دراسة التأثير الموسع الوعائي لنبات الزعرور *Crataegus laevigata* في الشريان الأبهر المعزول من الأرنب

وائل الأغواني* **عصام الناصر****

الملخص

خلفية البحث وهدفه: دُرِسَ التأثير الموسع الوعائي للخلاصة الإيثانولية المحضرة من الأجزاء الهوائية لنبات الزعرور Crataegus laevigata المنتمي للفصيلة الوردية Rosaceae. وذلك في الحلقات الأبهرية المعزولة من الأرنب. مواد البحث وطرائقه: جرى تحري تأثير الزعرور في الحلقات الأبهرية المقتطعة من الشريان الأبهر للأرنب؛ وذلك باستخدام الخلاصة الايتانولية. أجريت مجموعة من التجارب على الحلقات سليمة البطانة التي جرى إحداث تقلص وعائي مديد لها بالنور ايبينفرين (NE) وتبعها تجارب على الحلقات منزوعة البطانة؛ وذلك بهدف معرفة دور البطانة في أي فعل دوائي محتمل للخلاصة. اختير الموسع الوعائي: الديلتيازيم Diltiazem كمرجع للمقارنة ولتقييم التأثير المرخي للخلاصة النباتية.

النتائج: أظهرت الخلاصة تأثيراً مرخياً للحلقات الأبهرية مسبقة التقلص بالنورايبينفرين، واتضح أنّ جزءاً من هذا الفعل مرتبط بوجود البطانة.

الاستنتاج: التأثير الموسع الوعائي للخلاصة الإيثانولية مرتبط –إلى حد كبير– بوجود البطانة، وفي ذلك حاجة ملحة لعزل المكون، أو المكونات الفعالة المسؤولة ودراسة تأثيرها على حدة.

الكلمات المفتاحية: الزعرور Crataegus laevigata، الحلقات الأبهرية، النورايبينفرين (NE)، الديلتيازيم.

* قسم الأدوية والسموم– كلية الصيدلة– الجامعة الدولية الخاصة للعلوم والتكنولوجيا.

** قسم الكيمياء العامة والتحليلية– كلية الصيدلة– الجامعة الدولية الخاصة للعلوم والتكنولوجيا.

Relaxing effect of *Crataegus laevigata* on isolated rabbit aorta

Wael Al-Aghawani* **Isam Naser****

Abstract

The Background and the Aim: The vasodilator effect of ethanolic extract of Crataegus laevigata (Rosaceae) was investigated in isolated and Norepinephrine-precontracted rabbit aortic rings.

Materials and Methods: The ethanolic extract was investigated in endothelium-intact aortic rings which were contracted by NE. In another segment of groups, the same experiments were repeated in endothelium-denuded aortic rings. The vasodilator drugs: Diltiazem and Prazocine were used as references and for evaluative tools.

Results: This extract showed a profound relaxing effect on NE-precontracted aortic rings, which was partially related to endothelium.

Conclusion: the vasodilator effect of ethanolic extract of Crataegus laevigata is partially related to endothelium. this emphasizes the need for isolation of related compound(s).

Key words: Achillea Fragrantissima, aortic rings, pheylephrine, Diltiazem and Prazosin.

* Department of pharmaceutical science, Faculty of pharmacy, the International University for science and technology (IUST), Jebab, Daraa.

** Department of pharmaceutical science, Faculty of pharmacy, the International University for science and technology (IUST), Jebab, Daraa.

المقدمة:

نبات الزعرور Crataegus laevigata المنتمي الفصيلة الوردية Rosaceae، من النباتات المعروفة، الشكل رقم 1. ثماره حمراء، وينمو على أطراف الحقول. وأوقات الازهرار غالباً في فصل الربيع، وتظهر ثماره في أيلول. وهو من النباتات المقاومة للجفاف والعواصف.

الشكل 1: ثمار نبات الزعرور

يملك نبات الزعرور تاريخاً طبياً حافلاً بسبب غناه بعديد من المكونات [1]. ففوائده تشمل منع ارتصاص صفيحات الدم [2]، والتأثير المضاد للالتهاب [3].

أمَّا فيما يرتبط بالجملة القلبية الوعائية فإن للزعرور فوائدَ كثيرةً؛ فعلى سبيل المثال هو مفيد في علاج فشل القلب heart failure [4]، وفي ارتفاع الضغط الدموي[5]. وأيضاً فإن له تأثيراً خافضاً لشحوم الدم[6]. ويجب أن لا يغيب عن البال غنى هذا النبات بالمكونات الفعالة المهمة، خاصة في المجال القلبي الوعائي[7]. ومن هذه المكونات الفلافونوئيدات[8]، المعروفة جيداً بفعاليتها الموسعة للأوعية التي ما زالت البحوث حتى الآن تؤكد ذلك[9].

وقد أتت فكرة إجراء هذا البحث لاختبار فعاليته الوعائية على الأوعية الدموية، وبشكل خاص دراسة خصائصه الموسعة للأوعية على الشريان الأبهر عبر تحري عمل الخلاصة الايثانولية لبراعم الزعرور وثماره على الشريان الأبهر المعزول من الأرنب، ومقارنة تأثير هذه الخلاصة بالديلتيازيم Diltiazem الذي يؤدي دور المرجع المعياري Standard reference.

الطرائق Methods

جمع الثمار:

جمعت ثمار الزعرور باكراً، من عدة أشجار مكتملة النمو، وبعد الجمع غسلت هذه الثمار جيداً وجففت تماماً بالظلام. وبعد ذلك سحقت إلى مسحوق ناعم، يمرر على منخل ذي فتحة 0.16 ملم.

تحضير الخلاصة النباتية:

اِسْتُخْلِصَ 20 غ من مسحوق براعم الزعرور وثمارها المجففة بـ 200 مل مذيب استخلاص يتكون من إيثانول 140 مل وماءً مقطراً 60 مل. ووُضِعَ المسحوق مع المحل السابق في دورق استخلاص كتيم للضوء، وبحرارة الغرفة مدة 24، حيث كان الدورق خلالها موضوعاً على الراجة الأفقية shaker لزيادة مردود العملية. بعد مرور المدة المذكورة بُخِّرَ الإيثانول بدرجة حرارة 55 مئوية، ونقل ما تبقى من ماء حاوٍ للخلاصة إلى جهاز التجفيد ليتم في النهاية الحصول على الخلاصة جافة تماماً.

التحري عن وجود الفلافونوئيدات ومعايرتها في الخلاصة:

التحري: جرى التحري عن وجود الفلافونوئيدات بحل كمية قليلة من الخلاصة الكحولية بمحلول ممد من هيدروكسيد الصوديوم (4%)، إن إضافة حمض كلور الماء إلى المزيج سيحول لون المحلول من الأصفر إلى عديم اللون في حال وجود الفلافونوئيدات[10]، وقد كانت النتيجة إيجابية في الخلاصة المدروسة.

المعايرة الكمية للفلافونوئيدات:

جرى التحديد الكمي للفلافونيدات الكلية باستخدام طريقة السبكتروفوتومتر على النحو الآتي[11]:

مزج مقدار قليل محدد من الخلاصة النباتية مع محلول ميتانولي لكلور الألمنيوم AlCl3 2%. حُضِّنَتِ العينة أربع ساعات في درجة حرارة الغرفة، وبعدها قيسَتِ الامتصاصية

الـضوئية عنـد طـول الموجـة 415 nm. أُعِيـدتِ التجربـة بالـشروط نفسها من أجل الـشاهد (البلانك)، لكن من دون إضافة AlCl3. حُضِّرَتْ سلسلة من محلول العياري للروتين rutin ومن ثم رسم منحنى المعايرة له.

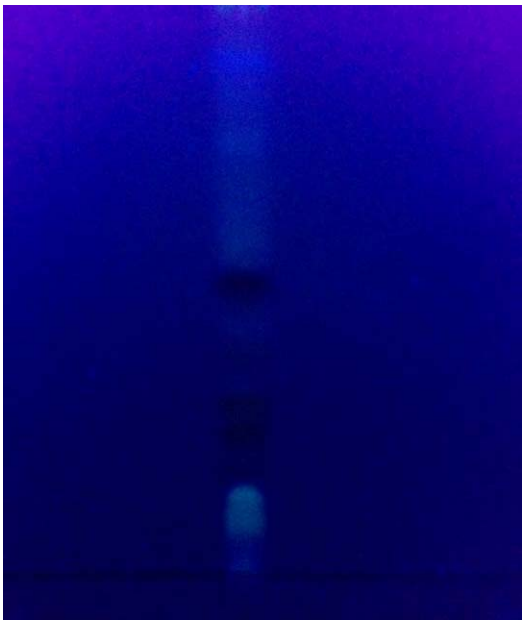
عُبِّر عن تركيز الفلافونيدات بالميلي غرام في كل غرام من الخلاصة الجافة لنبات الزعرور.

كـان المتوسـط الحـسابي لتركيـز الفلافونيـدات الكليـة فـي الخلاصة الكحولية لنيات الزعرور المدروس:

0.006 ± 0.437 mg، أي إنَّ النـسبة المئويـة لوجـود الفلافونوئيدات في الخلاصة الكحولية 0.043%.

الترحيـل علـى طبقـة رقيقـة لإجـراء البـصمة الكروماتوغرافية[12]:

رُحِّلَتِ الخلاصـة علـى طبقـة رقيقـة TLC باسـتعمال سـائل الترحيل الآتي: ايتيل اسيتات – ايثانول– ماء، 5: :1:5، حجم/ حجم/ حجم، وبدرجـة حرارة المخبر 20–25 درجة مئويـة. وبعـد تجفيـف الـصفيحة عرضـت لأبخـرة الأمونيـا. قُرِئَتِ الصفيحة بجهاز UV وبطول موجة 254 nm، الشكل 2.



الشكل 2: البصمة الكروماتوغرافية للخلاصة

حيوانات التجارب: استخدمت أرانب ذكور بالغة من الفصيلة ذاتها وأعمارها متقاربة.

عزل الشريان الأبهر وتحضير الحلقات الوعائية Aortic rings:

نحرت الحيوانات يوم التجربة عبر قطع الأجوف العلوي في الرقبـة سـريعاً، ولأخـذ كامـل الـشريان الأبهـر فـتح القفـص الصدري بشكل سريع وأفقي موازٍ لمحور الجسم، وتم مباشرة عزل الأبهر بحذر ابتداءً من القلب حتى منطقة الحجاب الحاجز، ووضع فوراً في سائل كريبس بدرجة الصفر مئوية. ثم نُظف جيداً من الأنسجة الشحمية والضامة المحيطة، وبعد التنظيف الجيد قُطِعَتِ الحلقات من القسم الصدري النـازل مـن الـشريان thoracic aorta باسـتعمال الأدوات الجراحية الدقيقة، وكان طول كل حلقة 3 ملم تقريباً [13].

جـرى العمـل علـى جهـاز الأعـضاء المعزولـة Harvard المكون من حمامات مائية وجهاز نقل حركة، وكل حمام مكون من حجرة داخلية سعتها 20 مل بدرجة حرارة 37 مئويـة، وضـع بـداخلها محلـول كـريبس ذو التركيـب الآتـي [mM]:

NaCl **119**, KCl **4.7**, $NaHCO_3$ **25**, $CaCl_2$ **2.5**, $MgCl_2$ **1**, KH_2PO_4 **1.2** and D-Glucose **11**.

نقلت كل حلقة وحدها إلى حمام مائي يحتوي على محلول كريبس، وعلقت بين خطافين على شكل حرف L من الفولاذ غير القابل للصدأ، الخطاف العلوي يوصل مباشرة إلى ناقل الحركة السابق، أمَّا الخطاف السفلي فهو ثابت لا يتحرك. ضـبطت درجـة الحـرارة والباهـاء المناسـبتين (37ºم، PH=7.4).

قِيـسَتِ ورُسِـمَتِ الحركـة التقلـصية وتغيراتهـا علـى أوراق ميليميترية.

خطوات الدراسة Study protocol

الإعداد الأولي للمحضرات الأبهرية: أخضعت الحلقات بعد تعليقها فـي الحمـام المـائي (37ºم، PH=7.4) إلـى قـوة شـد

أساسية basal tension تعادل 1 غرام، وبعد مرور نصف ساعة اختبرت فعاليتها التقلصية بواسطة النور أدرينالين. ومن ثم فُحِصَ عمل البطانة بواسطة الأستيل كولين 3×10^{-6} M. إن حدوث الاستجابة الارتخائية للاستيل كولين يدل على الوجود الوظيفي للبطانة. أمَّا في التجارب التي تتطلب حلقات منزوعة البطانة فجرت إزالتها بواسطة الحك اللطيف للمعة الحلقة الوعائية بأداة خشبية ذات رأس قطني، وتم التأكد من ذلك بغياب الاستجابة الارتخائية للأستيل كولين.

وبعد اختبار التقلص والبطانة غسلت الحلقات بمحلول كريبس حتى العودة إلى مستوى التوتر الأولي، وبعده مدة توازن (30 دقيقة)، أضيف النور أدرينالين إلى الحمام المائي بحيث يكون تركيزه 10^{-6} مول، وتم الانتظار حتى التقلص الأعظم الثابت. وهذه الخطوة أساسية في مراحل العمل جميعها، حيث تنتهي لتبدأ بعدها الخطوات اللاحقة.

المواد المستخدمة: النورأدرينالين NE، الأسيتيل كولين Acetylcholine والديلتيازيم Diltiazem.

تحديد الفعل المرخي للخلاصة النباتية ودور البطانة:

استخدمت ثلاث مجموعات من الحلقات (8 حلقات لكل مجموعة)، الأولى سليمة البطانة والأخرى منزوعة البطانة، وأُعْطِيَتْ هاتان المجموعتان الخلاصة السابقة، أما المجموعة الأخيرة فكانت شاهدة أبقيت المدة الزمنية نفسها المستغرقة في التجربة للمجموعات، وجرت معاملة كل مجموعة من المجموعات المدروسة على النحو الآتي:

بعد الحصول على تقلص ثابت الشدة ومديد للحلقات الوعائية سليمة البطانة باستخدام مركب النور أدرينالين NE على النحو الذي ذكر سابقاً، يبتدئ العمل بالإضافة المتدرجة والتراكمية cumulatively (جرعة إثر جرعة) لمحلول الخلاصة النباتية المفحوصة إلى الحمام المائي المعلقة ضمنه الحلقة الأبهرية، ومن ثم ملاحظة التغيرات الحاصلة على منحنى التقلص الأولي للحلقة. جرت الإضافات المتتابعة للخلاصة النباتية بعد إذابة 20 ملغ من المسحوق الجاف للخلاصة في 250 مكرولتراً من سائل كريبس نفسه، ووضع المزيج في أنبوب إيبندورف واِسْتُعِينَ برجاج الأنابيب لحل الخلاصة بشكل مناسب، لتجري بعده الإضافة من هذا المحلول إلى الحمام المائي تدريجياً بواسطة الممص الآلي. أضيف إلى مجموعة الحلقات الشاهدة سائل كريبس فقط دون الخلاصة بالطريقة نفسها بالأحجام نفسها المضافة إلى الحلقات المعالجة بالخلاصة.

أمَّا بالنسبة إلى الديلتيازيم فقد حُلَّ المقدار المحدد منه بالملغرامات في الماء المقطر، وطبق من هذا المحلول على الحلقات الأبهرية بالطريقة نفسها المتبعة مع الخلاصة النباتية.

الدراسة الإحصائية:

سجلت النتائج على شكل نسب مئوية لتثبيط تقلص النور أدرينالين للحلقات بفعل تأثير الخلاصات بجرعاتها المختلفة (الارتخاء)، ويكون تقديمها على الشكل الآتي:

الوسط الحسابي ± الخطأ المعياري Mean ± Standard error of mean.

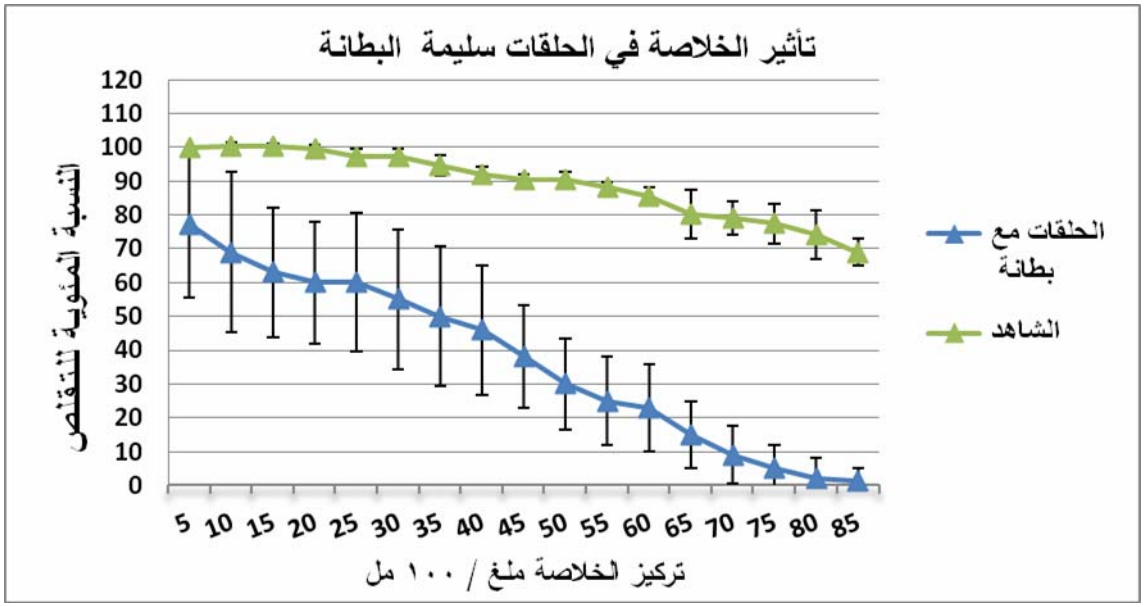
ويعتمد مستوى تقدير الأهمية الإحصائية **P** لتحديد وإقرار الفروق المعتد بها بين المجموعات المختلفة عند مستوى مساوٍ أو أقل من 5% **P**)≥(0.05 . n هو عدد الحلقات المستعملة في كل تجربة.

النتائج Results:

أحدث النور ايبينفرين بجرعة 6-10 مول تقلصاً مديداً للحلقات الأبهرية المعزولة، وبعد وصول هذا التقلص إلى الحد الأقصى الثابت جرت الإضافة المتدرجة التراكمية للخلاصة النباتية.

أ– الفعل المرخي للخلاصة الكحولية على الحلقات سليمة البطانة:

أحدثت الخلاصة الإيثانولية (70 إيثانول/ 30 ماءً) ارتخاءً واضحاً للحلقات الأبهرية سليمة البطانة مسبقة التقلص بالنور أدرينالين مقارنة بمجموعة الشاهد التي سُرِّبَ الحامل المائي لها فقط عوضاً عن الخلاصة، الشكل 3. وابتدأ التأثير من البداية ومع الجرعة الأولى، وبفارق إحصائي معتبر مع الشاهد P)≥(0.05 ، واستمر هذا التأثير حتى النهاية.



الشكل 3: تأثير الخلاصة الإيثانولية للزعرور في الحلقات سليمة البطانة والمقلصة بالنورإيبينفرين.

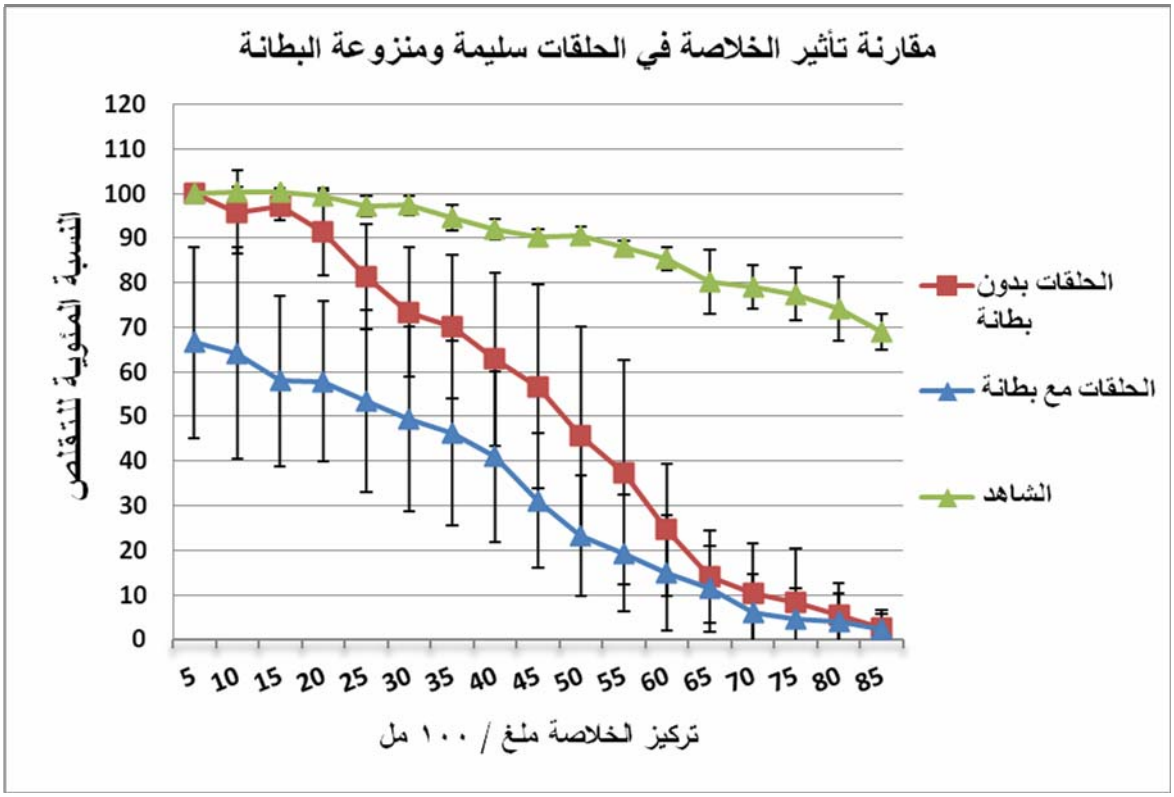
ب- الفعل المرخي للخلاصة الكحولية على الحلقات منزوعة البطانة:

سببت الخلاصة نفسها أيضاً ارتخاءً للحلقات الأبهرية منزوعة البطانة والمقلصة مقارنة بالشاهد ($P \geq 0.05$)، الشكل 4. إلا أنه كان هناك فارق واضح مع مجموعة الحلقات سليمة البطانة؛ فبدء التأثير الارتخائي احتاج إلى الوصول إلى جرعة 30 ملغ/ 100مل، حيث أنزلت هذه الجرعة التراكمية نسبة التقلص المئوية إلى **4.8 ± 81.3 %**، وعندها بدأ الفارق الإحصائي مع مجموعة الشاهد عند المستوى المحدد سابقاً.

الشكل 4: تأثير الخلاصة الإيثانولية للزعرور في الحلقات منزوعة البطانة والمقلصة بالنورأدرينالين

ج– المقارنة بين الحلقات سليمة ومنزوعة البطانة في الاستجابة الارتخائية للخلاصة الكحولية:

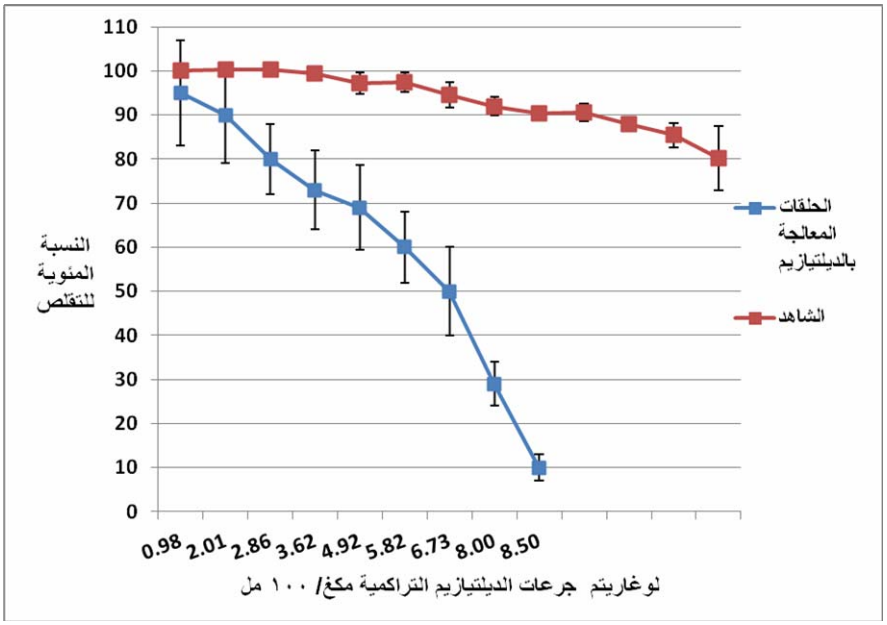
أحدثت الخلاصة كما سبقت الإشارة ارتخاءً للحلقات الأبهرية السابقة، إلا أنَّ بدء التأثير ومداه اختلفا جلياً وتأثّرا بوجود البطانة أو بعدم وجودها. إن وجود البطانة جعل الحلقات تستجيب بالارتخاء عند أول إضافة للخلاصة (50 ملغ/ 100 مل)، وكانت بذلك سعة الاستجابة بالارتخاء أقوى وأوضح مع البطانة، ويبدو هذا واضحاً عند المقارنة البيانية بين المجموعتين المذكورتين، الشكل 5. على أية حال، وعند الاستمرار بإضافة الجرعات المتتابعة من الخلاصة فإن التأثير أصبح متشابهاً في كلتا الحالتين، وكان ذلك تحديداً عند الجرعة 45 ملغ/ 100 مل، إذ لم يعد ثمة فارق ذي دلالة إحصائية لكلتا الحالتين، الشكل 5.



الشكل 5: مقارنة تأثير الخلاصة الكحولية للزعرور في كل من الحلقات منزوعة البطانة والسليمة والمقلصة بالنورأدرينالين

د- تأثير الديلتيازيم Diltiazem:

يُحْدِثُ هذا الحاصر لقنوات الكالسيوم كما هو متوقع منه ارتخاءً جيداً للحلقات المتقلصة ويعيدها إلى ما كانت عليه قبل تسريب النورأدرينالين NE. وكان ذلك معتمداً على الجرعة، وتم التمثيل البياني للعلاقة بين الجرعة والتأثير باعتماد لوغاريتم جرعات الديلتيازيم المضافة إلى الحلقات، الشكل 6.



الشكل 6: تأثير الديلتيازيم المرخي للحلقات المتقلصة.

المناقشة Discussion

أبدت الخلاصة المدروسة تأثيراً ارتخائياً واضحاً، هذا الارتخاء الذي عبّر عنه بيانياً بالنسبة المئوية للتقلص، كان معتمداً على الجرعة.

كان تأثير الخلاصة المرخي في الحلقات الأبهرية سليمة البطانة ومسبقة التقلص بالنور أدرينالين واضحاً مقارنة بالشاهد (الشكل 3). وبدأ التأثير المرخي لهذه الخلاصة ابتداءً من الجرعة 10 ملغ (100 ملغ / لتر)، وعادت الحلقات، قدما مع تتابع إعطاء الجرعات المتزايدة، إلى مستوى توترها الأولي تقريباً قبل تطبيق النور أدرينالين.

أمَّا في الحلقات منزوعة البطانة، أحدثت الخلاصة ذاتها ارتخاءً بيّناً تجلى أيضاً بعودتها إلى مستوى التوتر الأولي (الشكل 4)، وكان واضحاً المقدار الأكبر من الجرعات.

إن قياس الفعل المرخي Relaxation للخلاصة الكحولية على كل من الحلقات سليمة البطانة والمنزوعة البطانة، دل بشكل أكيد أنّ للبطانة دوراً مرخياً واضحاً، وذلك من خلال المقارنة بين النتائج في الحالتين، إذ إنَّ الفارق الإحصائي بينهما جلي ($P\leq 0.05$).

وقد أكد العديد من الباحثين أهمية البطانة ودورها في عمليات التوسع الوعائي[14]، إذ إنّ البطانة منتج كبير لعدد من المواد المهمة وعائياً وخاصة أكسيد النتريت NO (15، 16). وأكد الباحث Wu-Wong من جديد أهمية البطانة إذْ إنَّ قصورها يؤدي إلى حدوث اضطرابات وعائية عديدة عند الجرذان[17]. وفي دراسة واسعة لأحد النباتات العشبية المستخدمة في الصين، وجد الباحث Chen H أن لها خواصَّ مرخية للشريان الأبهر بآليات معتمدة وأخرى غير معتمدة على البطانة[18]. وقد أكد الباحث Drachuk KO أن جزءاً مهماً من التأثيرات الموسعة التي يحدثها مركب ذو أصل نباتي يعتمد على البطانة، وبآليات متعددة من أهمها الإسهام في التصنيع الحيوي لمركب أكسيد النتريت NO [19]. ولذلك فإنه من المتوقع أن نجد أن تأثير الزعرور الموسع يعتمد بدرجة مهمة على وجود البطانة. وقد أتى استخدامنا لعقار الديلتيازيم كدواء مرجعي لتقييم التأثير الموسع الوعائي لهذا النبات، وكما جرت العادة مع بعض الباحثين في هذا المجال [20].

الاستنتاج، لنبات الزعرور *Crataegus laevigata* تأثيرٌ مرخٍ واضحٌ في الحلقات الأبهرية، وهذا التأثير يعتمد جزئياً على البطانة، الأمر الذي يحث بقوة باتجاه البحث عن الآليات الأخرى خاصة تلك المتعلقة بقنوات البوتاسيوم والكالسيوم. مع محاولة عزل المكونات الفعالة، خاصة من الخلاصة الإيثانولية، ومعايرتها ومقايسة تأثيرها المباشر، إنْ لم تكن مدروسة من قبل.

References

1- Kuczkowiak U, Petereit F, Nahrstedt A. Hydroxycinnamic Acid Derivatives Obtained from a Commercial Crataegus Extract and from Authentic Crataegus spp. *Sci Pharm*. 2014 Aug 21;82(4):835-46.

2- Dalli E, Vallés J, Cosín-Sales J, Santos MT, Moscardó A, Milara J, Sotillo JF. Effects of hawthorn (Crataegus laevigata) on platelet aggregation in healthy volunteers. *Thromb Res*. 2011 Oct;128(4):398-400.

3- Li C, Wang MH. Anti-inflammatory effect of the water fraction from hawthorn fruit on LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Nutr Res Pract*, 2011 Apr;5(2):101-6.

4- Wang J, Xiong X, Feng B. Effect of crataegus usage in cardiovascular disease prevention: an evidence-based approach. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:149363.

5- Gary N Asher et al. Effect of hawthorn standardized extract on flow mediated dilation in prehypertensive and mildly hypertensive adults: a randomized, controlled cross-over trial. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 12:26.

6- Robert M Littleton, Matthew Miller and Jay R Hove. Whole plant based treatment of hypercholesterolemia with Crataegus laevigata in a zebrafish model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 12:105.

7- Yang B, Liu P. Composition and health effects of phenolic compounds in hawthorn (Crataegus spp.) of different origins. *J Sci Food Agric*. 2012 Jun;92(8):1578-90.

8- Edwards JE, Brown PN, Talent N, Dickinson TA, Shipley PR. A review of the chemistry of the genus Crataegus. *Phytochemistry*, 2012 Jul;79:5-26.

9- Yin Y et al. UPLC-DAD/Q-TOF-MS Based Ingredients Identification and Vasorelaxant Effect of Ethanol Extract of Jasmine Flower. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014;2014:707908.

10- Sawadogo, W.R.,Boly,R.,Lompo,M. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of Dicliptera verticillata. *Int J of Pharmacology*. 2006; 2 (4): 435-438.

11- Quettier, D.C., Gressier, B., Vasseur, J. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat, hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000, 72, 35-42.

12- Sathishkumar T et al. Optimization of falvonoids extraction from the Leaves of *Tabernaemontana heyneana Wall.* Nature and science. 2008, 6(3): 10-22.

13- Jin SN, Wen JF, Li X, Kang DG, Lee HS, Cho KW. The mechanism of vasorelaxation induced by ethanol extract of Sophora flavescens in rat aorta. *J Ethnopharmacol.* 2011 ;137(1):547-52.

14- Huo L, Zhang J, Qu Z, Chen H, Li Y, Gao W. Vasorelaxant effects of Shunaoxin pill are mediated by NO/cGMP pathway, HO/CO pathway and calcium channel blockade in isolated rat thoracic aorta. *J Ethnopharmacol.* 2015 Jul 31. pii: S0378-8741(15)30063-5.

15- Radenković M. Pioglitazone and Endothelial Dysfunction: Pleiotropic Effects and Possible Therapeutic Implications. *Sci Pharm.* 2014 Aug 18;82(4):709-21.

16- Glushko AA, Voronkov AV, Chernikov MV. Molecular targets for searching of endothelial-protective substances. *Bioorg Khim.* 2014 Sep-Oct;40(5):515-27.

17- Alphonsus CS1, Rodseth RN. The endothelial glycocalyx: a review of the vascular barrier. *Anaesthesia*. 2014 Jul;69(7):777-84.

18- Chen H et al. Endothelium-dependent and -independent relaxation of rat aorta induced by extract of Schizophyllum commune. *Phytomedicine*. 2014 Sep 25;21(11):1230-6.

19- Drachuk KO, Kotsiuruba AV, Baziliuk OV, Stepanenko LH, Sahach VF. Propargylglycine restores endothelium-dependent relaxation of aortic smooth muscles in old rats. *Fiziol Zh*. 2014;60(4):3-10.

20- Su XH1, Duan R, Sun YY, Wen JF, Kang DG, Lee HS, Cho KW, Jin SN. Cardiovascular effects of ethanol extract of Rubus chingii Hu (Rosaceae) in rats: an in vivo and in vitro approach. *J Physiol Pharmacol*. 2014 ;65(3):417-24.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2016/4/7.

تاريخ قبوله للنشر 2016/5/2.