

آنالیز ترکیبات موجود در اسانس چهار چاشنی غذایی و بررسی فعالیت

فیبرینولیتیک این ترکیبات در محیط *In Vitro*

غلامعلی نادری^{۱*}، نرگس جعفری دینانی^۱، عباس جعفریان دهکردی^۲، صدیقه عسگری^۱، راهله شامی^۲

۱. مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

۲. دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

پذیرش: ۲۱ بهمن ۸۸

دریافت: ۲۱ تیر ۸۸

چکیده

مقدمه: بیماریهای آترو ترومبوتیک مثل انفارکتوس قلبی و مغزی نتایج وخیم لخته های تشکیل شده در دیواره رگ هستند. داروهای ترومبولیتیک که برای حل لخته های تشکیل شده به کار می روند محدودیت های دارند که سبب ایجاد خطر و گاهی اوقات نتایج کشنده می شوند. این مطالعه به منظور بررسی اثرات فیبرینولیتیک اسانس های چهار چاشنی غذایی رایج آویشن شیرازی، زردچوبه، دارچین و گلپر صورت گرفت.

روش ها: پس از تهیه اسانس گیاهان مربوطه، ترکیبات آنها توسط دستگاه GC/MS آنالیز گردید. برای بررسی اثرات فیبرینولیتیک، فیبرینوژن نشاندار با FITC به پلاسما اضافه و سپس برای تشکیل لخته نشاندار به آنها کلسیم اضافه گردید. استرپتوکیناز در غلظت های (۱۰۰-۱۰۰۰ U/ml) و اسانس در رقت های (۱/۱۰۰، ۱/۱۰ و ۱/۱۰) به تنهایی و در حضور استرپتوکیناز به لخته نشاندار اضافه و فلورسانس بعد از ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه قرائت گردید (excitation= 478 nm, emission= 510 nm).

یافته ها: نتایج نشان می دهند که اسانس آویشن شیرازی واجد درصد بالای از کارواکول است. و بیشترین خاصیت فیبرینولیتیک را دارد، فعالیت فیبرینولیتیک زردچوبه احتمالا به ترکیبات تومرون، زینجی برن و کورکومین که با درصد بالا در این گیاه وجود دارند برمی گردد. دارچین با درصد بالای سینامالدهید فعالیت فیبرینولیتیک کمتر و اسانس گلپر با داشتن درصد بالای از استرهای خطی و هگزیل بوتیرات تقریباً فاقد فعالیت فیبرینولیتیک می باشد ($p > 0.05$).

نتیجه گیری: این مطالعه تصدیق کننده فعالیت فیبرینولیتیک آویشن شیرازی، زردچوبه و تاحدودی دارچین در محیط *in vitro* است و بررسی فعالیت فیبرینولیتیک این گیاهان در محیط *in vivo* نیازمند بررسی و تحقیق است.

واژه های کلیدی: فیبرینولیتیک، اسانس، کروماتوگرافی، فیبرینوژن

مقدمه

خون از یک طرف و جلوگیری از خونریزی در زمان ایجاد صدمه است [۲، ۶ و ۱۲]. اختلالات هموستاتیک منجر به ایجاد لخته های نابجا و ترومبوآمبولی می گردد. ترومبوس ایجاد شده در سیستم گردش خون در نتیجه نقص سیستم هموستاز سبب بسته شدن رگ و بیماریهای آترو ترومبوتیک مثل انفارکتوس مغزی یا قلبی و در نهایت منجر به مرگ می شود. عوامل ترومبولیتیک مانند آلتپلاز، انی استرپلاز، اوروکیناز و

هموستاز به معنی برقراری جریان نرمال خون در سیستم گردش

gh.naderi@yahoo.com

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

در صد گرم گیاه خشک و پودر شده صورت گرفت و رنگ و بوی آن مشخص گردید.

اسانس جمع آوری شده توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل شده به طیف سنج جرمی آنالیز شد. برای هر جزء اسانس یک الگوی شکست خاص وجود دارد که بر اساس آن و اطلاعات دستگاه و کتب مرجع، شناسایی اجزاء اسانس صورت گرفت [۱].

دستگاه GC/MS مورد استفاده Hewlett Packard با مدل 6980 مجهز به ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میکرو می باشد.

برنامه ریزی حرارتی ستون از 60°C شروع و با سرعت 4°C درجه در دقیقه تا دمای 275°C افزایش یافت. از گاز هلیوم با سرعت 2 mm/min در طول ستون استفاده شد. پتانسیل یونیزاسیون 70 eV الکترون ولت، جریان یونیزاسیون 1000 میکروآمپر و محدوده جرمی $300-500$ بود.

جهت بررسی اثرات فیبرینولیتیک گیاهان مذکور، فیبرینوژن استریل خشک شده انسان تهیه و سپس محلول 2 درصد حاصل از آن را با فلئورسئین ایزوتیوسیانات (FITC) نشاندار نمودیم. FITC ماده ای زرد رنگ با فرمول شیمیایی $C_{21}H_{11}NO_5$ است. این ماده در محیط قلیایی ($\text{pH} = 8$ ایتیمیم) و بعد از 24 ساعت انکوباسیون در دمای 4°C با گروه های آمین زنجیره های جانبی اسید آمینه ترکیب می شود. FITC

با نسبت 1 به 2 به محلول فیبرینوژن اضافه و بمدت 24 ساعت در دمای 4°C جهت تشکیل کمپلکس فیبرینوژن-فلئورسئین ایزوتیوسیانات (FIB-FITC) انکوبه گردید. سپس محلولی از سفادکس 25 را درون بورت ریخته و محلول حاوی کمپلکس در مقادیر 5 ml و به فواصل 20 دقیقه جهت جدا نمودن FITC آزاد از کمپلکس، روی آن ریخته شد. پس از تهیه محلول کمپلکس FIB-FITC با غلظت $0/1\text{ mg/ml}$ از محلول CaCl_2 به نحوی به آن اضافه گردید تا غلظت نهایی CaCl_2 در محیط 20 mmol/l باشد.

این مخلوط به مدت 80 دقیقه در 37°C انکوبه و سپس به منظور ته نشین نمودن لخته در ته لوله به مدت 15 دقیقه در 4000 دور سانتریفوژ گردید. برای حذف مقادیر اضافی کمپلکس، فیبرینوژن و FITC آزاد CaCl_2 لخته با بافر $0/1$ مولار شستشو داده شد.

استرپتوکیناز [۴] برای معالجه این بیماریها به کار می روند. عوارض جانبی [۸ و ۱۵] مربوط به این ترکیبات (ایجاد لیتیک عمومی، تاثیر بر میخ های پلاکتی نابجا و واکنش های آلرژیک) سبب توجه روزافزون به استفاده از ترکیبات گیاهی و طبیعی در درمان اینگونه اختلالات گردیده است [۷، ۹، ۱۰ و ۱۳].

در این تحقیق جهت بررسی خاصیت فیبرینولیز، چهار گیاه آویشن شیرازی، زردچوبه، دارچین و گلپر که در کتابهای مربوط به طب سنتی و برخی منابع از آنها به عنوان گیاهانی دارای خاصیت مفید و مطلوب بر دستگاه گردش خون یاد شده است انتخاب شدند [۱۱ و ۱۴].

از آنجایی که ترکیبات فعال در گیاهان دارویی در بخشهای مختلف گیاه متمرکز و بندرت کل گیاه بعنوان دارو استفاده می شود اسانس بخشهای مورد نظر از هریک از گیاهان ذکر شده تهیه و سپس توسط دستگاه GC/MS ترکیبات مختلف آنها آنالیز شدند. سپس این اسانس برای بررسی فعالیت فیبرینولیتیک در محیط *in vitro* به کار رفت.

مواد و روشها

برگ گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) از خانواده (*labiateae*) در فروردین ماه از اطراف دزفول، میوه گلپر (*Heracleum persicum*) از خانواده (*Umbelifera*) در اسفند ماه از بیلاقات اطراف تهران، ریزوم دارچین (*Cinamomum*) از خانواده (*Lauraceae*) و زردچوبه (*Curcuma domestica*) از خانواده (*Zingiberaceae*) از بازار گیاهان دارویی تهیه شدند. پس از شناسایی و تهیه نمونه هرباریمی از هر گیاه، گیاهان مورد نظر خشک، پودر و با الک شماره 12 الک گردید.

100 گرم از پودر سائیده شده وزن و در یک بالون 2000 که تا $2/3$ آن با آب مقطر پر شده ریخته و چند پرل شیشه ای به آن افزودیم. سپس فلاکس را به دستگاه تقطیر متصل نموده تا به آرامی حرارت ببیند و شروع به جوشیدن کند. عمل حرارت آنقدر ادامه داده شد تا دیگر به حجم اسانس افزوده نگردد. سپس حرارت قطع و اسانس جمع آوری گردید [۳].

تعیین مقدار اسانس حاصله بر مبنای فارماکوپه بریتانیا و بروش حجمی و بر اساس مقدار روغن فرار بر حسب میلی لیتر

جدول ۱- ترکیبهای موجود در اسانس آویشن شیرازی، زردچوبه، دارچین و گلپر								
نام گیاه	آویشن شیرازی	زردچوبه	دارچین	گلپر	ردیف	نام ترکیب	درصد	نام ترکیب
۱	3-Octanol	۰/۱۸	Terpinolene	۰/۱۸	cinnamaldehyde	۹۶/۸۲	octanol	۰/۱۰
۲	α Terpinen	۰/۰۹	N-Hexyl Butyrate	۰/۰۹	α copaene	۰/۲۳	PARA-cymene	۰/۱۵
۳	PARA-cymene	۱/۷۹	Methyl salisylate	۱/۷۹	α muurolene	۰/۱۱	Buthyl-2-methyl butanoat	۰/۱۱
۴	1,8- cineole	۰/۱۱	Dihydro carvone	۰/۱۱	γ cadinen	۰/۴۱	γ terpinen	۰/۰۸
۵	γ terpinen	۰/۳۷	Octyl acetate	۰/۳۷	Para methoxy cinnamaldehyde	۰/۵۵	1-octanol	۰/۴۵
۶	Linalool	۲/۸۰	α copaene	۲/۸۰			linalool	۰/۴
۷	Terpinen-4-ol	۰/۱۲	β caryophyllene	۰/۱۲			Hexyl isobutyrate	۳/۵۷
۸	Carvacrol methyl ether	۱/۴۰	α hummulene	۱/۴۰			Hexyl butyrate	۳۰/۱۶
۹	Thymol	۱/۳۷	AR curcumene	۱/۳۷			Octyl acetate	۱۲/۸۲
۱۰	carvacrol	۸۸/۰۹	α zingiberene	۸۸/۰۹			-2-methyl butanoat	۱۰/۶۲
۱۱	Carvacrol acetata	۰/۴۶	β Bisabolene	۰/۴۶			Heptyl isobutyrate	۰/۸۴
۱۲	β caryophyllen e	۰/۹۶	Nerolidol E	۰/۹۶			N-octhyl isobutyrate	۲/۸۴
۱۳	β Hummulene	۰/۱۷	Caryophyllene oxide	۰/۱۷			α copaene	۴/۲۹
۱۴	Germacren <Bicyclo>	۰/۲۶	AR Tumeron	۰/۲۶			Ethyl decanoate	۱۲/۷۵
۱۵	Isobornyl acetate	۰/۱۱	α Tumeron	۰/۱۱			Trans caryophyllene	۱/۰۹
۱۶	spathulenol	۰/۱۸	Muurolene<4- α hydroxyl>	۰/۱۸			α hummulene	۰/۲۳
۱۷	Caryophyllene oxide	۰/۳		۰/۳			α amorphene	۰/۱۴
۱۸							AR curcumene	۰/۶۵
۱۹							α zingiberene	۰/۶۴
۲۰							α muurolene	۰/۱۸
۲۱							β bisabolene	۰/۱۴
۲۲							sesquiphellandre β ne	۱/۴۶
۲۳							Hexyl benzoat	۰/۱۲
۲۴							AR Turmerin	۰/۱۸
۲۵							Muurolene<14-hydroxy- α >	۰/۱۴
جمع	۹۸/۷۶	۹۰/۷۴	۹۸/۱۳	۸۶/۲۴				

است. برای مقایسه آماری از نرم افزار SPSS13 استفاده شد. بدین منظور از ANOVA و متعاقباً Tukey test جهت مشخص نمودن اختلافات معنی دار مابین رقت های مختلف هر اسانس و مابین هریک از اسانس ها و استرپتوکیناز استفاده شد. کلیه شکل‌های مربوط نیز، در برنامه نرم‌افزاری Excel رسم شد.

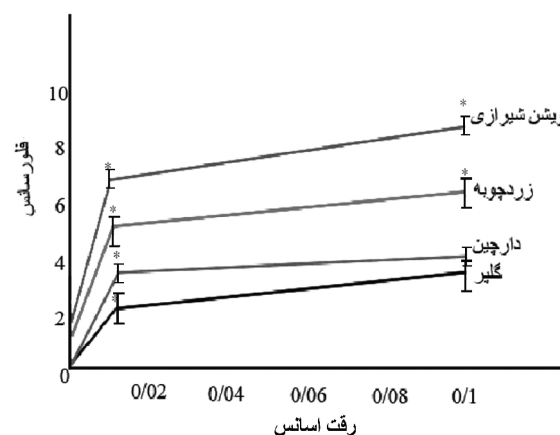
یافته ها

مقادیر اسانس بدست آمده از هر ۱۰۰ گرم پودر گیاه آویشن شیرازی، زرچوبه، دارچین و گلپر به ترتیب حدود ۲/۵، ۲/۵، ۳/۵ و ۲ میلی لیتر است که به ترتیب برنگ های سبز روشن، زرد روشن، زرد تیره شفاف و بیرنگ شفاف دیده می شود.

نتایج مربوط به آنالیز اسانس ها در جدول ۱ آمده اند. ترکیب کاروکرول با Area حدود ۸۰ درصد و پس از آن لینالول و تیمول بیشترین سهم را در میان ترکیبات موجود در اسانس گیاه آویشن دارد. بالاترین جز موجود در اسانس زرچوبه مربوط به ترکیب آر-تورمرون و آلفا-تورمرون، زینجی برن و آر-کورکومین است. آنالیز اسانس دارچین مشخص نمود که حدود ۹۰ درصد از این اسانس را ترکیب سینمالدئید تشکیل می دهد. عمده ترکیبات موجود در اسانس گلپر را استرهای خطی نظیر هگزیل بوتیرات (۳۰/۱۶ درصد)، اتیل دکانات (۱۲/۷۵ درصد) و اکتیل استات (۱۰/۶۲ درصد) تشکیل می دهند.

نتایج مربوط به تاثیر اسانس ها بر میزان لیز لخته و در نتیجه افزایش فلورسانس در شکل ۱ نمایش داده شده است. همانگونه که از روی شکل مشخص است اسانس آویشن شیرازی بصورت وابسته به دوز سبب لیز لخته و افزایش میزان فلورسانس می گردد. افزایش زمان مجاورت اسانس با لخته، افزایش محسوسی در لیز لخته و در نتیجه افزایش فلورسانس ایجاد نمی کند و به عبارتی رابطه فلورسانس-زمان مشاهده نمی گردد. (رابطه فلورسانس-زمان در شکل بیان نشده است).

اسانس زرچوبه بصورت وابسته به دوز سبب لیز لخته و افزایش معنی دار میزان فلورسانس می گردد ($p \leq 0.05$). با گذشت زمان مجاورت اسانس در رقت های ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰ با لخته، میزان لیز لخته و فلورسانس ناشی از آن به ترتیب به میزان ۳ و ۲/۵ واحد افزایش می یابد و در رقت های مذکور رابطه فلورسانس-زمان مستقیم است ($p \leq 0.05$). در رقت ۱/۱۰۰۰



شکل ۱- میزان فلورسانس ناشی از لیز لخته در حضور رقت های مختلف اسانسهای آویشن شیرازی، زرچوبه، دارچین و گلپر
*: اختلاف معنی دار میزان فلورسانس در هر رقت نسبت به رقت بیشتر ($p \leq 0.05$)

پس از آن جهت بررسی اثر اسانس ها بر میزان فلورسانس محیط به تنهایی و در حضور استرپتوکیناز از اسانس هر گیاه سه رقت (۱/۱۰۰، ۱/۱۰، ۱/۱۰۰) تهیه شد و ۱۰۰ μL از هر رقت به لوله های حاوی پلاسما و لخته نشاندار جهت بررسی اثر اسانس ها به تنهایی اضافه گردید. جهت بررسی اثر عصاره ها بر میزان فلورسانس محیط در حضور استرپتوکیناز ۱۰۰ μL از هر رقت به لوله های حاوی پلاسما، لخته نشاندار و unit/ml ۵۰۰ استرپتوکیناز اضافه گردید. نمونه گیری از لوله ها در زمانهای ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ پس از مجاورت نمونه ها با محیط انجام شد و میزان فلورسانس قرائت شد.

برای حذف اثر هر یک از اسانس های مربوطه در فلورسانس نمونه های مورد آزمایش، کمترین رقت هر یک از اسانس ها را در محیط پلاسمایی حاوی لخته غیرنشاندار وارد نموده و در مقایسه با نمونه های که تنها حاوی پلاسما و لخته غیر نشاندار بود، فلورسانس احتمالی ناشی از اسانس اندازه گیری شد. همچنین جهت حذف اثر اجزای حاصل از لیز لخته بر فلورسانس بدست آمده از نمونه های مورد بررسی، بالاترین و پایین ترین غلظت استرپتوکیناز را در محیط لخته غیر نشاندار وارد کرده و با مقایسه فلورسانس این نمونه و نمونه ای که تنها حاوی لخته غیر نشاندار و پلاسما بود، تولید و عدم تولید فلورسانس از نمونه مورد نظر کنترل گردید.

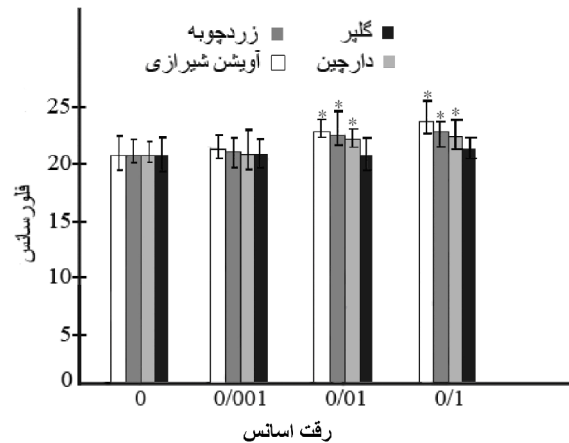
آنالیز آماری: نتایج بصورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ با منظور نمودن انحراف معیار نمونه ها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته

بحث

نتایج نشان می دهند که اسانس آویشن باعث افزایش قابل توجهی در فلورسانس محیط می گردد که بیانگر اثرات فیبرینولیز قابل توجه این گیاه می باشد. خاصیت فیبرینولیتیک اسانس این گیاه وابسته به دوز و غیر وابسته به زمان است. همچنین در حد قابل توجهی باعث افزایش فلورسانس ناشی از لیز لخته توسط استرپتوکیناز در محیط می گردد که این اثر نیز به صورت وابسته به دوز و غیر وابسته به زمان بوده و بیانگر تاثیر سریع اسانس آویشن در طی دقایق اولیه می باشد. قابل ذکر است که اسانس آویشن نسبت به اسانس سایر گیاهان مورد مطالعه در این طرح افزایش بیشتری در فلورسانس محیط ایجاد نمود. با توجه به گزارش ارائه شده در مورد ترکیب کارواکرول و فعالیت ضد تجمع پلاکتی آن [۱۶]، احتمالاً بین فعالیت فیبرینولیتیک این گیاه و ترکیب کارواکرول که در اسانس این گیاه دیده می شود ارتباط وجود دارد.

اسانس زردچوبه باعث افزایش فلورسانس در محیط می گردد که نشان دهنده قدرت لیز لخته توسط این گیاه است این اثر وابسته به دوز و زمان است. نتایج مربوط به آنالیز GC/MS این گیاه نشان می دهند که ترکیبات تورمون، زینجی برن و کورکومین در اسانس این گیاه درصد بالای را به خودشان اختصاص می دهند. در مطالعه صورت گرفته بوسیله Cnage و همکارانش گزارش گردیده که کورکومین بصورت *in vivo* باعث افزایش فیبرینولیز در مدل حیوانی می گردد [۵]. همچنین در مطالعه صورت گرفته بوسیله بحق اثر فیبرینولیتیک قابل توجه دارچین به ماده زینجی برین و کورکومین نسبت داده شده است [۳]. وجود این دو ماده در زردچوبه می تواند بیانگر فعالیت فیبرینولیتیک آن باشد.

اثر فیبرینولیتیک اسانس دارچین نسبت به دو اسانس قبلی کمتر و با گذشت زمان افزایشی در میزان لیز لخته مشاهده نمی شود. آنالیز اسانس این گیاه نشان می دهد که حدود ۹۵٪ ترکیب این اسانس را سینامالدئید تشکیل می دهد. از طرفی گزارش گردیده که تاثیرات دارویی سینامالدئید طی جوشاندن، تبخیر و فرایند اکسیداسیون خودبخودی از بین می رود [۳] بنابراین می توان گفت که خاصیت فیبرینولیتیک پایین این گیاه می تواند در اثر این عامل باشد.



شکل ۲- میزان فلورسانس ناشی از لیز لخته در حضور استرپتوکیناز و رقت های مختلف اسانس های آویشن شیرازی، زردچوبه، دارچین و گلپر
*: اختلاف معنی دار میزان فلورسانس در هر رقت نسبت به استرپتوکیناز به تنهایی ($p \leq 0.05$)

اسانس دارچین و گلپر اثر فیبرینولیتیک مشاهده نمی گردد. در رقت های ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰ این دو اسانس لیز لخته و افزایش فلورسانس مشاهده می گردد. بین فلورسانس ناشی از این دو رقت در این دو اسانس اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p > 0.05$). (شکل ۱).

افزایش زمان مجاورت اسانس دارچین و گلپر با لخته، افزایش محسوسی در لیز لخته و در نتیجه افزایش فلورسانس ایجاد نمی کند و به عبارتی رابطه فلورسانس-زمان مشاهده نمی گردد ($p > 0.05$). (رابطه فلورسانس-زمان در شکل بیان نشده است).

میزان فلورسانس ناشی از لیز لخته توسط استرپتوکیناز در حضور رقت های مختلف هر یک از اسانس ها در شکل ۲ نشان داده شده است. فلورسانس ناشی از رقت ۱/۱۰۰۰ هیچ یک از اسانس ها در حضور SK نسبت به فلورسانس نمونه کنترل (نمونه حاوی فقط استرپتوکیناز) اختلاف معنی داری ندارد ($p > 0.05$). در رقت های ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰ اسانس آویشن شیرازی، دارچین و زردچوبه فلورسانس محیط در مقایسه با فلورسانس نمونه کنترل به صورت معنی دار بیشتر است ($p \leq 0.05$).

اسانس گلپر در هیچ یک از رقت های به کار رفته در حضور استرپتوکیناز اثر افزایشی بر فلورسانس ناشی از لیز لخته توسط استرپتوکیناز نشان نمی دهد (شکل ۲).

بتوان گفت که این ترکیبات فاقد یا واجد اثرات فیبرینولیتیک بسیار اندک می باشند.

در پایان پیشنهاد می گردد که ترکیبات شاخص گیاهانی که اثرات فیبرینولیتیک قابل توجهی از آنها گزارش گردید جداسازی و پس از انجام مراحل تغلیظ و خالص سازی، تحت آزمونهای *in vivo* و *in vitro* اثر فیبرینولیتیک آنها در مدل‌های حیوانی مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت تایید بتوان مصرف این ترکیبات را در قالب یک فرم دارویی قابل قبول و یا بصورت بخشی از رژیم غذایی بیماران با سابقه اختلالات قلبی عروقی مورد بررسی قرار داد.

نتایج مربوط به استفاده از رقت های مختلف اسانس گلپر در محیط پلاسمایی حامل لخته نشان می دهند که اسانس گلپر را می توان فاقد اثرات فیبرینولیتیک دانست. بکارگیری اسانس گلپر در محیط پلاسمایی و در حضور استرپتوکیناز هیچگونه اثر افزایشی معناداری را درمیزان فلورسانس ناشی از لیز لخته توسط استرپتوکیناز نشان نمی دهد که با توجه به نتایج حاصل از قدرت لیز لخته توسط اسانس گیاه به تنهایی این نتیجه دور از انتظار نبود.

آنالیز این اسانس نشان می دهد که اکثریت ترکیبات آن را استرهای خطی و هگزیل بوتیرات تشکیل می دهند (۹۰٪) شاید

References

- [1] Asgary S, Naderi Gh, Askari N, Behagh A. Fibrinolytic effect of Amirkabiria odorastissima Mozaffarian. *J Medicinal Plants* 4 (2005) 19-25.
- [2] Baruah, Dash R, Chaudhari M, Kadam S, Plasminogen activators: A comparison. *Vascular pharmaco* 44 (2006) 1-9.
- [3] *British Pharmacopoeia*. London: British Pharmacopeia Commission 1993; A154-7.
- [4] Capstick T, Henry T, Efficacy of thrombolytic agents in the treatment of PE. *Eur Respir J* 26(2005)864-874.
- [5] Cnag H, Pharmacology and applications of chines material medica. *World Scientific* 36(1997) 939-942.
- [6] Dahlback B, Blood coagulation. *Lancet* 355 (2000) 1627-1632.
- [7] De medeiros JMR, Macedo M, Contancia JP, Nguyen C, Cunningham G, Miles D, Antithrombin activity of medicinal plants of the Azores. *J Ethnopharmacol* 72 (2000) 157-165.
- [8] Levine M, Hemorrhagic complication of anticoagulant treatment. *Chest* 119 (2001) 108-121.
- [9] Low A, Mnonopi N, Davids H, Ryno J, Carminita L, Antithrombotic/anticoagulant and anticancer activities of selected medicinal plants from South Africa. *African J Biotech* 7 (2008) 217-223.
- [10] Makino H, wakuhima T, Okamaoto Y, Okukubo K, Salyo J, Ykano B, Effects of Kangen-karyu on Coagulation System and Platelet Aggregation in Mice. *Biol. Pharm. Bull* 25(2002) 523-525.
- [11] Naderi Gh, Asgary S, Jafarian A, Askari N, Behagh A, Roya Hasani R. Fibrinolytic effects of *Ginkgo biloba* extract. *Exp Clin Cardiol* 10(2005)85-87.
- [12] Pachham M, Role of platelets in thrombosis and homeostasis. *Can J Physiol Pharmacol* 72 (1994) 278-84.
- [13] Prasad S, Singh R, Deopujari J, Purohit H, Taori G, Dagainawala H, Effect of Fagonia Arabica (Dhamasa) on in vitro thrombolysis. *BMC Com Alter Med* 7 (2007) 36-41.
- [14] Remington. *The science and practice of pharmacy* 20 the ed. USA Lip Willi & Wilk.
- [15] Wardlaw JM, Berge E, Zoppo G, Yamaguchi T, Thrombolysis for acute ischemic stroke. *Stroke* 35(2004) 2914-2915.
- [16] Wnomoto S, Asano R, Iwahori Y, Narui T, Okada Y, Singab AN, Okuyama T. Hematological studies on black cumin oil from the seeds of *Nigella sativa* L. *Biol Pharm Bull* 24 (2001) 307-310.

In the name of God, most gracious, most merciful

Physiology and Pharmacology

Volume 13, Number 4, Winter 2010

Table of Contents

Page

-
- **Involvement of central amygdala muscarinic receptors in morphine-induced amnesia in rat** 340
Lotfollah Khajepour, Ameneh Rezayof, Mohammad Reza Zarrindast
 - **The Effect of Intrahippocampal Injection of Ascorbic Acid on Spatial Learning and Memory in Adult Male Rats** 353
Khadije esmaeilpour bezenjani, mehdi abbasnejad, saeed esmaeili mahani, yaser masoumi ardakani
 - **Study of the correlation between ACE gene polymorphism and coronary artery disease** 362
Habibolah Saadat, Seyed Ali Ziai, Sima Nasri, Mina Sakenshaft, Atefe Ansarian
 - **The Effect of Astrocytic S100B Protein on Memory Consolidation Rats** 371
Parvin Babaei, Leila Jamalzadeh, Keivan Keramati
 - **Effects of dietary virgin olive oil on serum lipids levels in rats** 379
Fateme Mohagheghi, Mohammad Reza Bigdeli, Bahram Rasoulzadeh, Ali Asghar Zeinanloo
 - **The Effect of Intravascular Injection of Ghrelin on the Mean Plasma Concentrations of Insulin and ACTH in Immature Camels Fed with Diets Containing Different Levels of Their Energy Requirements** 386
Roshanak Rashedi, Homayoon Khazali
 - **Evaluation of the cytotoxic activity of crocin and safranal using potato disc and brine shrimp assays** 397
Javad behravan, Hossein Hosseinzadeh, Amir Rastgoo, Obeid. M.Malekshah, Mitra Hessani
 - **Effect of sensory deprivation and Locus Coeruleus (LC) electrical stimulation on the response properties of layer IV barrel cortex neurons in male rats** 404
Ali siahposht khachaki, Vahid sheibani, Mohammad reza afarinesh khaki, hamid sheikhkanloui Milan, Ali shamsizadeh
 - **Effects of radiation leakage from microwave oven on the body weight, thyroid hormones and cortisol levels in adult female mice** 416
Gholamali Jelodar, Saeed Nazifi
 - **Analysis of essential oil components from four food spices and determination of their *in vitro* fibrinolytic activity** 423
Gholam Ali Naderi, Narges Jafari Dinani, Abbas Jafarian Dehkordi, Sedigheh Asgary, Raheleh Shami