

دراسة تأثير نبات الميرمية على تقلصات الوريد البابي الكبدي المعزول من الجرذ.

وائل الأغواني*

الملخص

خلفية وهدف البحث: تمت دراسة التأثير الارخائي للخلاصتين الكحولية والمائية المحضرتين من أوراق نبات الميرمية *Salvia officinalis* المنتمي للفصيلة الشفوية *Lamiaceae*، وذلك على كل من التقلصات الذاتية التلقائية وتلك المعززة بالفينيل إيفرين للمستحضرات المجهزة من وريد البابي الكبدي المعزول من الجرذ. مواد وطرائق البحث: جرى أولاً دراسة تأثير الخلاصتين السابقتين على التقلصات الذاتية التلقائية للألياف الوريدية بعد اقتطاعها طولياً، وذلك بالإضافة المتدرجة والتراكمية للخلاصة النباتية (cumulatively) إلى الحمام المائي الحاوي لهذه المستحضرات. وفي مجموعة أخرى من التجارب جرى تقليص المستحضرات الوريدية بالفينيل إيفرين (P.E) ومن ثم إضافة الخلاصة بنفس الطريقة السابقة. جرى قياس التقلصات وتغيراتها بواسطة جهاز العمل على الأعضاء المعزولة (I.O.S). النتائج: أظهرت الخلاصتان فعلاً إرخائياً واضحاً وقوياً في كل من حالتي التقلصات الذاتية وتلك المعززة بالفينيل إيفرين، وكانت الخلاصة الكحولية أقوى بشكل واضح من المائية. الاستنتاج: لنبات الميرمية *Salvia officinalis* بخلاصتيه السابقتين تأثير ارتخائي واضح يحتاج إلى متابعة حثيثة لإيضاح الآليات وعزل المكونات الفعالة أيضاً.

الكلمات المفتاحية: الميرمية *Salvia officinalis*، وريد الباب الكبدي، الفينيل إيفرين، التقلصات الذاتية التلقائية.

* قسم الأدوية والسموم، كلية الصيدلة، جامعة الجزيرة الخاصة، غباغب، درعا.

Study the effect of *Salvia officinalis* on the contraction of isolated rat portal vein

Wael Al-Aghawani*

Abstract

The background and the aim: The relaxant effect of both ethanolic and aqueous extract of *Salvia officinalis* (*Lamiaceae*) was detected on both spontaneous and phenylephrine- induced contraction of isolated rat portal vein. **Materials and methods:** First, the effect of the previous extracts was examined on spontaneous contraction of longitudinal- cut portal fibers, the extracts were added cumulatively to tissues baths. In another groups of experiments, the portal fibers were contracted by phenylephrine (P.E) and then the extracts were added similarly as previous. The changes in contraction were measured and recorded by isolated organ system (I.O.S). **Results:** the previous extracts exhibited profound and strong relaxant effect on both spontaneous and P.E- induced contraction of portal preparations. The ethanolic extract was clearly more potent than aqueous one. **Conclusion:** the two extracts of *Salvia officinalis* have obvious relaxant effect that should further investigate to illustrate the mechanisms, with isolation of related active compound(s).

Key words: *Salvia officinalis*, portal vein, pheylephrine (P.E), spontaneous contraction.

* Department of pharmaceutical science, Faculty of pharmacy, Aljazeera Private University (JPU), Jebab, Daraa.

المقدمة:

الطبيعية، ويكون الدافع في ذلك مزاعم شعبية كاستخدام مغلي الأوراق لتدبير الآلام الداخلية.

إن احتواء هذا النبات على مجموعات كيميائية متنوعة وذات فعالية بيولوجية واسعة، مع تداول استعماله وتعدد الدراسات المختلفة عليه؛ قد أعطى الدافع في دراستنا الحالية للولوج بحثاً عن تأثيره في الجملة الوعائية وتحديداً في عملية التوسع الوعائي، وقد آثرنا البحث في الوريد البابي الكبدي كجزء من الجملة الوعائية الوريدية، لما يتمتع من صفات فيزيولوجية هامة جعلته وما زالت هدفاً لسيل من الأبحاث والدراسات تتفحص وتتحرى عن تأثير كثير من المواد الكيميائية أو الخلاصات النباتية على تقلصاته (10،11). وتتبع أهمية الدراسة عليه أحياناً بسبب بعض الحالات المرضية التي تصيب الكبد كالتشمع (Cirrhosis)، والتي يحدث فيها ارتفاع تالٍ في ضغط الوريد البابي الكبدي الدموي Haptic portal hypertension (12، 13)، وكوننا لم نجد في الأدبيات العلمية أي دراسة عن تأثيره على الأوردة، فقد ارتأينا البحث في تأثير أوراق هذا النبات من خلال خلاصتين: مائية وكحولية على كل من التقلصات التلقائية الذاتية للوريد البابي الكبدي المعزول من الجرد، وتلك المحدثة بأحد المقصات الوعائية (الفينيل إيفرين).

مواد البحث وطرائقه:

مواد العمل:

المواد الكيميائية والدوائية: تم استعمال الفينيل إيفرين على شكل هيدرو كلورايد Phenylephrine hydrochloride. أما المواد والأملاح المعدنية التالية فاستخدمناها في تحضير المحاليل الفيزيولوجية:

NaCl, KCl, CaCl₂, NaHCO₃, NaH₂PO₄.2H₂O, MgSO₄.7H₂O, (NaOH, HCl), D⁺ Glucose.

وجميعها من شركة Merck - ألمانيا.

ينتمي نبات الميرمية *Salvia officinalis* إلى الفصيلة الشفوية Lamiaceae. وهو نبات شجيري معمر. تحوي هذه الفصيلة العديد من الأنواع لكن جنس *Salvia* أكثرها انتشاراً. الشكل 1.



الشكل (1): نبات الميرمية.

تعتبر منطقة الشرق الأوسط البيئة الطبيعية له. حيث أن أوراقه شائعة الاستخدام كثيراً لغايات طبية شعبية ومنذ القدم؛ حيث استخدم كثيراً في الطب الشعبي، وهذا الأمر قد شجع على إجراء أبحاث كثيرة عليه أثبتت فوائد جمة له في اضطرابات متعددة مثل: ارتفاع شحوم الدم (1)، الانتانات الجرثومية (2)، الداء السكري Diabetes insipidus (3)، والعديد من الاضطرابات العصبية الشائعة (4، 5). وتتوافر في هذا النبات العديد من المكونات الفعالة (6)، لاسيما الزيت العطري مثل مركب cineole و borneol (7)، كما تحوي الأوراق العديد من المركبات الهامة مثل: flavonoid glycosides، flavones، tannic acid، estrogenic substances، caffeic acid، cornsole (8)، (9).

ينتشر هذا النبات في سورية، وهو شائع ومعروف لكثير من السكان المحليين الذين يسعون لجنيه من مناطق نموه

التجهيزات:

- جهاز الأعضاء والأنسجة المعزولة Physiograph.
- مكبرة مجسمة.
- مجموعة أدوات تشريح مجهرية (خاصة بالجراحة العينية) تشمل ملاقط ومقصات.
- مقياس الحموضة PH-meter.
- مجموعة ماصات عادية + مجموعة ميكروبيت.
- خلاط مع سخان.
- ميزان عالي الحساسية.

بعد ذلك جمعت الخلاصة المائية الزاحلة من العمود حتى انتهاء الاستخلاص واستفاد المسحوق. أخذت الخلاصة المائية وكُثفت تحت ضغط منخفض وبدرجة حرارة 55 درجة مئوية بالمبخر الدوار لمدة 20 دقيقة، ونقلت البقية إلى دوارق جهاز التجفيد وأخضعت لعملية التجفيد انتهت بالحصول على مسحوق جاف.

2- تحضير الخلاصة الإيثانولية: تم استخلاص 10 غ من مسحوق الأوراق المجففة بـ 100 مل مزيج إيثانول/ماء (30 /70) حيث وضع المزيج في عمود ترزحيل مناسب، وجمعت بعد ذلك الخلاصة الزاحلة حتى استفاد المسحوق. تم تبخير الإيثانول تحت ضغط منخفض وبدرجة حرارة 55 مئوية بالمبخر الدوار لمدة 20 دقيقة، وخضعت لعملية التجفيد للحصول على المسحوق الجاف.

حيوانات التجارب: استخدمت جرذان ذكور بالغة من فصيلة Sprague dawley أعمارها متقاربة ويتراوح وزنها ما بين 200-250 غرام.

عزل الوريد البابي وتحضير شرائط Strips من أليافه (16، 17): ضُحي بالحيوانات يوم التجربة بنحر الرقبة بعد التخدير، وتم فتح منطقة البطن وإزاحة المعدة والأمعاء بعناية وأخذ كامل الوريد البابي من منطقة خروجه من الأمعاء وحتى الكبد ووضع فوراً في سائل كريسيس بدرجة الصفر مئوية. ثم نُظف جيداً من النسج الشحمية والضامة المحيطة، ثم وباستخدام الأدوات الجراحية الدقيقة (مقص وملقط شعري خاص بالجراحة العينية) والمكبرة تم قص الوريد طولياً وبشكل موازٍ لمحوره وشده برفق وتثبيتته من أطرافه الأربعة، ثم جرى اقتطاع ألياف طولية منه بحيث تكون حاوية على ألياف عضلية ملساء واضحة، الشكل 2.

جمع النبات والتعرف عليه: جمع النبات بحالة طازجة وهو في أوج طور الإزهار خلال شهر آب من أماكنه الطبيعية في ريف دمشق، وتم التعرف عليه من خلال رائحته العطرية المميزة وشكل الأوراق وبمساعدة المصنفين النباتيين.

تحضير الخلاصات النباتية: فُصلت الأوراق مباشرةً وهي الجزء المستعمل وغسلت بتيار من الماء المقطر البارد لفترة قصيرة ثم تركت بعد نشرها على مساحة واسعة في الظلام الدامس وضمن درجة حرارة الغرفة التي كانت جيدة التهوية وخالية من الرطوبة، وذلك لمدة خمسة عشر يوماً حتى الجفاف التام بدليل ثبات وزن الأوراق خلال ثلاث عمليات وزن متعاقبة. ثم حولت إلى مسحوق ناعم مرر على منخل ذي فتحة 0.16 ملي متر وحفظت في أكياس كتيمة ومعزولة عن الضوء والحرارة والرطوبة لحين الاستعمال. حضرت خلاصات مائية وإيثانولية من المسحوق الأوراق على النحو التالي (15):

1- تحضير الخلاصة المائية: أخذ 10 غرام من مسحوق الأوراق المجففة ووضع في عمود ترزحيل مناسب. غمر المسحوق الموجود في العمود بمقدار كاف من الماء المقطر وترك لمدة أربع وعشرين ساعة بمعزل عن الضوء.

نقل كل مستحضر وريدي لوحده إلى حمام مائي حاوٍ لمحلول كريبس وعلق طولياً بين خطافين على شكل حرف L من الفولاذ، الخطاف العلوي موصول مباشرة إلى ناقل الحركة التقلصية (transducer)، أما السفلي فهو مثبت جيداً. ضبطت درجة الحرارة والباهاء المناسبين (37°م، PH=7.4)، جرى ضخ الأوكسجين إلى داخل الحمام بشكل مستمر عبر فتحة خاصة. تسجيل قياس الحركة التقلصية وتغيراتها يتم على الراسمة الورقية.

التهيئة الأولية للمستحضرات: بعد إكمال التعليق كما ورد أعلاه في الحمام المائي أخضعت المستحضرات إلى قوة شد سلبية Resting tension تعادل 0.5 غرام، واعتبرت الألياف مقبولة إذا أظهرت حركة تقلصية من تلقاء ذاتها (spontaneous contraction) خلال فترة أقصاها 30 دقيقة من تعليقها، الشكل 3.



الشكل (2): اقتطاع وريد الباب الكبدي طولياً بعد شده من الأطراف الأربعة وتجهيزه للدراسة

تم العمل على جهاز الأعضاء المعزولة I.O.S أنف الذكر والذي يتكون من أربع حمامات وكل حمام مكون من حجرة داخلية سعتها 20 مل، يوضع بداخلها محلول كريبس Krebs solution ذو التركيب الآتي بالميلي مول [mM]:

NaCl 119, KCl 4.7, NaHCO₃ 25, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1, KH₂PO₄ 1.2 and D-Glucose 11.

اتجاه التسجيل →



الشكل (3): التقلصات الذاتية (spontaneous contraction) لوريد الباب الكبدي بعد تعليقه.

غسلت بعد ذلك المستحضرات بمحلول كريبس عدة مرات وبقية فترة توازن تبلغ 60 دقيقة، وأصبحت بذلك جاهزة للدراسة واختبار تأثير الخلاصات النباتية. عدد المستحضرات الوعائية في كل تجربة 8، بحيث تكون كل منها مأخوذة من حيوان مختلف.

cumulatively للخلاصات السابقة كما فعلنا سابقاً. أضيف لمجموعة الحلقات الشاهدة سائل كريبس فقط بنفس الطريقة وبنفس الأحجام المضافة للمستحضرات المعالجة بالخلاصات.

الدراسة الإحصائية: قدمت النتائج على شكل نسب مئوية لتثبيط تقلصات الوريد البابي سواء تلك التلقائية أو المحدثة بالفينيل إيفرين P.E بفعل تأثير الخلاصات بجرعاتها المختلفة (الارتخاء)، وكان التعبير عنها على الشكل التالي: الوسطي ± الخطأ المعياري للوسطي Mean ± Standard error of mean.

خطة الدراسة Protocol:
1- تأثير الخلاصتين المائية والإيثانولية على التقلص التلقائي Spontaneous Contraction:

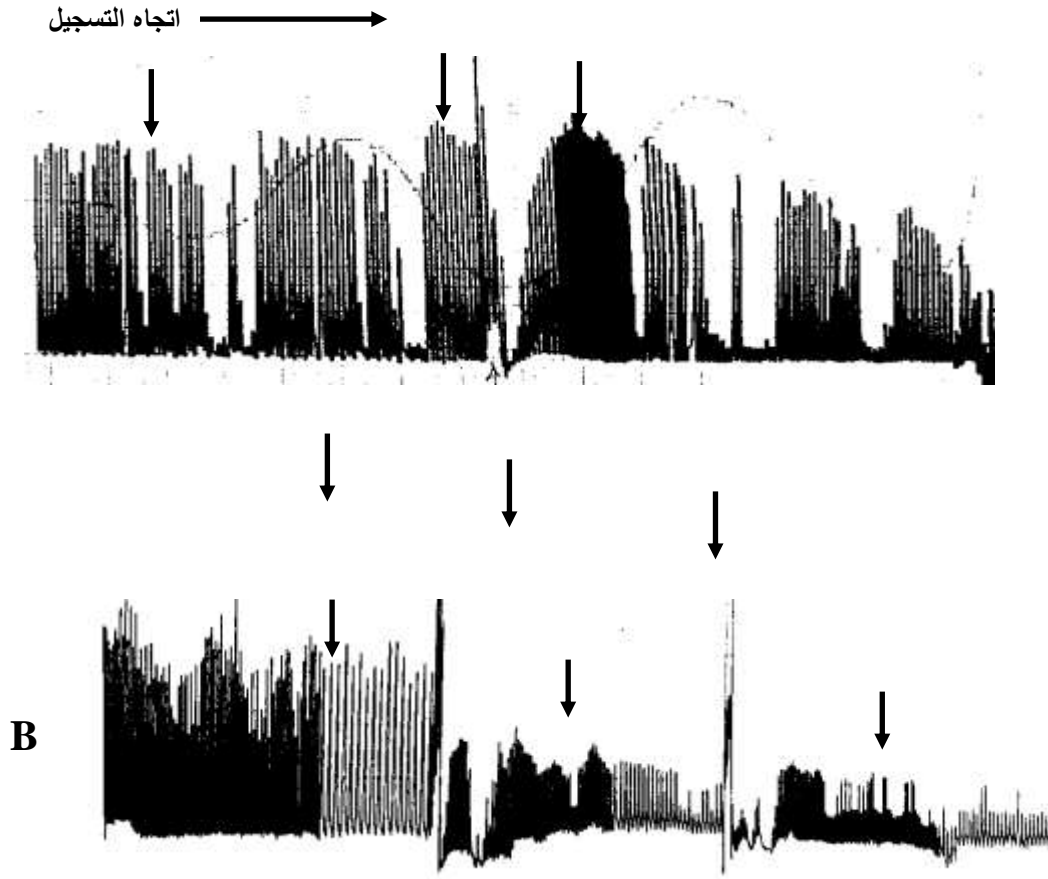
بعد ثبات التقلصات التلقائية أو الذاتية للمستحضرات الوعائية عند مستوى معين، يبتدئ العمل بإضافة الخلاصة النباتية المدروسة بشكل تراكمي متدرج cumulatively إلى الحمام المائي المعلقة ضمنه هذه المستحضرات، ومن ثم ملاحظة التغيرات الحاصلة على هذه التقلصات. تمت الإضافات للخلاصة النباتية بعد إذابة 20 ملغ من المسحوق الجاف للخلاصة في 250 مكرو لتر من سائل كريبس المستخدم، وليضاف من هذا المحلول إلى الحمام المائي بواسطة المحقن الآلي. أضيف لمجموعة الحلقات الشاهدة سائل كريبس فقط بنفس الطريقة وبنفس الأحجام المضافة للمستحضرات المعالجة بالخلاصات.

تم تطبيق اختبار ستيودنت (Student Test) للعينات صغيرة الحجم والمستقلة للمقارنة بين المجموعات المعالجة بالخلاصات النباتية والشاهدة. ويعتمد مستوى تقدير الأهمية الإحصائية P لتحديد وإقرار الفروق المعند بها ما بين المجموعات المختلفة عند مستوى مساوٍ أو أقل من 5% (P ≤ 0.05). ومن أجل تعبير مناسب واضح لقوة الخلاصة النباتية الإرخائية وتغير هذه القوة بتغير الظروف التجريبية المختلفة تم حساب جرعة الخلاصة المسببة لـ 50% من الارتخاء (IC₅₀) بطريقة رياضية اعتماداً على الخط البياني والمعادلة اللوغاريتمية التي تربط ما بين المتغيرين الرئيسيين، الجرعة والنسبة المئوية للارتخاء.

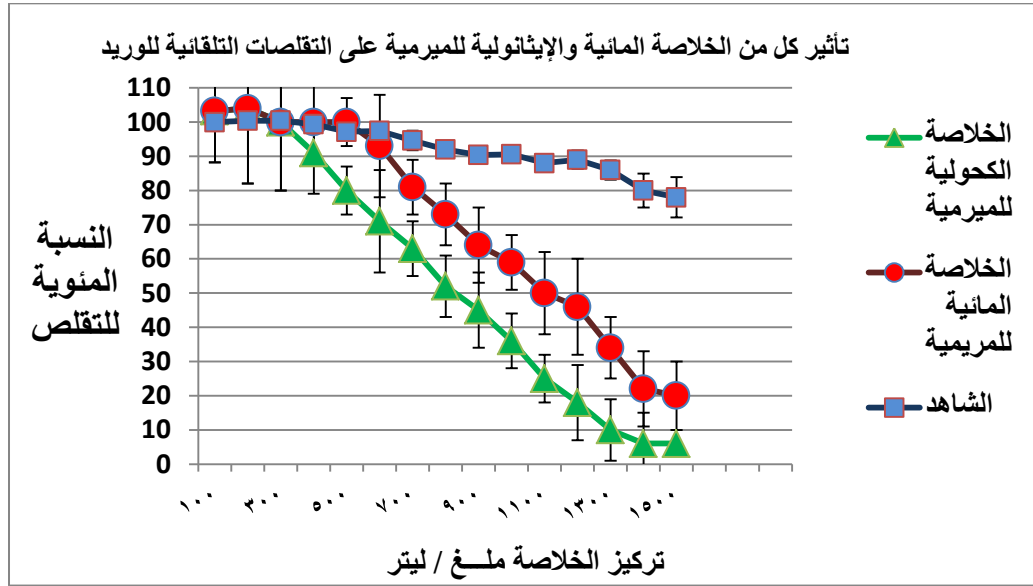
2- تأثير الخلاصتين المائية والإيثانولية على تقلص الوريد الحادث بالفينيل إيفرين tonic contraction:

بعد حقن الفينيل إيفرين بتركيز 10⁻⁶ مول واستقرار التقلصات وانتظامها لجأنا إلى الإضافة المتدرجة والتراكمية

النتائج:
تأثير الخلاصتين المائية والكحولية على التقلص التلقائي
:spontaneous contraction
تأثير الخلاصة الكحولية:
أحدثت الخلاصة الكحولية (70 إيثانول/ 30 ماء) ارتخاءً واضحاً للتقلصات الذاتية أو التلقائية للوريد مقارنة مع
مجموعة الشاهد ($P \leq 0.05$)، والتي تم تسريب الحامل المائي لها (سائل كريس) فقط في حمام العضو المعزول، الشكلان 4 و5، تم حساب مقدار الخلاصة المسبب لـ 50% من الارتخاء بيانياً (IC_{50}) وكان مقداره 821 ملغ/لتر.



الشكل (4): الأثر التسجيلي الورقي لتأثير الخلاصة المائية A، والكحولية B للميرمية على التقلصات الذاتية التلقائية للوريد، تشير الأسهم العلوية إلى حقن الخلاصة النباتية.



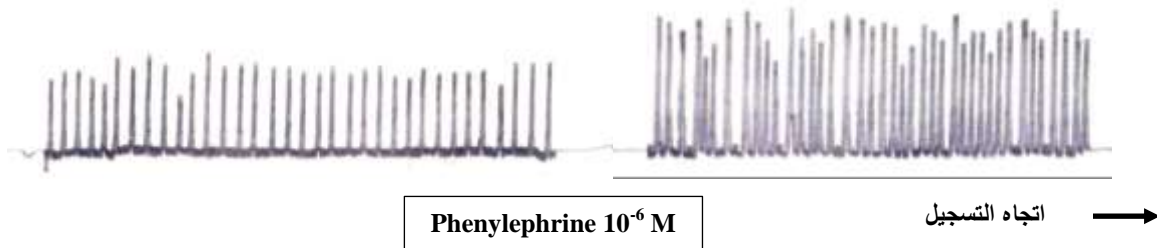
الشكل(5): تأثير خلاصات الميرمية المائية والكحولية على التقلصات الذاتية للوريد البابي.

تأثير الخلاصة المائية:

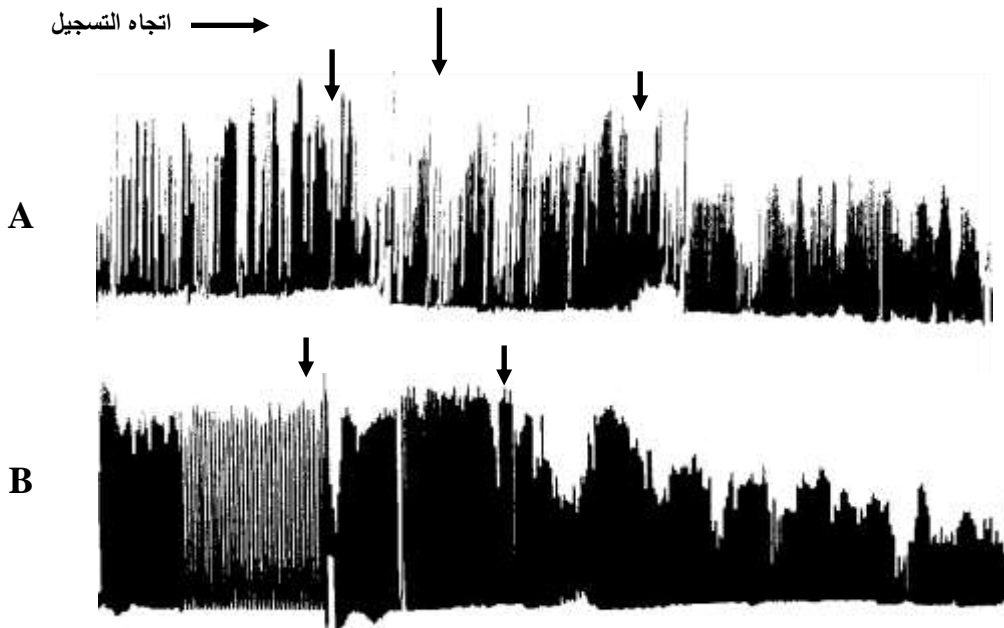
2- تأثير الخلاصتين السابقتين على تقلص الوريد

سببت الخلاصة المائية لأوراق الميرمية ارتخاءً ملحوظاً للتقلصات التلقائية مقارنة مع مجموعة الشاهد ($P \leq 0.05$)، الشكلان 4 و5، إلا أن الأمر يتطلب جرعات أكبر بالمقارنة مع الخلاصة الكحولية. وبلغ مقدار الـ IC_{50} 1100 ملغ/لتر.

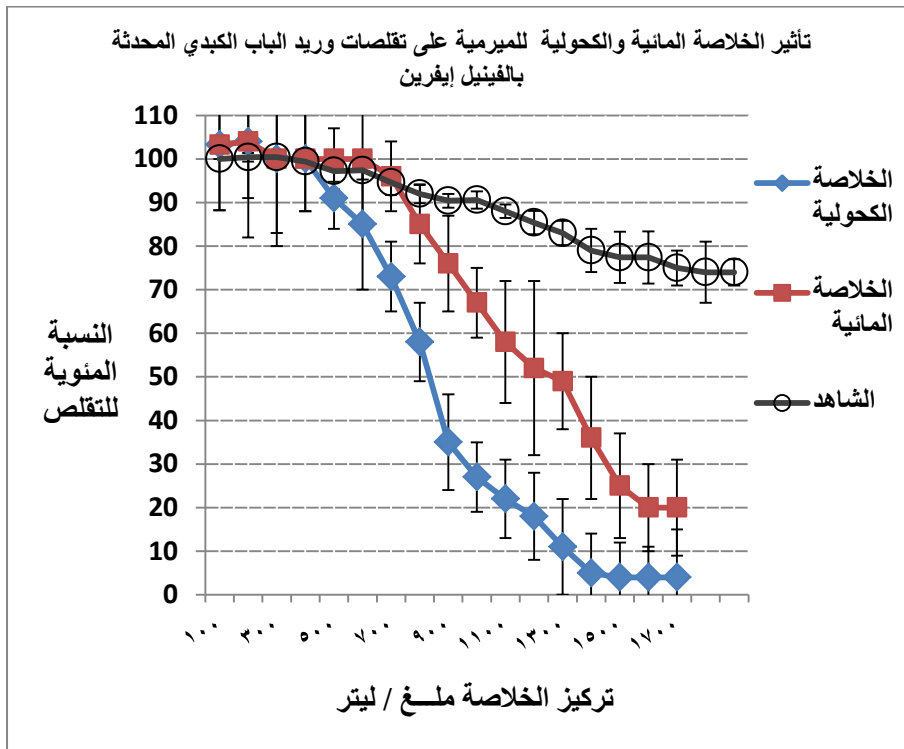
الحادث بالفينيل إيفرين **Tonic contraction**: سبب حقن الفينيل إيفرين Phenylephrine بتركيز 10^{-6} مول زيادة واضحة في سعة النظم التقلصي لوريد الباب الكبدى، الشكل 6. وعند الإضافة، أحدثت الخلاصتان الكحولية والمائية ارتخاءً واضحاً لألياف الوريد الخاضعة لتقلص الفينيل إيفرين، وكانت الخلاصة الكحولية أقوى بشكل واضح، الشكلان 7 و8. وبلغت قيم الـ IC_{50} لكل من الكحولية والمائية: 870 و 1290 ملغ/لتر على التوالي.



الشكل 6: زيادة النظم والسعة التقلصية لألياف الوريد البابي الكبدى بعد حقن الفينيل إيفرين



الشكل (7): الأثر التسجيلي الورقي لتأثير الخلاصة المائية A، والكحولية B للميرمية على تقلصات وريد الباب الكبدي المحدثه بالفينيل إيفرين، تشير الأسهم العلوية إلى حقن الخلاصة النباتية.



الشكل (8): تأثير خلاصات الميرمية المائية والكحولية على التقلصات المحدثه بالفينيل إيفرين للوريد البابي.

المناقشة:

يتمتع الوريد البابي الكبدي بحركات تقلصية ذاتية تلقائية ومعتمدة بشكل أساسي على حركة أيونات الكالسيوم عبر قنواتها (18)، وهذا ما جعله محور أبحاث متنوعة تتناول تأثير كثير من المواد والخلاصات النباتية على حركته التقلصية (19، 20).

وقد أحدثت كل من الخلاصتين المائية والكحولية للميرمية تأثيراً مرخياً ملموساً للتقلصات الذاتية للوريد البابي الكبدي، كما هو واضح من الشكل 5. فمع الخلاصة الكحولية بدأ الفعل الإرخائي عند الجرعة 500 ملغ/ لتر عند مستوى تقلص $7 \pm 80\%$ ، وبفارق إحصائي مع الشاهد حسب اختبار ستودنت وبقي الفعل مستمراً حتى نهاية التجربة مع ملاحظة التلاشي شبه التام للتقلصات. أما تأثير الخلاصة المائية مع الجرعة 700 ملغ/ لتر ($P \leq 0.05$)، واستمر مع تتابع الإضافات ولكن التقلصات لم تخف تماماً.

ومن الواضح تماماً، ولدى المقارنة النسبية بين الخلاصتين السابقتين، أن الخلاصة الكحولية أقوى من المائية، بياناً (الشكل 5)؛ ومن خلال قيم الـ IC_{50} حيث كانت مرتفعة بالنسبة للخلاصة المائية (1100 ملغ/ لتر) مقارنة مع الكحولية (821 ملغ/ لتر).

هذا التأثير المثبط على الحركة التلقائية للوريد البابي هام؛ لأن هذه الحركة التقلصية الذاتية والتلقائية هي بمثابة نظم طبيعي للألياف الملساء الموجودة في الوريد البابي الكبدي rhythmicity (21، 22)، وقد اقترح Harhun MI أن حركة أيونات الكالسيوم الداخل خلوية Intracellular أساسية في توليد النظم الطبيعي التلقائي لوريد الباب الكبدي (22)، مؤكداً في ذلك استنتاجات العديد من الباحثين قبله (23)، ومع ذلك يبقى موضوع تثبيط هذه التقلصات التلقائية متعدد الجوانب في التفسير؛ فمثلاً استنتج البعض أن التأثير المرخي للنظم الطبيعي لهذه الألياف يعود أساساً لتثبيط

حركة أيونات الكالسيوم عبر القنوات الغشائية (24)، والبعض الآخر من الباحثين وجد أن التأثير التثبيطي لبعض المواد نباتية المنشأ له علاقة ببعض الوسائط الداخل خلوية مثل cAMP (25). وبميل كثير من الباحثين في تفسير الإرخاء الوعائي إلى دور لقنوات البوتاسيوم وإلى تثبيط محتمل لتحرر الكالسيوم من مخزونه الداخلي (26).

وتستجيب الألياف الملساء الوريدية للعديد من العوامل المقلصة المختلفة؛ ومنها الفينيل إيفرين (P.E) الذي استعملناه في بحثنا لإحداث حالة تقلصية تزداد فيها سعة التقلصات (phasic contraction)؛ وهذا ما يعرف بالتقلص المديد (phasic contraction)، وهو من الإجراءات الرئيسية حين تحري تأثير مواد أو خلاصات على العضلات الملساء الوعائية (19، 27)، وكما كان تأثير الخلاصتين مرخياً ومثبطاً للتقلصات الذاتية الوريدية (spontaneous contraction)، فإنه أيضاً كان مرخياً للتقلص المحدث بالفينيل إيفرين، الشكل 8، ولكن بجرعات أكبر. وأيضاً أثبتت الخلاصة الكحولية أنها أقوى من المائية في هذه الحالة أيضاً. وقد ابتدأ التأثير للخلاصة الأولى عند جرعة 500 ملغ/ لتر وكان تتابع الإطعام كفيلاً بالارتخاء الكامل وانعدام ظهور أي تقلصات ($IC_{50} = 870 \text{ mg/L}$). والخلاصة المائية فأحدثت نفس الأثر ولكن بجرعات أكبر ($IC_{50} = 1290 \text{ mg/L}$).

ويعزو كثير من الباحثين دوراً معقداً تبذله المواد المختلفة حين تحقق إرخاء لتقلص العضلات الملساء الوعائية المحدث بالفينيل إيفرين، وخاصة الأخذ بعين الاعتبار دور الوسائط الذاتية eicosanoids في تحقيق هذا التوسع الوعائي (27). وقد لوحظ لدينا أن هذا التأثير المثبط وقوة الخلاصة الكحولية في إحداث الارتخاء يدل أن التركيز الأكبر للمواد الفعالة كماً ونوعاً هو في هذه الخلاصة.

بالنتيجة، يمكن القول أنّ لنبات الميرمية *Salvia officinalis* تأثيراً ارتخائياً واضحاً للوريد البابي الكبدي أهدته الخلاصتان السابقتان، وهذا ما يدفع بقوة نحو البحث عن الآليات الأخرى خاصة تلك المتعلقة بقنوات البوتاسيوم والكالسيوم، وفي ذلك قد يفيد استعمال مقلصات أخرى مثل كلور البوتاسيوم KCL والكافيين Caffeine. وطبعاً ستكون الدراسة أهم وأوضح مع عزل المكونات الفعالة خاصة من الخلاصة الكحولية، ليتم عندها مقايسة تأثيرها المرخي مباشرة على المستحضرات الوريدية كما سبق إتباعه، وبذلك يكون التأثير أوضح واستدلال آلية التأثير أسهل.

References:

1. Koubaa-Ghorbel F, Chaâbane M, Turki M, Makni-Ayadi F, El Feki A1. **The protective effects of Salvia officinalis essential oil compared to simvastatin against hyperlipidemia, liver, and kidney injuries in mice submitted to a high-fat diet.** *J Food Bioche*, 2020 Feb 3:e13160. doi: 10.1111/jfbc.13160.
2. Shahriari S, Barekatin M, Shahtalebi MA, Farhad SZ. **Evaluation of Preventive Antibacterial Properties of a Glass-Ionomer Cement Containing Purified Powder of Salvia officinalis: An In vitro Study.** *Int J Prev Med*, 2019 Jun 12;10:110.
3. Amini L, Mojab F, Jahanfar S, Sepidarkish M, Raoofi Z, Maleki-Hajiagha A. **Efficacy of Salvia officinalis extract on the prevention of insulin resistance in euglycemic patients with polycystic ovary syndrome: A double-blinded placebo-controlled clinical trial.** *Complement Ther Med*, 2020 Jan;48:102245.
4. Choukairi Z, Hazzaz T, Lkhider M, Ferrandez JM, Fechtali T. **Effect of Salvia Officinalis L. and Rosmarinus Officinalis L. leaves extracts on anxiety and neural activity.** *Bioinformation*, 2019 Mar 15;15(3):172-178.
5. El Gabbas Z, Bezza K, Laadraoui J, Ait Laaradia M, Kebbou A, Oufquir S, Boukhira A, Aboufatima R, Chait A. **Salvia officinalis, Rosmarinic and Caffeic Acids Attenuate Neuropathic Pain and Improve Function Recovery after Sciatic Nerve Chronic Constriction in Mice.** *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019 Jun 24;2019:1702378.
6. Poullos E, Giaginis C, Vasios GK. **Current State of the Art on the Antioxidant Activity of Sage (Salvia spp.) and Its Bioactive Components.** *Planta Med*, 2020 Mar;86(4):224-238.
7. Drienovská I, Kolanović D, Chánique A, Sieber V, Hofer M, Kourist R. **Molecular cloning and functional characterization of a two highly stereoselective borneol dehydrogenases from Salvia officinalis L.** *Phytochemistry*, 2020 Apr;172:112227.
8. Afonso AF, Pereira OR, Fernandes Â, Calhelha RC, Silva AMS, Ferreira ICFR, Cardoso SM. **Phytochemical Composition and Bioactive Effects of Salvia africana, Salvia officinalis 'Icterina' and Salvia mexicana Aqueous Extracts.** *Molecules*. 2019 Nov 27;24(23).
9. Jakovljević M, Jokić S, Molnar M, Jašić M, Babić J, Jukić H, Banjari I. **Bioactive Profile of Various Salvia officinalis L. Preparations.** *Plants (Basel)*, 2019 Mar 6;8(3).
10. Patejdl R1, Gromann A2, Bänisch D3, Noack T. **Effects of ajmaline on contraction patterns of isolated rat gastric antrum and portal vein smooth muscle strips and on neurogenic relaxations of gastric fundus.** *Pflugers Arch*, 2019 Jul;471(7):995-1005.
11. Basei FL1, Cabrini DA, Figueiredo CP, Forner S, Hara DB, Nascimento AF, Ceravolo GS, Carvalho MH, Bader M, Medeiros R, Calixto JB. **Endothelium dependent expression and underlying mechanisms of des-Arg⁹-bradykinin-induced B₁ R-mediated vasoconstriction in rat portal vein.** *Peptides*, 2012 Oct;37(2):216-24.
12. Theodorakis N1, Maluccio M1, Skill N. **Murine study of portal hypertension associated endothelin-1 hypo-response.** *World J Gastroenterol*, 2015 Apr 28;21(16):4817-28.
13. Theodorakis NG, Wang YN, Korshunov VA, Maluccio MA, Skill NJ. **Thalidomide ameliorates portal hypertension via nitric oxide synthase independent reduced systolic blood pressure.** *World J Gastroenterol*, 2015 Apr 14;21(14):4126-35.
14. Chapin CA, Bass LM. **Cirrhosis and Portal Hypertension in the Pediatric Population.** *Clin Liver Dis*, 2018 Nov;22(4):735-752.
15. أحمد سمير النوري، محمد عصام حسن آغا، علم العقاقير وكيمياء العقاقير (2)، القسم العملي، منشورات جامعة دمشق (2009-2008).

16. Hadeel A Alsufyani , James R Docherty. **Involvement of G proteins and Rho kinase in α 1-adrenoceptor mediated contractions of the rat portal vein.** *Can J Physiol Pharmacol*, 2020 Oct 23;1-6.
17. Jozef Török , Anna Zemančíková. **Agmatine Modulation of Noradrenergic Neurotransmission in Isolated Rat Blood Vessels.** *Chin J Physiol*, 2016 Jun 30;59(3):131-8.
18. Burt. R. P. **Phasic contractions of the rat portal vein depend on intracellular Ca^{2+} release stimulated by depolarization.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 2003, 284: 1808–1817.
19. Ivanov IS, Sidekmenova AV, Nosarev AV, Tyukavkina NA, Plotnikov MB. **Effect of dihydroquercetin on the tone of isolated rat veins.** *Bull Exp Biol Med*, 2013 May;155(1):65-6.
20. Protić D, Beleslin-Čokić B, Novaković R, Kanjuh V, Heinle H, Sćepanović R, Gojković-Bukarica L. **Effect of wine polyphenol resveratrol on the contractions elicited electrically or by norepinephrine in the rat portal vein.** *Phytother Res*, 2013 Nov;27(11):1685-93.
21. Greenwood I. A. and Prestwich. S. A. **Characteristics of hyperpolarization-activated cation currents in portal vein smooth muscle cells.** *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 282: C744–C753.
22. Harhun MI. **Mitochondrial Ca^{2+} handling is crucial for generation of rhythmical Ca^{2+} waves in vascular interstitial cells from rabbit portal vein.** *Cell Calcium*, 2015 Sep;58(3):325-9.
23. Huang X, Zhao D, Wang ZY, Zhang ML, Yan ZQ, Han YF, Lu HL, Xu WX, Jiang ZL. **Spontaneous rhythmic inward currents recorded in interstitial cells of rabbit portal vein.** *Cell Biochem Biophys*, 2010 Jul;57(2-3):77-85.
24. Patejdl R, Leroux AC1, Noack T. **Phenytoin inhibits contractions of rat gastrointestinal and portal vein smooth muscle by inhibiting calcium entry.** *Neurogastroenterol Motil.* 2015 Oct;27(10):1453-65.
25. Chiwororo WD, Ojewole JA. **Dual effect of quercetin on rat isolated portal vein smooth muscle contractility.** *Cardiovasc J Afr*, 2010 May-Jun;21(3):132-6.
26. Esmaeili H, Esmailidehaj M, Entezari Zarch S, Azizian H. **Role of the potassium channels in vasorelaxant effect of asafetida essential oil.** *Avicenna J Phytomed.* 2020 Jul-Aug;10(4):407-416.
27. Vinogradova OO, Yanchuk PI, Pasichnichenko OM. **Role of thromboxane and leukotrienes in mechanisms of contractile reactions of portal vein, induced by acetylcholine and phenylephrine.** *Fiziol Zh*, 2015;61(3):70-4.