM (۱۵) طی دو دوره ۳ دقیقه‌ای بر بافت اثر داده شد تا از عدم شل شدن بافت در حضور مستمر کلرورباریم اطمینان حاصل شود. سپس، اثر انقباضی کلرورباریم با غلظت قبلی به مدت یک دقیقه و بعد از آن، اثر ۲ دقیقه حضور عصاره (۱ mg/ml) ثبت شد. عصاره اثر انقباضی کلرورباریم را به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد ($P < ۰/۰۵$). نمودار ۴ نشان‌دهنده نتایج این بخش از تحقیق می‌باشد.



نمودار ۴ - اثر انقباضی استیل کولین (۰/۰۵ μg/ml) و کلرورباریم (۴mM) بر ایلئوم موش صحرایی در حضور غلظت ۱ mg/ml عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی

بر بافت اثر داده شد (۱۴). همان‌طوری که در نمودار ۳ دیده می‌شود، پروپرانولول اثری بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم ندارد و عصاره مانند مرحله قبل، سبب کاهش انقباض ناشی از کلرورپتاسیم گردید (میزان کاهش انقباض $۱/۸۴ \pm ۰/۵۴/۵$ در برابر $۳/۴۹ \pm ۰/۵۷/۹$) بود که اختلاف معناداری با حالت عدم حضور پروپرانولول نداشت ($P = ۰/۲۸$).

KCl = 60 mM Extract = 1 mg/ml
Propranolol = 1mM



نمودار ۳ - مقایسه درصد اثر مهار غلظت ۱mg/ml عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی بر انقباض ایلئوم موش صحرایی ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰mM) در غیاب و در حضور پروپرانولول با غلظت ۱μM. نمودار نشان می‌دهد که پروپرانولول اثری بر عملکرد مهار عصاره نداشته است ($n = ۵$). NS = اختلاف معنا دار نیست.

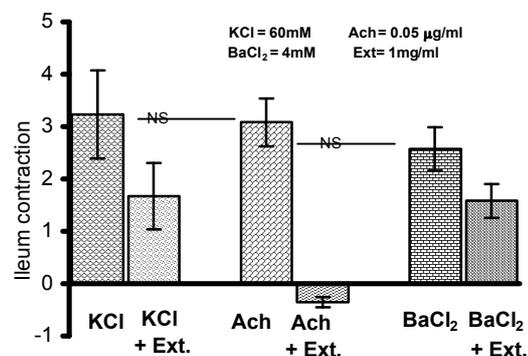
ج- اثر عصاره برگ آویشن شیرازی بر انقباض ایلئوم ناشی از استیل کولین:

در مرحله اول ابتدا، استیل کولین با غلظت نهایی ۰/۰۵ μg/ml طی دو مرحله جداگانه به مدت ۲ دقیقه بر بافت اثر داده شد تا از عدم کاهش نیروی انقباضی بافت در حضور مستمر استیل کولین اطمینان حاصل شود. سپس، اثر انقباضی استیل کولین

محرک‌های به کار برده شده (کلروپتاسیم، استیل کولین و کلوروباریم) گردید. اگرچه تأثیرات ضد میکروبی (۱۶) و ضد التهاب و ضد درد (۱ و ۴) گیاه آویشن گزارش شده است، ولی در مورد آثار عصاره آبی الکلی برگ آن بر حرکات لوله گوارش تحقیقاتی انجام نشده است. با وجود این، اثر ضد اسپاسم *Thymus vulgaris* (که از تیره نعناع می‌باشد) بر ایلتوم و تراشه خوکیچه هندی گزارش گردیده است (۱۷ و ۱۸). کلروپتاسیم از شناخته شده ترین عوامل بازکننده کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ است و با آثار مشاهده شده از غلظت‌های مختلف عصاره می‌توان پیشنهاد نمود که احتمالاً عصاره آبی الکلی برگ آویشن با انسداد این کانال‌ها، سبب کاهش ورود این یون و در نتیجه موجب کاهش انقباض ناشی از کلروپتاسیم در ایلتوم گردیده است. این نتایج با نتایج حاصل از تأثیر همین عصاره در انقباض ناشی از کلروپتاسیم در رحم موش صحرائی همخوانی دارد (۱۰). از طرف دیگر این نتایج نشان می‌دهند که عملکرد مهارتی این عصاره برگشت پذیر بوده است و با شستشو و تعویض محلول حمام و خارج کردن عصاره از محیط، بافت مجدداً آمادگی انجام انقباض را خواهد داشت. همچنین تشابه انقباضات طی پنج مرحله، نشان می‌دهد کاهش نیروی انقباضی ایلتوم ناشی از خستگی عضله صاف نبوده است. عدم تأثیر پروپرانولول در عملکرد مهارتی عصاره مؤید آن است که در عصاره حاضر، موادی با خاصیت آگونیستی سیستم آدرنژیک که سبب شل شدن ایلتوم می‌گردند، وجود ندارد. عقیده بر این است که استیل کولین با اتصال به رسپتورهای خود

(تعداد موش به ترتیب ۷ و ۶ و $P = *$ کوچکتر از ۰/۰۵، و $P = ***$ کوچکتر از ۰/۰۰۱ می‌باشد).

مقایسه اثر انقباضی کلرور پتاسیم (۶۰ mM)، استیل کولین (۰/۰۵ $\mu\text{g/ml}$) و کلرور باریم (۴۰ mM) در غیاب و در حضور غلظت ۱ mg/ml عصاره نشان می‌دهد که اگرچه اثر انقباضی این سه محرک اختلاف معناداری ندارند، ولی اثر مهارتی عصاره در مورد استیل کولین بیش از دو محرک دیگر است (نمودار ۵).



نمودار ۵ - مقایسه اثر انقباضی کلرور پتاسیم (۶۰ mM)، استیل کولین (۰/۰۵ $\mu\text{g/ml}$) و کلرور باریم (۴۰ mM) بر ایلتوم موش صحرائی و تأثیر مهارتی عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی (۱ mg/ml) بر آنها. انقباضات سه محرک اختلاف معنی داری ندارند (NS = اختلاف معنادار نیست) ولی اثر مهارتی عصاره بر انقباض ناشی از استیل کولین بیشتر است.

بحث :

نتایج به دست آمده از این تحقیق اولیه نشان می‌دهد که عصاره آبی الکلی برگ آویشن شیرازی سبب کاهش انقباضات ایلتوم موش صحرائی ناشی از

نتایج این تحقیق می‌تواند مؤید مصرف سنتی این گیاه در اختلالات گوارشی باشد (۲)، که احتمالاً با کاهش اسپاسم‌های عضله صاف دستگاه گوارش موجب تسکین درد می‌گردد. با توجه به گزارش ارائه شده در مورد اثر ضد درد این گیاه از طریق مواد اویپوئیدی آن (۱) و این که اویپوئیدها از طریق انسداد کانال‌های کلسیمی سبب مهار انقباض ایلئوم می‌گردند (۲۰) و (۲۱)؛ لذا ضمن تأکید مجدد بر احتمال انسداد کانال‌های کلسیمی در بروز شلی توسط عصاره آبی الکلی برگ آویشن، می‌توان عملکرد مهاری این عصاره را به وجود مواد اویپوئیدی در این عصاره نسبت داد، که این مواد نیز از طریق انسداد کانال‌های کلسیمی عمل می‌کنند. یقیناً روشن شدن مکانیسم دقیق اثر این عصاره نیاز به تحقیق بیشتر در این زمینه دارد.

تشکر و قدردانی:

نویسنده مقاله از حمایت مالی به عمل آمده توسط مسئولین دانشکده پزشکی و خصوصاً حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اهواز در اجرای این طرح تقدیر و تشکر می‌نماید.

روی سلول‌های عضله صاف ایلئوم، موجب دیپولاریزاسیون غشاء و متعاقب آن، ورود کلسیم از منابع خارج سلولی و در نهایت انقباض عضله می‌گردد (۱۹). مهار شدید اثر استیل‌کولین توسط عصاره می‌تواند مؤید وجود خاصیت آنتی‌کولینرژیکی عصاره باشد، ولی چون استیل‌کولین در نهایت موجب دیپولاریزاسیون و ورود کلسیم می‌گردد و با توجه به تأثیر عصاره در عملکرد کلروپتاسیم مجدداً باید بخشی از اثر عصاره را به انسداد کانال‌های کلسیمی نسبت داد. همچنین گزارش شده است که کلروباریم از طریق انسداد کانال‌های پتاسیم مانع خروج طبیعی پتاسیم از سلول می‌شود و بنابراین سبب دیپولاریزه شدن و رهایش کلسیم از رتیکولوم سارکوپلاسمیک و انقباض عضله صاف می‌گردد (۱۹). مقایسه نمودارهای اثر عصاره (۱ g/ml) بر انقباضات ایلئوم ناشی از کلروپتاسیم، استیل‌کولین و کلروباریم نشان می‌دهد که گرچه اثر انقباضی سه محرک فوق اختلاف معناداری باهم ندارند، ولی اثر کاهنده انقباض به وسیله عصاره (۱/ml) در مورد استیل‌کولین بیش از کلروپتاسیم و کلروباریم بوده و این امر می‌تواند مؤید وجود موادی با خاصیت آنتی‌کولینرژیکی در عصاره باشد.

References:

- Hosseinzadeh H, Ramazani M, Salmani G. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats. *J Ethnopharmacol*. 2000; 73(3): 379-85.
- زرگری ع. گیاهان دارویی. جلد چهارم، چاپ پنجم، تهران، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۲، ۵۹-۵۶.
- Ali MS, Saleem M, Ahmad VU. Zatatriol: A new aromatic constituent from *Zataria multiflora*. *Z.Naturforsch*. 1999; 54b: 807-810.

۴. رمضانی م، حسین زاده ح و سمیع زاده ش. اثرات ضد درد برگ آویشن. مجله علمی پایه پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد. شماره ۴، ۱۳۸۰؛ صفحه: ۲۲۳-۲۳۳.
5. Mansoor P, Hadjiakhondi A, Ghavami R, Shafiee A. Clinical evaluation of Zataria multiflora essential oil mouthwash in the management of recurrent Aphthous stomatitis. Daru. 2002; 10(2): 74-77.
6. Jafari S, Amanlou M, Borhan-Mojabi K, Farsam H. Comparative study of Zataria multiflora and Anthemis nobelis extracts with Myrthus communis preparation in the treatment of recurrent Aphthous stomatitis. Daru. 2003; 11(1): 23-27.
7. Sardari S, Amin G, Micetich RG, Daneshtalab M. Phytopharmaceuticals. Part 1. Antifungal activity of selected Iranain and Canadian plants. Pharmaceutical Biology. 1998; 36(3): 180-188.
8. Ziegler HL, Franzyk H, Sairafianpour M, Tabatabai M, Tehrani MD, Bagherzadeh K, Hagerstrand H, Staerk D, Jaroszewski JW. Erythrocyte membrane modifying agents and the inhibition of Plasmodium falciparum growth. Structure-activity relationships for betulinic acid analogues. Bioorg Med Chem. 2004; 2(12): 119-127.
9. Behravan J, Ramezani M, Ebadi S. Bioautographic detection of antibacterial activity of some Iranian plants. 26th International Horticultural Congress. Symposium 6, The Future for Medicinal and aromatic Plants, Toronto, Canada, August 11-17, 2002; SO6-P-5.
۱۰. غریب ناصری م ک، مظلومی ح، گشایش م. اثر عصاره آبی الکلی برگ آویشن *Zataria multiflora* Boiss بر رحم جدا شده موش صحرائی باکره. شانزدهمین کنگره فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران، تهران، اردیبهشت ۱۳۸۲، صفحه ۸۴
۱۱. صمصام شریعت ه. عصاره گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان داروئی و روشهای شناسایی و ارزشیابی آنها. چاپ اول، انتشارات مانی، اصفهان، ۱۳۷۱، ۱۶-۱۴.
12. Basle R, Stuttgart H, Hugstetten H. Experiments on isolated smooth muscle preparations. 1980; 179.
13. Scarparo HC, Santos GC, Leal-Cardoso JH, Criddle DN. Selective inhibitory effects of niflumic acid on 5-HT-induced contraction of the rat isolated stomach fundus. Br J Pharmacol. 2000; 130(3): 678-684.
14. Calixto JB, Yunes RA, Rae GA. Effect of crude extracts from *Leonotis nepetaefolia* (Labiatae) on rat and guinea-pig smooth muscle and rat cardiac muscle. J Pharm Pharmacol. 1991; 43(8): 529-534.
15. Yarim M, Sarac S, Ertan M, Batu OS, Erol K. Synthesis, structural elucidation and pharmacological

- properties of some of 5-acetyl-3,4-dihydro-6-methyl-4-(substituted phenyl)-2 (1H)-pyrimidinones. *Farmaco*. 1999; 54 (6): 359-363.
16. Shafiee A, Javidnia K, Tabatabai M. Volatile constituents and antimicrobial activity of *Zataria multiflora*, population Iran. *Iran J Chem and Chem Eng*. 1999; 18(1): 1-5.
 17. Van Den Broucke CO, Lemli JA. Spasmolytic activity of the flavonoids from *Thymus vulgaris*. *Pharm Weekbl Sci*. 1983; 25(1): 9-14.
 18. Meister A, Bernhardt G, Christoffel V, Buschauer A. Antispasmodic activity of *Thymus vulgaris* extract on the isolated guinea-pig trachea discrimination between drug and ethanol effects. *Planta Med*. 1999; 65(6): 512-6.
 19. Rahwan RG, Faust MM, Witiak DT. Pharmacological evaluation of new calcium antagonists: 2-substituted 3-dimethylamino-5, 6-methylenedioxyindenes. *J Pharmacol Exp Ther*. 1977; 201(1): 126-137.
 20. Barrios M, Baeyens JM. Differentail effects of calcium channel blockers and stimulants on morphine withdrawal in vitro. *Eur J Pharmacol*. 1988; 152(1-2): 175-178.
 21. Seyler DE, Borowitz JL, Maickel RP. Calcium channel blockade by certain opioids. *Fundam Appl Toxicol*. 1983; 3(6): 536-542.