

دراسة تأثير خلاصة المليسة على تقلصات الأمعاء المعزولة من الأرنب

د. وائل محمد عدنان الأغواني

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

كلية الصيدلة، جامعة الاتحاد الخاصة

عضو هيئة تدريسية متفرغ وعميد الكلية

Dr. Wael Alaghawani

Assistant prof

Faculty of pharmacy

Ittihad Private University

Dean of Faculty

Wael.alghawani@ipu.edu.sy

الملخص:

خلفية وهدف البحث: دراسة التأثير الحال للتشنج للخلاصة الإيتانولية لأوراق نبات المليسة في ألياف الأمعاء المعزولة من الأرنب.

الطرائق: حضرت خلاصة كحولية /مائية (30/70) من أوراق المليسة. وقد استقصى تأثيرها على التقلصات المحدثة بكل من: المنبه الكولينرجي الكارباكل Carbachole، وكلور البوتاسيوم KCL (35 ميلي). كما تمت المقارنة مع تأثير حاصر قنوات الكالسيوم النيفيديبين Nifedipine في التقلصات الطبيعية المحدثة بـ KCL.

النتائج: استطاعت الخلاصة السابقة تثبيط التقلصات المحدثة بكل من الكارباكل وكلور البوتاسيوم (35 ميلي مول) للأمعاء وبشكل واضح ومعتمد على الجرعة، وتشابهت في تأثيرها جزئياً على التقلصات المحدثة بكلور البوتاسيوم مع النيفيديبين.

الاستنتاجات: تتمتع خلاصة المليسة بتأثير جلي في حل التشنجات المعوية، يعتمد جزئياً على كبح دخول أيونات الكالسيوم من خارج إلى داخل السيتوبلاسما، وأيضاً عبر حجب بين المستقبلات المسكارينية M3. هذا التأثير بحاجة للمتابعة لكشف أدق لآلية التأثير.

الكلمات المفتاحية: أمعاء الأرنب، مضاد تشنج، المليسة، النيفيديبين، الكارباكول.

Study the Effects of Ethanolic Extract of *Melissa Officinalis L.* on Contraction of Isolated Ileum of Rabbit

Abstract

Background and Aim: to examine the spasmolytic activity of ethanolic extract of *Melissa officinalis L* in isolated ileum of rabbit.

Materials and Methods: Ethanolic/ water extract (30/ 70) of *Melissa* leaves was prepared. The effect of this extract was examined in vitro on ileum contractions induced by both Carbachol and KCL (35 Mm). The calcium channels blocker *Nifedipine* was used as references in KCL-induced contractions.

Results: the extract strongly inhibited both Carbachol and KCL-induced contractions in a concentration-dependent manner. These effects were partially similar to that of *Nifedipine*.

Conclusions: the extract has obvious relaxing effect on ileum contractions. This action largely relies partially on reducing calcium movements through cell membrane and also on blocking of M3 receptors. This profound effect needs more work to fully understand the mode of action.

Key Words: rabbit ileum, antispasmodic, *Melissa officinalis L*, *Nifedipine*, Carbachole.

مقدمة: Introduction

ينتمي نبات المليسة *Melissa officinalis* L. للفصيلة الشفوية Lamiaceae، وهو نبات عطري ينتشر كثيراً في دول حوض المتوسط وآسيا الوسطى ومعروف لأغلب السكان المحليين، ويستخدم كثيراً في الطب الشعبي. وبسبب احتوائه على العديد من الزمر الكيميائية (1) فقد شكل محوراً لكثير من الدراسات التي تحرت تأثيراته الدوائية المتنوعة والمستمرة حتى الآن (2-5). وبسبب انتشاره الواسع فقد اطلقت عليه تسميات أخرى مثل بلسم الليمون lemon balm وبلسم النحل honey balm وغير ذلك، لكن تبقى التسمية الأكثر رواجاً هي المليسة. وهو نبات عشبي يعيش على الأقل فترة ثلاث سنوات، يصل طوله حتى 100 سم ولا يقل عن 50 سم (6). وتكسوه أوبار زغبية وله رائحة الليمون ساقه منصبة تنفرع إلى حزم صلبة وأوراقه بيضوية الشكل ومسننة عموماً. أزهاره بيضوية صغيرة ذات لون أبيض مع نهايات بنفسجية، ويزهر النبات من الشهر الخامس حتى التاسع من كل عام، كما في الشكل رقم (1). وهو من أكثر الأعشاب نمواً خاصة عند أطراف الحقول.



الشكل 1: نبات المليسة

وتتميز المليسة بغناها بالمواد والزمر الفعالة ذات التأثيرات الفيزيولوجية المتعددة. وكشفت الدراسات عن امتلاك المليسة للفلافونويدات flavonoids والتيربينويدات terpenoids والحموض الفينولية

phenolic acids والتانينات tannins والزيت الأساسي essential oil (7). وتعد المكونات الفعالة للنبات هي المركبات الطيارة (مثل geranial, neral)، التربينات (مثل oleanolic acid)، المركبات الفينولية (caffeic acid وغيره)، الفلافونويدات (quercetin و rhamnocitrin). ويعتبر الزيت الأساسي Essential oil المسؤول الأساسي عن معظم الفعالية العلاجية للمليسة. ونبات المليسة من النباتات التي درست باستفاضة قديماً وحديثاً، وقد أظهرت فعاليات دوائية وعلاجية متعددة، سواء كان ذلك لخلاصتها أو للمواد المعزولة منها (8). وتعتبر الأوراق هي الجزء المستعمل والذي تحضر منه الخلاصات المتنوعة أو تستخلص منه المواد الفعالة (9، 10). فقد درست تأثيرها المهدئ والحال للقلق (11، 12) والمنظم للنوم (13، 14)، وعلى الوسائط الالتهابية المختلفة (15). ولها أيضاً تأثير على شحوم الدم (16). ودرست أيضاً فعاليتها كمضاد حيوي وفيروسي (17، 18).

الهدف من البحث: Aim of Study

دراسة تأثير الخلاصة الكحولية لنبات المليسة في تقلصات أمعاء الأرنب في الزجاج in vitro، وذلك للتقلصات المحرصة بالمنبهات الكولينرجية وأملاح البوتاسيوم.

مواد البحث وطرقه: Materials and Methods

جمع وتحضير النبات:

جمعت الأوراق خلال صيف عام 2024، ومن الأحواض الطبيعية التي يتواجد بها من في ريف دمشق. وجففت الأوراق بعد جمعها بالظلام، وبعد الجفاف التام سحقت الأوراق إلى مسحوق ناعم جرى الاحتفاظ به لحين تحضير الخلاصة.

تحضير الخلاصة (11):

تم استخلاص 100 غرام من مسحوق الأوراق بـ 1000 مل مذيب استخلاص يتكون من إيثانول وماء مقطر 30/70، وذلك حسب طريقة سوكسليه (extraction Soxhlet)، وجرى وضع المسحوق مع المذيب السابق في دورق استخلاص كتيم للضوء وترك السائل ليغلي بوجود مبرد صاعد بعد وضع حبابة سوكسليه التي تحوي العقار ويترك فترة لا تقل عن أربع ساعات اعتباراً من بدء الغليان. بعد مرور الفترة المذكورة تم تبخير الإيثانول بدرجة حرارة 60 مئوية وذلك في المبخر الدوار، ونقل ما تبقى من ماء حاوٍ للخلاصة إلى جهاز التجفيد، ليتم في النهاية الحصول على مسحوق الخلاصة الجاف.

حيوانات التجربة:

استخدمت أرانب ذكور بالغة أعمارها متقاربة ومن ذات الفصيلة، وتراوح أوزانها بين 2.5 - 3 كلغ. تركت هذه الحيوانات في شروط معيشية مناسبة وتناولت العلف الحيواني المتوازن غذائياً. بلغ عدد الأرانب الاجمالي المستخدمة 15 أرنب، وفي كل تجربة استخدم 12 مقطع من المستحضر المعوي القادم شرحه تنتمي لأرانب مختلفة، كما تم تكرار كل تجربة 3 مرات على الأقل.

تحضير مستحضر الأمعاء لإجراء التجارب:

تم منع الحيوانات من تناول الطعام قبل إجراء التجارب بفترة 24 ساعة مع حرية تناولها للماء. ثم تمت التضحية بها وفتح منطقة البطن وأخذ القطعة الأخيرة من نهاية الأمعاء الدقيقة (ilium) بطول 1-1.5 سم وعُلقت في محلول تايرود Tyrode ذي التركيب التالي المحسوب بالميلي مول (Mm):
NaCl 136.9, KCl 2.68, CaCl₂ 1.8, MgCl₂ 1.05, NaHCO₃ 11.9, NaH₂PO₄ 0.42, glucose 5.55 ،

وعُلقت هذه القطعة بين خطافين ووضعت في الحمام المائي الحاوي لمحلول تايرود ضبطت درجة الحرارة و PH المناسبين (37°م، pH=7.4)، وجرى ضخ الأكسجين إلى داخل الحمام بشكل مستمر عبر فتحة خاصة. جرى تسجيل قياس الحركة التقلصية وتغيراتها يتم على الراسمة الورقية. أخضعت المستحضرات المعوية بعد تعليقها في الحمام المائي إلى قوة شد سلبية Resting tension تعادل 0.5 غرام، واعتبرت الألياف مقبولة إذا أظهرت تقلصات تلقائية (spontaneous contraction) خلال فترة أقصاها 20 دقيقة من تعليقها.

الأدوات والمواد المستخدمة:

المواد الكيميائية والدوائية: استعملت المواد التالية: الكارباكلول Carbachole، وحاصر قنوات الكالسيوم: النيفيديبين Nifedipine، كلور البوتاسيوم KCL.

التجهيزات:

- الجهاز الأساسي للعمل هو جهاز الأعضاء والأنسجة المعزولة Physiograph.
- حمام مائي مرافق للجهاز.
- أدوات التشريح الدقيقة: ملاقط ومقصات دقيقة.

خطة الدراسة Protocol:

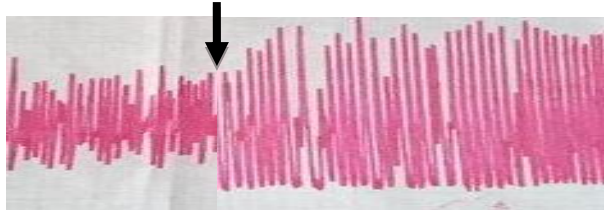
1. تأثير الخلاصة على التقلص الحاصل بالكاريكول:

بعد تعليق مستحضرات الأمعاء ضمن حجرة محلول تايرود (20 مل)، جرى الانتظار لمدة 30 دقيقة للتأكد من استقرار التقلصات التلقائية.

أضيف إلى مستحضرات الأمعاء مادة الكاريكول بعد حلها في محلول تايرود بمقدار 2 ميكرو مول ($2\mu M$)، الشكل 2، وحال وصول التقلص إلى عتبه العظمى الثابتة plateau، ابتدأت إضافة الخلاصة بشكل متدرج وتراكمي cumulatively (جرعة إثر جرعة) إلى الحجرة، ومن ثم ملاحظة التغيرات الحاصلة على هذه التقلصات. تمت إضافة الخلاصة بعد إذابة 500 ملغ من مسحوقها الجاف في 5 ملم حجم من محلول تايرود السابق، وأضيف من هذا المحلول إلى الحمام المائي بواسطة المحقن الآلي. أضيف لمجموعة الحلقات الشاهدة سائل تايرود فقط بنفس الطريقة وب نفس الأحجام المضافة للمستحضرات المعالجة بالخلاصة.

2. تأثير خلاصة العطرة على التقلص الحاصل بتركيز مرتفع من أيونات البوتاسيوم (KCl):

عرضت مستحضرات الأمعاء لتركيز من كلور البوتاسيوم 35 ميلي مول. إن هذا التركيز المرتفع من شوارد البوتاسيوم يؤدي إلى زوال استقطاب depolarization في غشاء العضلات الملساء في جدار الأمعاء ويسبب فتح قنوات الكالسيوم وتدفق هذا الأخير إلى الداخل وتحريضه لتقلص عضلي مديد. عند بلوغ التقلصات المعوية أقصاها، جرت الإضافة المتدرجة للخلاصة لمجموعة واحدة؛ أما الأخرى، أضيف إليها حاصر الكالسيوم النيفيديبين بطريقة متدرجة.



الشكل رقم (2): تأثير الكاريكول المحدث لتقلصات الأمعاء المعزولة

النتائج والدراسة الإحصائية: Results and Statistical Study

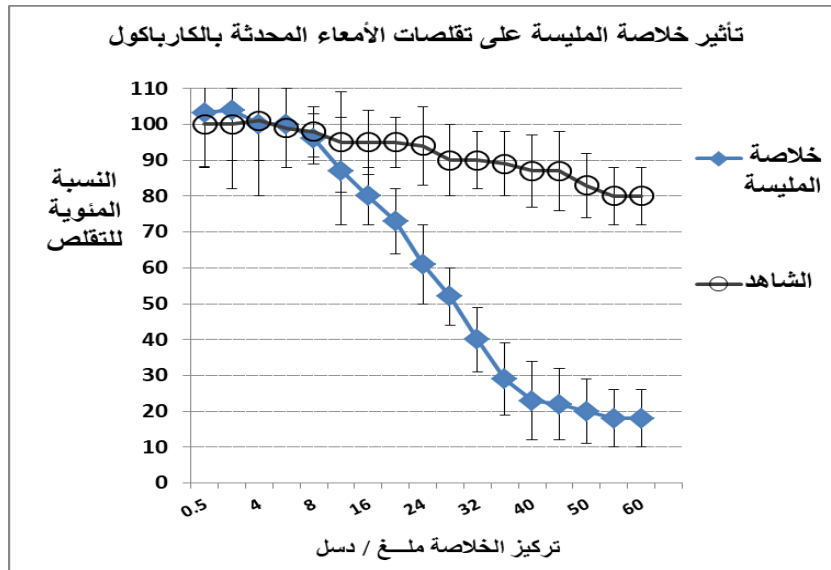
قدمت النتائج على شكل نسب مئوية للارتخاء المسبب بالخلاصة على الألياف المعوية سواء تلك التلقائية، المحرصة بالكاريكول وبالتركيز المرتفع من البوتاسيوم، أو بفعل النيفيديبين، وكان التعبير

Mean $\pm$ Standard error of الوسطي $\pm$ الخطأ المعياري للوسطي عنها على الشكل التالي: .mean

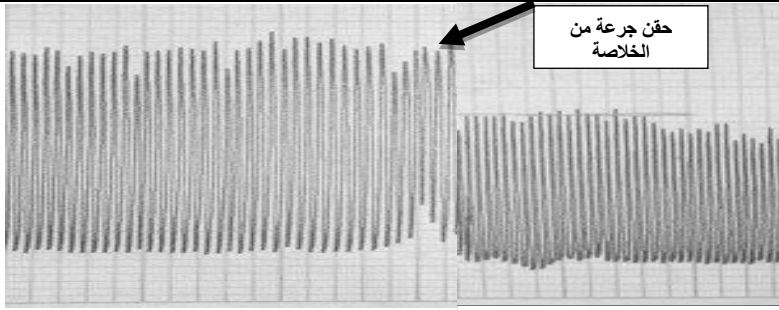
تم تطبيق اختبار ستيودنت (Student Test) للعينات صغيرة الحجم والمستقلة للمقارنة بين المجموعات المعالجة بالخلاصات النباتية والشاهدة. ويعتمد مستوى تقدير الأهمية الإحصائية P لتحديد وإقرار الفروقات المعتمد بها ما بين المجموعات المختلفة عند مستوى مساوٍ أو أقل من 5% (P $\leq$ 0.05).

التأثير على التقلص الحاصل بالكاريكول (Carbachol):

سببت الخلاصة نفسها ارتخاءً ملحوظاً ومعتمداً على الجرعة لتقلصات الأمعاء المحدثه بالكاريكول، الشكلان 3 و 4 .



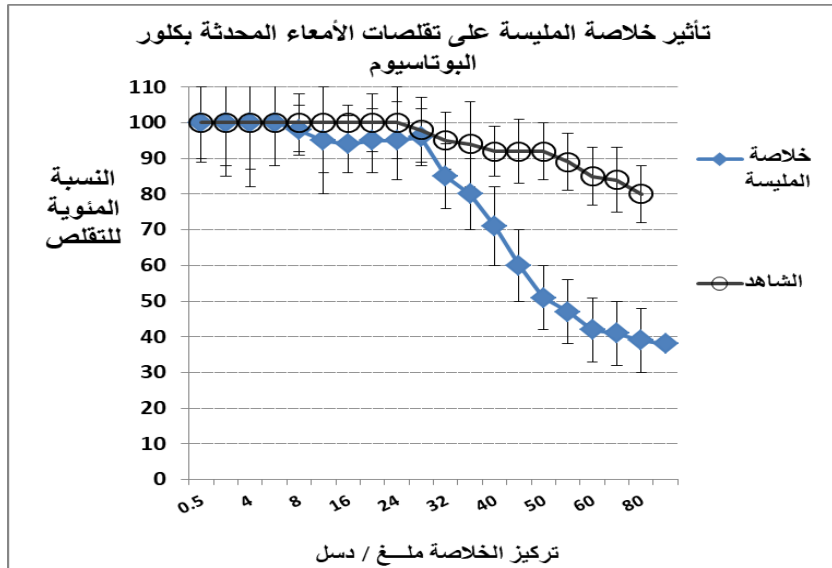
الشكل رقم (3): تأثير خلاصة المليسة على تقلصات الأمعاء المحدثه بالكاريكول



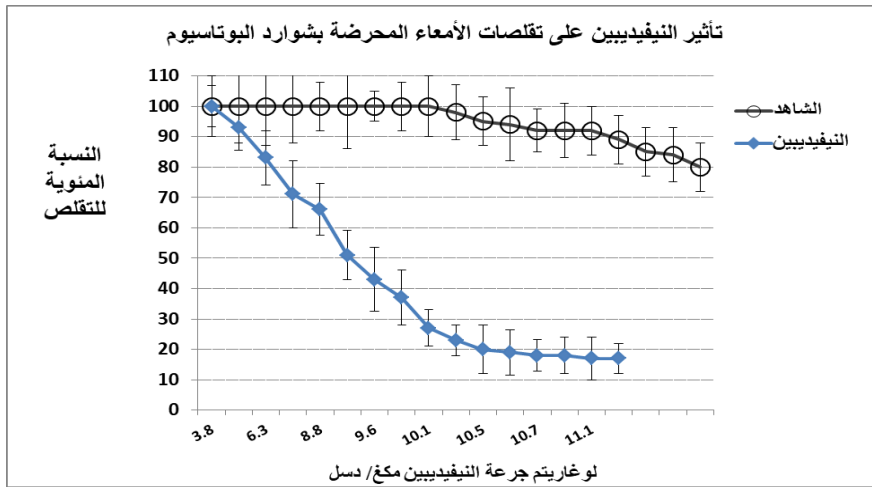
الشكل رقم (4): التسجيل الورقي للتأثير المرخي للمليسة لتقلصات الأمعاء المحدثه بالكاريباكول

تأثير الخلاصة على التقلص الحاصل بكلور البوتاسيوم KCL:

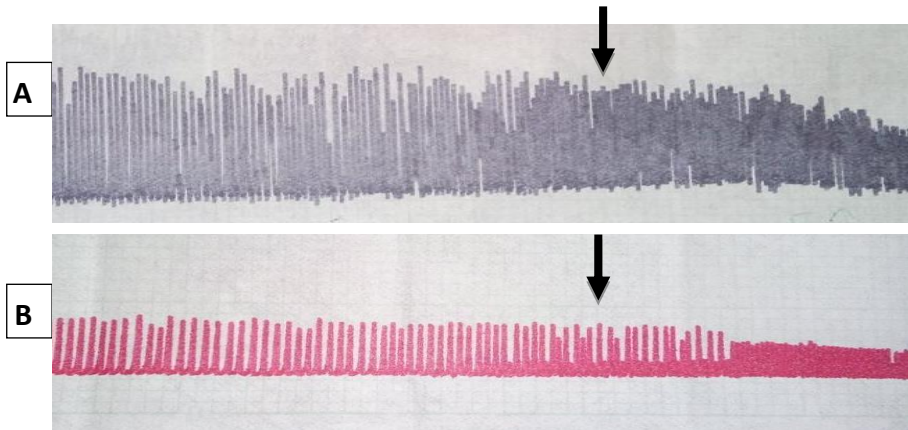
أحدثت الخلاصة ارتخاء واضحاً في تقلصات الألياف العضلية للأمعاء المحرصة بتركيز مرتفع من أيونات البوتاسيوم (35 ميلي مول). وكان ذلك الأثر الإرخائي أقوى من حالة التقلصات المحدثه بالكاريباكول، إذ انخفضت تقلصات الأمعاء بشكل ملحوظ، الشكلان 5 و 7. أما النيفيديبين استطاع أيضاً تثبيط التقلصات وبشكل كامل، الشكلان 6 و 7.



الشكل رقم (5): تأثير خلاصة المليسة على التقلص الحاصل بواسطة كلور البوتاسيوم



الشكل رقم (6): تأثير النيفيديبين على تقلصات الأمعاء المحرّضة بشوارد البوتاسيوم



الشكل رقم (7): تسجيل تأثير كل من خلاصة المليسة (A) والنيفيديبين (B) على تقلصات ألياف الأمعاء المحدثّة بـ KCL. الأسهم تشير إلى حقن الخلاصة أو النيفيديبين.

المناقشة: Discussion

أمطت خلاصة المليسة اللثام عن فعالية مرخية واضحة لها في الألياف المعوية المتقلصة بنوعين من المنبهات: الكولينرجية وشوارد البوتاسيوم.

يتم تنظيم التقلصات الذاتية spontaneous contraction للأمعاء عبر الحديثة الفيزيولوجية المتتابعة لزوال الاستقطاب depolarization وإعادة الاستقطاب repolarization، والتي تتعرض بدخول أيونات الكالسيوم Ca^{+2} إلى السيتوبلازما عبر قنواتها العشائية ومن مختزنتها داخل الخلية (19، 20)، يلي التقلص طور الارتخاء بزوال أيونات الكالسيوم من السيتوبلازما.

تحدث المنبهات الكولينرجية تقلصاً واضحاً لألياف العضلات الملساء المعوية. وهذا التأثير متوسط له من خلال المستقبلات المسكارينية M3 (21، 22)، وإثر ذلك تنتشط المراسيل الخلية الثانية inositol trisphosphate (IP_3) و diacylglycerol، وتحرر الكالسيوم من الحويصلات داخل الخلية (23). وحسب ما أظهرت النتائج، ثبتت الخلاصة تقلص الألياف الملساء الناتج عن تفعيل المستقبلات المسكارينية السابقة؛ وذلك يدل على فعالية مركبات الخلاصة في حجب المستقبلات، أو قدرة على لجم الإشارات الخلية اللاحقة. ويشير الباحثون في نفس المجال غالباً أنه حينما تبدي الخلاصة النباتية قدرة على حل تقلصات الألياف الملساء المعوية والمحرضة بالمنبهات الكولينرجية، فهذا مؤشر هام على خصائص حاجبة للمستقبلات المسكارينية (24، 25، 26).

واستكمالاً لتأكيد القدرة التثبيطية للخلاصة، جرى تحري تأثير الخلاصة على التقلص المحرض بتركيز مرتفع من أيونات البوتاسيوم (كلور البوتاسيوم KCL بتركيز 35 ميلي مول). وهي خطوة أساسية في التحري عن الأثر المرخي للخلاصة المفحوصة. إذ أن التقلص الناتج بعد تعريض الألياف لتركيز مرتفع من البوتاسيوم ينشأ من خلال دخول الكالسيوم عبر قنوات الكالسيوم الخارجية (27، 28). وحسبما أظهرت النتائج، أبدت الخلاصة قدرة إرخائية معتبرة، دون أن تتلاشى نهائياً تلك التقلصات. بينما لوحظ أن نفس التقلصات المحرضة كبحت تماماً مع حاصر قنوات الكالسيوم النيفيديبين. ودلالة ذلك حكماً قدرة جزئية لمكونات المليسة على كبح تيار أيونات الكالسيوم المتجه من خارج إلى داخل الخلية عبر قنواته الكالسيوم المعتمدة على الفولتاج، بطريقة مشابهة جزئياً لعمل حاصرات الكالسيوم، وتلك الخطوة وتفسيرها كثيراً ما يعتمد عليها الباحثون في تحري الأثر المرخي للخلاصات النباتية على الأمعاء المعزولة (29، 30).

ففي دراسة واسعة أجراها Muqet Wahid عام 2023 توصل إلى أن خلاصته المفحوصة لها القدرة الإرخائية عبر الفعل على قنوات الكالسيوم المعتمدة على الفولتاج، واعتبره الأساس في الفعل المضاد للتشنج وذلك بعد تحريض تقلصاتها بكلور البوتاسيوم (31).

الاستنتاجات: Recommendations والمقترحات Conclusions

أظهرت خلاصة المليسة قدرة بيئة في كبح التقلصات الحاصلة لكل من التنبيه الكولينرجي عبر حجب جزئي للمستقبلات المسكارينية، وعبر تأثير على قنوات الكالسيوم الغشائية للألياف العضلية الملساء والتي تتفعل حين تعريضها لزوال الاستقطاب بتركيز مرتفع من أيونات البوتاسيوم. وعليه فإن هناك ضرورة لمتابعة العمل على هذا النبات ودراسة تأثيره على أنماط أخرى من العضلات الملساء (خاصة القصيبية)، والتعمق أكثر في آلية تأثيره. كما يمكن الاستفادة من الدراسة الحالية والتوسع أكثر في دراسات لاحقة لبيان فائدة الإضافة إلى الخلطة العلفية للأرانب وتحديد نسبة تلك الإضافة.

المراجع: References

- 1- Stini E, Tsimogiannis D, Oreopoulou V. The Valorisation of *Melissa officinalis* Distillation By-Products for the Production of Polyphenol-Rich Formulations. *Molecules*. 2024 Jan 11;29(2):377.
- 2- Alsahafi T, Bouback T, Albeshri A, Alnhhas S, Ali M, Moatasim Y, Kutkat O, Gaballah M, Alfasi F, Mater EH, Al-Sarraj F, Badierah R, Alotibi IA, Almulaiky YQ. Antiviral potential of *Melissa officinalis* extracts against influenza and emerging coronaviruses. *Sci Rep*. 2025 Apr 9;15(1):12118.
- 3- Taherianrad F, Dehghan H, Abbasabadi N, Padash A, Tehrani HJ, Tat M, Dayani A, Salimi A. *Melissa officinalis* extract nanoemulsion, Caffeic acid and Quercetin as a novel inducer for investigating neural differentiation of human Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Tissue Cell*. 2025 Mar 7;95:102815.
- 4- Ehsani Z, Salehifar E, Habibi E, Alizadeh-Navaei R, Moosazadeh M, Tabrizi N, Zaboli E, Omrani-Nava V, Shekarriz R. Effect of *Melissa officinalis* on Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy in Cancer Patients: A Randomized Trial. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*. 2024 Apr 1;18(2):165-173.

- 5- Pasyar N, Aghababaei M, Rambod M, Zarshenas MM. The effectiveness of *Melissa officinalis* L. essential oil inhalation on anxiety and symptom burden of hemodialysis patients: a randomized trial study. BMC Complement Med Ther. 2025 Mar 13;25(1):103.
- 6- Mokhtarzadeh, S.; Demirci, B.; Goger, G.; Khawar, K.M.; Kirimer, N. Characterization of volatile components in *Melissa officinalis* L. under in vitro conditions. J. Essent. Oil Res. 2017, 29, 299–303.
- 7- Zarei, A.; Ashtiyani, S.C.; Taheri, S.; Rasekh, F. Comparison between effects of different doses of *Melissa officinalis* and atorvastatin on the activity of liver enzymes in hypercholesterolemia rats. Avicenna J. Phytomed. 2014, 4, 15–23.
- 8- Petrisor G, Motelica L, Craciun LN, Oprea OC, Fikai D, Fikai A. *Melissa officinalis*: Composition, Pharmacological Effects and Derived Release Systems-A Review. Int J Mol Sci. 2022 Mar 25;23(7):3591.
- 9- Fatemi F, Zamany M, Farahmand S, Dini S. Phytochemical and Toxicological Analyses of Herbal Mixtures Containing *Hypericum perforatum* and *Melissa officinalis*. Turk J Pharm Sci. 2024 Sep 2;21(4):340-347.
- 10- Kara M, Sahin S, Rabbani F, Oztas E, Hasbal-Celikok G, Kanımdan E, Kocyigit A, Kanwal A, Wade U, Yakunina A, Di Pierro F, Khan A. An *in vitro* analysis of an innovative standardized phospholipid carrier-based *Melissa officinalis* L. extract as a potential neuromodulator for emotional distress and related conditions. Front Mol Biosci. 2024 Mar 13;11:1359177.
- 11- Mathews IM, Eastwood J, Lamport DJ, Cozannet RL, Fanca-Berthon P, Williams CM. Clinical Efficacy and Tolerability of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) in Psychological Well-Being: A Review. Nutrients. 2024 Oct 18;16(20):3545.
- 12- Kim JG, Park J, Baek S, Won S, Cho J. Effects of *Melissa officinalis* Extracts on Obesity and Anxiety. Clin Nutr Res. 2025 Jan 31;14(1):65-77.

- 13-** Ghasemzadeh Rahbardar M, Hosseinzadeh H. Therapeutic potential of hypnotic herbal medicines: A comprehensive review. *Phytother Res.* 2024 Jun;38(6):3037-3059.
- 14-** Di Pierro F, Sisti D, Rocchi M, Belli A, Bertuccioli A, Cazzaniga M, Palazzi CM, Tanda ML, Zerbinati N. Effects of *Melissa officinalis* Phytosome on Sleep Quality: Results of a Prospective, Double-Blind, Placebo-Controlled, and Cross-Over Study. *Nutrients.* 2024 Dec 4;16(23):4199.
- 15-** Choi JW, Choi SY, Yoo G, Park HY, Choi IW, Hur J. *Melissa officinalis* Regulates Lipopolysaccharide-Induced BV2 Microglial Activation via MAPK and Nrf2 Signaling. *J Microbiol Biotechnol.* 2024 Dec 28;34(12):2474-2483.
- 16-** Shahsavari K, Shams Ardekani MR, Khanavi M, Jamialahmadi T, Iranshahi M, Hasanpour M. Effects of *Melissa officinalis* (lemon balm) consumption on serum lipid profile: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Complement Med Ther.* 2024 Apr 4;24(1):146.
- 17-** Behzadi A, Imani S, Deravi N, Mohammad Taheri Z, Mohammadian F, Moraveji Z, Shavysi S, Mostafaloo M, Soleimani Hadidi F, Nanbakhsh S, Olangian-Tehrani S, Marabi MH, Behshood P, Poudineh M, Kheirandish A, Keylani K, Behfarnia P. Antiviral Potential of *Melissa officinalis* L.: A Literature Review. *Nutr Metab Insights.* 2023 Jan 12;16:11786388221146683.
- 18-** Carvalho F, Coimbra AT, Silva L, Duarte AP, Ferreira S. *Melissa officinalis* essential oil as an antimicrobial agent against *Listeria monocytogenes* in watermelon juice. *Food Microbiol.* 2023 Feb;109:104105.
- 19-** Gallego-Barceló P, Benítez-Álvarez D, Bagues A, Silván-Ros B, Montalbán-Rodríguez A, López-Gómez L, Vera G, Del Castillo MD, Uranga JA, Abalo R. Ex Vivo Study of Colon Health, Contractility and Innervation in Male and Female Rats after Regular Exposure to Instant Cascara Beverage. *Foods.* 2024 Aug 6;13(16):2474.
- 20-** López-Tofiño Y, de Sosa F, Vera G, López-Gómez L, Herradón E, López-Miranda V, Nurgali K, Uranga JA, Abalo R. Effects of vincristine and

monosodium glutamate on gastrointestinal motility and visceral sensitivity. *Neurogastroenterol Motil.* 2024 Jan;36(1):e14704.

21- Igarashi-Hisayoshi Y, Ihara E, Bai X, Tanaka Y, Ogino H, Chinen T, Taguchi Y, Ogawa Y. Protective role of M3 muscarinic acetylcholine receptor in indomethacin-induced small intestinal injury. *J Mol Med (Berl).* 2024 Sep;102(9):1175-1186.

22- Layunta E, Forcén R, Grasa L. TLR2 and TLR4 Modulate Mouse Ileal Motility by the Interaction with Muscarinic and Nicotinic Receptors. *Cells.* 2022 May 30;11(11):1791.

23- RANG H.P, 2023. Rang & Dale's Pharmacology, 10th Edition, Elsevier, New york.

24- Hussain Shah SA, Aleem A. Investigations of plausible pharmacodynamics supporting the antispasmodic, bronchodilator, and antidiarrheal activities of *Berberis lycium* Royle. Via in silico, in vitro, and in vivo studies. *J Ethnopharmacol.* 2023 Apr 6;305:116115.

25- Aleem A, Janbaz KH. Dual mechanisms of anti-muscarinic and Ca^{++} antagonistic activities to validate the folkloric uses of *Cyperus niveus* Retz. as antispasmodic and antidiarrheal. *J Ethnopharmacol.* 2018 Mar 1;213:138-148.

26- Amrani O, Karim A, Marghich M, Beyi L, Bouknana S, Aziz M. Antispasmodic and antidiarrheal effects of *Juniperus oxycedrus* L. on the jejunum in rodents. *J Smooth Muscle Res.* 2024;60:10-22.

27- Duangjai A, Rawangkan A, Yosboonruang A, Ontawong A, Saokaew S, Goh BH, Sukanuma M, Phisalprapa P. Antispasmodic Activity of Light-Roasted Coffee Extract and Its Potential Use in Gastrointestinal Motility Disorders. *Foods.* 2024 Jul 23;13(15):2307.

28- Wahid M, Saqib F, Akhtar S, Ali A, Wilairatana P, Mubarak MS. Possible Mechanisms Underlying the Antispasmodic, Bronchodilator, and Antidiarrheal Activities of Polarity-Based Extracts of *Cucumis sativus* L. Seeds in In Silico, In Vitro, and In Vivo Studies. *Pharmaceuticals (Basel).* 2022 May 23;15(5):641.

- 29-** Duangjai A, Parseatsook K, Sajjapong W, Saokaew S. Assessment of *Polygonum odoratum* Lour. Leaf Extract on Rat's Ileum Contraction and the Mechanisms Involved. J Med Food. 2020 Nov;23(11):1169-1175.
- 30-** Cerantola S, Faggin S, Annaloro G, Mainente F, Filippini R, Savarino EV, Piovan A, Zoccatelli G, Giron MC. Influence of *Tilia tomentosa* Moench Extract on Mouse Small Intestine Neuromuscular Contractility. Nutrients. 2021 Oct 4;13(10):3505.
- 31-** Wahid M, Saqib F, Akhtar S, Ali A, Tallei TE, Simal-Gandara J. Mechanistic insights of Cucumis melo L. seeds for gastrointestinal muscle spasms through calcium signaling pathway-related gene regulation networks in WGCNA and in vitro, in vivo studies. Comput Biol Med. 2023 Mar;155:106596.

