

In vitro effect of juniper fruit extract on dissolution of urinary stones

Ayub Barzgarnejad¹,
Mohammad Azadbakht²,
Omid Emadian³,
Mahdieh Fattahi⁴

¹ Department of Surgery, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran

² Traditional and Complementary Medicine Research Center, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran

³ Department of Pathology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran

⁴ Medical student, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran

(Received 22 February, 2010 ; Accepted 21 April, 2010)

Abstract

Background and purpose: Urolithiasis is one of the most common diseases of urinary tract. Abdominal colicky pain, nausea, vomiting and hematuria are the major clinical findings. Treatments including oral drugs, lithotripsy, using ureteroscope and open surgery are expensive and may result in significant complications. The aim of this research was to find medications for dissolution of urinary stones with less complication.

Materials and methods: Variable concentrations of juniper fruit extract including 200, 500 and 1000 µg / ml solutions were used in vitro on urinary stones. Neutral (normal saline), positive (sodium bicarbonate) and negative (acetic acid) control groups were also prepared.

Results: Significant findings were obtained on urinary stones composed of calcium oxalate (60%), calcium phosphate (30%) and ammonium phosphate (10%). The weight of dry powder of stones in normal saline of 1400 mg decreased to 1310 , 1240 and 1120 mg after exposure to increasing concentrations of juniper fruit extract. Also the ratio of calcium oxalate in normal saline aqueous solution plus stone increased from 65% to 85% after using juniper fruit extract.

Conclusion: Juniper fruit extract can dissolve urinary stones in vitro.

Key words: *Juniperus communis*, urinary stone, calcium oxalate

J Mazand Univ Med Sci 2010; 20(75): 31-36 (Persian).

بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی میوه گیاه سرو کوهی (*Juniperus communis*) بر انحلال سنگ های ادراری به صورت In vitro

ایوب برزگر نژاد^۱محمد آزادبخت^۲امید عمادیان^۳مهدیه فتاحی^۴

چکیده

سابقه و هدف : سنگ ادراری از شایعترین بیماریهای دستگاه ادراری می باشد که شیوع حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد دارد. با توجه به عوارض جدی و درمان های پیچیده و همراه با عوارض و هزینه های سنگین روش های معمول درمان سنگ های ادراری، این مطالعه با هدف تعیین تاثیر عصاره هیدرو الکلی میوه گیاه سرو کوهی بر انحلال سنگ های ادراری در شرایط in vitro انجام شد.

مواد و روش ها : در این مطالعه عصاره میوه گیاه سرو کوهی (*Juniperus communis*) با غلظت های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۰۰ $\mu\text{g/ml}$ به صورت In vitro با سنگ های ادراری خارج شده از بدن بیماران که بیشترین مقدار ترکیب آنها به ترتیب کلسیم اگزالات و منیزیم آمونیوم فسفات بود، مواجه شد و اثر آن بر انحلال سنگ ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله به روش ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها : در سنگ نوع A (به ترتیب حاوی کلسیم اگزالات ۶۰ درصد، کلسیم فسفات ۳۰ درصد، منیزیم آمونیوم فسفات ۱۰ درصد) وزن خشک پودر سنگ در گروه ۱ (در مواجهه با نرمال سالین) ۱۴۰۰ mg و در گروه های ۴ و ۵ (در مواجهه با غلظت های مختلف عصاره) به ترتیب ۱۳۱۰ و ۱۲۴۰ و ۱۱۲۰ میلی گرم شده بود. که این کاهش وزن از لحاظ آماری معنی دار بود. از طرفی نسبت کلسیم اگزالات در مواجهه با نرمال سالین در محیط آبی ۶۵ درصد بود در حالی که پس از مواجهه با عصاره ۱۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ میزان آن به ۸۵ درصد رسیده بود. عصاره مذکور توانسته بود ۲۰ درصد بیشتر کلسیم اگزالات سنگ را حل نماید. **استنتاج :** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره هیدرو الکلی میوه گیاه سرو کوهی باعث حل شدن سنگ کلیه در محیط آزمایشگاهی می شود.

واژه های کلیدی : سرو کوهی، سنگ ادراری، کلسیم اگزالات

مقدمه

سنگ های ادراری، تجمع کریستالی شامل کریستالوئید و ماتریکس آلی هستند. ادرار فوق اشباع زمینه ساز یونی، غلظت محلول ها و ترکیب شدن مواد بستگی دارد. تشکیل سنگ است. این حالت به PH ادراری، قدرت

این تحقیق طی شماره ۵۰-۸۸ در شورای پژوهشی دانشگاه ثبت شده و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است.

E-mail: ayubbarzgarnejad@gmail.com

مؤلف مسئول: ایوب برزگر نژاد - ساری: بلوار امیر مازندرانی، مرکز آموزشی درمانی امام خمینی (ره)

۱. گروه جراحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۲. مرکز تحقیقات طب سنتی و مکمل، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۳. گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۴. دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۹/۱/۱۰ تاریخ تصویب: ۸۹/۲/۱

۸۰ تا ۸۵ درصد سنگ‌های ادراری، کلسیمی هستند که به علت افزایش کلسیم، اسید اوریک، اگزالات ادرار یا کاهش سیترات ایجاد می‌شوند. کلسیم در PH پائین رسوب می‌کند. سنگ اسید اوریکی در PH خیلی پائین و منیزیم آمونیوم فسفات در PH قلیائی تشکیل می‌شوند. ایجاد دیورز و تغییر PH ادرار در انحلال و درمان سنگ‌های ادراری مؤثر است (۱،۲).

سنگ‌های ادراری سومین بیماری شایع دستگاه ادراری بعد از عفونت ادراری و حالات پاتولوژیک پروستات هستند (۱). شیوع سنگ کلیه در ایالات متحده آمریکا ۱۰ تا ۱۵ درصد گزارش شده است (۳). شیوع آن بسته به جنس، سن، نژاد و جغرافیا متفاوت است (۴). ۸۰ تا ۸۵ درصد سنگ‌ها، کلسیمی (مربک از کلسیم اگزالات و کلسیم فسفات) هستند. سنگ‌های غیر کلسیمی (اسیداوریکی، استرات، سیستین، گزانتین، ایندیناویر) بقیه انواع را تشکیل می‌دهند (۱). در PH اسیدی یا خنثی، اگزالات کلسیم رسوب می‌کند و فسفات کلسیم در PH طبیعی ادرار یعنی ۵/۵ تا ۶ تشکیل سنگ می‌دهد. اسید اوریک که حلالیت بالایی ندارد در PH کم (۳/۵) حالت کریستالی پیدا می‌کند و تشکیل سنگ می‌دهد. منیزیم آمونیوم فسفات، در PH قلیایی، تشکیل سنگ می‌دهد (۵،۲). تشکیل کریستال‌ها به وسیله مواد مختلفی در ادرار تغییر می‌کنند که شامل منیزیم، سیترات پیرو فسفات و فلزات مختلف با مقادیر کم می‌باشند (۸-۵).

تظاهر سنگ‌های ادراری با دردهای کولیکی، تهوع، استفراغ و هماچوری است. سنگ‌ها ممکن است باعث انسداد شدید در مجاری ادراری و عوارضی مثل هیدرونفروز شدید، آسیب بافت کلیه و تخریب آن شوند (۱). بعد از تشکیل اولین سنگ، احتمال عود سنگ بسیار زیاد است طوری که خطر آن در ۵ تا ۱۰ سال بعد از سنگ اول، بیش از ۵۰ درصد می‌باشد (۹،۴).

درمان سنگ‌های ادراری شامل درمان‌های حمایتی (۱۰)، داروهای خوراکی، استفاده از روش‌های

خارج از بدن به کمک امواج، خارج کردن سنگ به وسیله یورتروسکوپ، خارج کردن سنگ از راه پوست، لاپاراسکوپی و جراحی باز است (۱۱،۱).

با توجه به خطر عود سنگ‌های ادراری و عوارض جانبی و هزینه‌های سنگین درمان آن باید توجه ویژه‌ای به استفاده از داروهای گیاهی به منظور پیشگیری از تشکیل سنگ و یا تجزیه آن شود. داروهای گیاهی ارزان و در دسترس هستند و عوارض جانبی کمی دارند (۱۲،۱۳). اثرات درمانی نمونه‌های گیاهی متعددی از جمله *Bergenia ligulata* (۱۴)، *Phyllanthus niruri* (۱۵)، ^۱*Hirsuta* (۱۶)، *Green tea* (۱۷) در درمان مشکلات کلیه و مجاری ادراری گزارش شده است.

در منطقه‌ای از بخش هزارجریب نکا، براساس اعتقاد سنتی، از جوشانده گیاه سرو کوهی با نام محلی لمیر در درمان سنگ ادراری استفاده می‌شد و حتی در مراجعات بیماران به مراکز درمانی از اعتقاد راسخ به اثر بخشی گیاه فوق، مشاهده می‌شد.

میوه گیاه سرو کوهی محتوی رزین، لیگنان و اسانس است که مواد اصلی اسانس آن پینن و برنثول می‌باشد، همچنین در میوه، یک گلوکوزید فلاون و یک عنصر تلخ به نام ژونی پرین وجود دارد (۱۸،۱۹). این گیاه اثر ضد عفونی‌کننده سیستم ادراری تناسلی و نیز دیورتیکی دارد (۲۰).

میوه آن در جوشانده‌های اورولوژیک استفاده می‌شود و شدیداً مدر است. تنظیم دفع ادرار و کنترل سوزش ادرار و خواب آوربودن از فوائد این گیاه است (۱۳).

با توجه به موارد گفته شده، در این مطالعه اثر عصاره هیدرو الکلی میوه گیاه سرو کوهی با نام محلی لمیر (*Juniperus communis*) بر انحلال انواع سنگ‌های ادراری به صورت آزمایشگاهی و خارج از بدن موجود زنده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

انواع مختلف سنگ‌های ادراری طی عمل جراحی خارج شد و سپس نوع سنگ شناسایی شده و مورد آزمایش قرار گرفت.

گیاه سرو کوهی درختچه‌ای از خانواده Cupressaceae با نام علمی *Juniperus communis* است که در ارتفاعات ۱۲۰۰ متری مناطق کوهستانی مازندران می‌روید. میوه این گیاه بعد از رسیدن تهیه و مورد استفاده قرار گرفت (۱۸).

انواع مختلف سنگ‌های ادراری طی عمل جراحی خارج شده پس از شناسایی نوع سنگ، به طور جداگانه پودر گردید. وزن کاملاً معینی از پودر هر سنگ ادراری (۱۵۰۰ میلی گرم) در گروه‌های مختلف در لوله آزمایش ریخته شده و سپس طبق گروه‌های آزمایش ذیل و با غلظت‌های متفاوت عصاره میوه فوق طبق مصرف سنتی گیاه مواجه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۵ روز در دمای ۳۷ درجه نگهداری شده و پس از اندازه‌گیری PH و وزن خشک پودر سنگ، با استفاده از کیت‌های مخصوص آنالیز سنگ‌های ادراری (Manual colorimetric method)، نسبت عناصر مایع رویی آن اندازه‌گیری شد. گروه‌های آزمایش عبارت بودند از:

۱. کنترل خنثی: نرمال سالین + سنگ ادراری
۲. کنترل مثبت: نرمال سالین + سنگ ادراری + جوش شیرین (بی کربنات سدیم) $PH=9/5$
۳. کنترل منفی: نرمال سالین + سنگ ادراری + اسید استیک ($PH=4/5$)
۴. نرمال سالین + سنگ + عصاره گیاه به غلظت $200 \mu g/ml$
۵. نرمال سالین + سنگ + عصاره گیاه با غلظت $500 \mu g/ml$
۶. نرمال سالین + سنگ + عصاره گیاه با غلظت $1000 \mu g/ml$

برای عصاره‌گیری، عصاره میوه گیاه سرو کوهی به روش خیساندن در محلول هیدروالکلی ۵۰ درجه (اتانول-آب) تهیه شد. ۱۰۰ گرم میوه لمبیر به اندازه ذره‌ای با قطر ۵/۲ میلی متر پودر شده و با ۲۰۰ سی سی

محلول هیدروالکلی ۵۰ درجه (اتانول-آب به نسبت ۱:۱) به مدت ۵ روز روی دستگاه shaker خیسانده و سپس صاف شد. حاصل صافی توسط دستگاه تقطیر و سپس آون، خشک گردید. درصد وزن عصاره خشک حاصل محاسبه و در گروه‌های مختلف با غلظت‌های متفاوت نرمال سالین حل شد (۲۰).

برای تجزیه و تحلیل آماری از سیستم نرم‌افزاری SPSS و آزمون آماری ANOVA و برای مقایسه دو به دو یافته‌ها از Tukey test استفاده شد. مقدار p کمتر از ۵ درصد معنی‌دار تلقی شد. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در مقایسه‌ی گروه‌ها مشاهده گردیده است. (سنگ A: $F=260.8 [2,15]$ و سنگ B: $F=420.0 [2,15]$ و $p<0.001$).

یافته ها

ترکیب سنگ A، ۶۰ درصد کلسیم اگزالات، ۳۰ درصد کلسیم فسفات و ۱۰ درصد کلسیم آمونیوم فسفات و ترکیب سنگ B به ترتیب، ۴۰ درصد، ۱۰ درصد و ۵۰ درصد بود. نتایج حاصل از مجاورت ۱۵۰۰ میلی گرم از ۲ نوع سنگ با عصاره میوه گیاه سرو کوهی با غلظت‌های ۲۰۰ (گروه ۴)، ۵۰۰ (گروه ۵) و ۱۰۰۰ (گروه ۶) میکروگرم در میلی لیتر نشان داد که غلظت یون کلسیم اگزالات در سنگ A به ترتیب در گروه‌ها ۴ و ۵ و ۶، عبارت از ۷۰ درصد، ۷۵ درصد و ۸۵ درصد و در سنگ B به ترتیب ۷۵ درصد، ۷۰ درصد و ۷۰ درصد بوده است. از نظر وزن باقیمانده سنگ در محلول‌های فوق، در سنگ A به ترتیب در گروه‌های ۴ و ۵ و ۶، به میزان ۱۳۱۰، ۱۲۴۰ و ۱۱۲۰ میلی گرم و در سنگ B به ترتیب فوق ۱۲۶۰، ۱۲۴۰ و ۱۱۸۰ میلی گرم بوده است. نتایج کامل مربوط به اثر عصاره میوه گیاه سرو کوهی بر انحلال سنگ‌های ادراری در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول شماره ۱: نتایج مربوط به اثر عصاره میوه گیاه سرو کوهی بر انحلال سنگ A و B

مقادیر اولیه و گروه آزمایشی	کلسیم اگزالات		کلسیم فسفات		منیزیم آمونیوم فسفات		PH		وزن سنگ	
	سنگ A (درصد)	سنگ B (درصد)	سنگ A (درصد)	سنگ B (درصد)	سنگ A (درصد)	سنگ B (درصد)	سنگ A	سنگ B	سنگ A (میلی گرم)	سنگ B (میلی گرم)
مقادیر اولیه	۶۰	۴۰	۳۰	۱۰	۱۰	۵۰	-	-	۱۵۰۰	۱۵۰۰
گروه ۱	۶۵	۸۰	۲۵	۱۰	۱۰	۱۰	۶/۰۹	۸/۰۱	۱۴۰۰	۱۳۰۰
گروه ۲	۷۰	۷۵	۲۰	۲۰	۱۰	۵	۹/۷۲	۹/۵۴	۱۴۶۰	۱۳۶۰
گروه ۳	۷۵	۷۰	۲۰	۲۰	۱۰	۱۰	۵/۱۴	۵/۹۲	۱۳۱۰	۱۱۳۰
گروه ۴	۷۰	۷۵	۲۰	۲۰	۱۰	۵	۶/۵۸	۸/۲۱	۱۳۱۰	۱۲۶۰
گروه ۵	۸۰	۷۰	۱۵	۲۵	۵	۵	۶/۲۶	۸/۰۸	۱۲۴۰	۱۱۸۰
گروه ۶	۸۵	۷۰	۱۰	۲۵	۵	۵	۶/۵۷	۸/۵۶	۱۱۲۰	۱۱۸۰

۱. کنترل خنثی: نرمال سالیین + سنگ ادراری

۲. کنترل مثبت: نرمال سالیین + سنگ ادراری + جوش شیرین (بی کربنات سدیم) $\text{PH}=9/5$ ۳. کنترل منفی: نرمال سالیین + سنگ ادراری + اسید استیک ($\text{PH}=4/5$)۴. نرمال سالیین + سنگ + عصاره گیاه به غلظت $200 \mu\text{g/ml}$ ۵. نرمال سالیین + سنگ + عصاره گیاه به غلظت $500 \mu\text{g/ml}$ ۶. نرمال سالیین + سنگ + عصاره گیاه به غلظت $1000 \mu\text{g/ml}$

در *in vitro* مشاهده شد که PH ادراری افزایش یافت و تشکیل کریستال کلسیم اگزالات بعد از اضافه کردن لیمو به ادرار مصنوعی مهار شد (۵).

تاثير PH بر انحلال ترکیبات در مطالعات بسیاری، بررسی شده است (۲، ۷). در این مطالعه با بررسی نتایج مشاهده می شود که با افزودن قلیا به محیط (گروه ۲) وزن خشک پودر سنگ در هر دو نوع سنگ نسبت به کنترل خنثی (سنگ در مواجهه با نرمال سالیین) افزایش می یابد، بالعکس با افزودن اسید به محیط (گروه ۳) وزن خشک کاهش یافته است. می توان گفت که تاثير PH بر انحلال ترکیبات، در سنگ های خارج شده از بدن انسان ها که مجموعه ای از نسبت های مختلف ترکیبات با آنیون ها و کاتیون های متفاوت، متغیر است. باید در نظر داشت که در واقع سنگ های کلیوی به طور خالص از یک نوع ترکیب مثل کلسیم اگزالات تشکیل نشده اند و به همین ترتیب تاثير PH نیز بر سنگ های کلیه که در بدن انسان تشکیل می شوند، متفاوت است.

در سنگ نوع A (که کلسیم اگزالات نسبت به سایر ترکیبات غالب بوده است) در گروه ۱ وزن خشک mg ۱۴۰۰ و در گروه ۴ و ۵ و ۶ به ترتیب mg ۱۳۱۰ و ۱۲۴۰ و ۱۱۲۰ بوده است که به طور معنی داری وزن پودر در

در جدول میزان درصد هر یک از مواد (کلسیم اگزالات، فسفات و منیزیم آمونیوم فسفات) و PH در قسمت محلول لوله آزمایش و نیز وزن پودر سنگ بعد از خشک کردن آمده است.

بحث

باتوجه به اثرگذاری یون ها در تشکیل و یا ممانعت از تشکیل سنگ در سیستم ادراری و با این انتظار که عصاره هیدروالکلی میوه گیاه سروکوهی با ایجاد محیطی مناسب، باعث حل شدن سنگ ادراری گردد، مطالعه ای حاضر انجام شد. در مطالعه ای انحلال هیدرات های کلسیم اگزالات را در محلول کلرید سدیم و نیز محلول شبه ادراری شامل سیترات، منیزیم، کراتینین و اوره مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه نشان داد که سیترات و منیزیم قابلیت انحلال را افزایش می دهند اوره و کراتینین اثر کمی دارند. همچنین ثابت شد قدرت انحلال کلسیم اگزالات مونو هیدرات در PH پائین، کاهش و در PH بالاتر، افزایش می یابد (۲۱). در مطالعه ای دیگر که تاثير آب لیمو بر تشکیل سنگ ادراری به صورت *in vivo* و *in vitro* بررسی شد، با مصرف لیمو PH ادرار و نیز دفع نیترات و کلسیم اگزالات افزایش یافت. در بررسی

نسبت کلسیم اگزالات و نیز افزایش نسبت کلسیم فسفات نشان می‌دهد که در این نوع سنگ عصاره بیشتر بر انحلال کلسیم فسفات مؤثر بوده است. در هر دو نوع سنگ کاهش وزن همزمان با تغییر غلظت در قسمت محلول بوده که تغییر آنها از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد.

تغییر PH، قبل و بعد از اضافه نمودن عصاره در هر دو نوع سنگ معنی‌دار و قابل توجه نبوده است. در نتیجه تغییر PH محیط (مواجهه با عصاره) در حل کردن سنگ و کاهش وزن قسمت نامحلول نقشی نداشته است. می‌توان گفت که انحلال سنگ به دلیل ترکیبات گیاه و اثر آن بر نسبت‌های مختلف آنیون‌ها و کاتیون‌های سنگ‌ها بوده است. نوع این ترکیبات مؤثر بر انحلال سنگ و نحوه تاثیر آنها مشخص نیست. علاوه بر آن چگونگی تاثیر گیاه بر انحلال سنگ در بدن موجود زنده شناخته شده نمی‌باشد

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران جهت تصویب طرح تحقیقاتی حاضر و اختصاص بودجه و سرکار خانم مهدیه فتاحی دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران که تلاش فراوانی در اجرای طرح به عنوان پایان‌نامه دانشجویی داشته‌اند، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایم.

References

1. Stoller M.L. Smith's General Urology. Chapter 16, Emil A. 6th edition, Tanagho: Lange Medical Books/McGraw-Hill 2004. P 256.
2. Wein AL, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. Textbook urology campbell-walsh(II). 9th edition, SAUNDERS; 2002. P 1363.
3. Brenner BM, Rectors. Textbook, the kidney (III). 6th edition, 2000. P 1774-1775.
4. Oussama A, Touhami M, Barkim M. In vitro and in vivo study of lemon juice on urinary lithogenesis. Arch Urol 2005; 58: 1087-1092.
5. Hogard I, Fornander AM, Nilsson MA, Tiselius HG. The effect of PH changes on the crystallization of calcium salts in solutions with an ion composition corresponding to that in the distal tubule. Urol Res 1999; 27: 409.

سنگ مواجهه با عصاره و نیز با افزایش غلظت عصاره در گروه‌های آزمایش، کاهش یافته است. در قسمت محلول لوله میزان کلسیم اگزالات در مواجهه سنگ با نرمال سالین ۶۵ درصد بوده که بعد از مواجهه با عصاره با غلظت‌های $200 \mu\text{g/ml}$ و 500 و 1000 به ترتیب به ۷۰ درصد و ۸۰ درصد و ۸۵ درصد رسیده است. کلسیم فسفات در مواجهه سنگ با نرمال سالین ۲۵ درصد و بعد از مواجهه با عصاره به ۲۰ و ۱۵ و ۱۰ درصد رسیده است. و نیز میزان منیزیم آمونیوم فسفات بعد از مواجهه با عصاره، کاهش یافته است. با مقایسه نتایج می‌توان گفت که عصاره گیاه باعث انحلال سنگ و کاهش وزن قسمت نامحلول لوله شده و از طرف دیگر در قسمت محلول موجب افزایش میزان کلسیم اگزالات نسبت به سایر ترکیبات شده است. پس در این نوع سنگ عصاره بیشتر باعث انحلال کلسیم اگزالات شده است.

در گروه‌های حاوی سنگ B (که نسبت منیزیم آمونیوم فسفات به سایر ترکیبات غالب بوده است) وزن خشک در لوله‌های حاوی عصاره (1260 mg و 1180 و 1180) نسبت به لوله مواجهه با نرمال سالین (1300) کاهش یافته است. میزان کلسیم اگزالات در گروه ۱، ۸۰ درصد و در گروه‌های ۴ و ۵ و ۶ به ترتیب ۷۵ درصد و ۷۰ درصد و ۷۰ درصد می‌باشد. اما میزان کلسیم فسفات از ۱۰ درصد در گروه ۱ به ۲۰ درصد و ۲۵ درصد و ۲۵ درصد در گروه‌های ۴ و ۵ و ۶ افزایش یافته است. کاهش

6. Kulaksizoglu S, Sofikerim M, Cevik C. In vitro effect of lemon and orange juices on calcium oxalate cristalization. *Urol Nephrol* 2008; 40: 589-594.
7. Guerra A, Meschi T, Allergi F, Prati B, Nouvenne A, Fiaccadori E, et al. Concentrated urine and diluted urine: the effect of citrate and megnesium on the crystalization of calsium oxalate induced in vitro by an oxalate load. *Urol Res* 2006; 34: 359-334.
8. Kulaksizoglu S, Sofikerim M, Cevik C. Impact of various modifiers on calsium oxalate crystallization. *International Journal of Urology* 2007; 14: 214-218.
9. Wassertein AG. Nephrolithisis, acute management and prevention. *Dis Mon* 1998; 44: 196.
10. Quan V, Kalin A. Sensitivity to meat protein intake and hyperoxaluria in idiopathic calcium stone formers. *Kidney International* 2001; 59: 2273-2281.
11. Healy KA, Ogank A. Nonsurgical management of urolithiasis: An overview of explosive therapy. *J of Enourology* 2005; 19: 759-767.
12. Danny M, Gohel I, Wong SP. Chinese herbal medicines and their efficacy in treating renal stones. *Urol Res* 2006; 34: 365-372.
13. Ballabh B, Chaurasia OP, Ahmed Z, Singh SB. Trditional medicinal plants of cold desert ladakh_used against kidney and urinary disorders. *J Ethnopharmacol* 2008; 118: 331-339.
14. Garimella TS, Jully CF, Narayanan S. In vitro studies on antilithiatic activity of seeds of *Dolichos biflorus* Linn and rhizomes of *Bergenia ligulata* well. *Phthotherapy Res* 2001; 15: 351-355.
15. Barros E, Schor N, Boi MA. Effect of an aqueuous extract from *phyllanthus niruri* on calcium oxalate crystallization in vitro. *Urol Res* 2003; 30: 374-379.
16. Atmani F, khan S.R. Effects of extract from *Hrniaria hirsuta* on calcium oxalate crystallization in vitro. *BJU Int* 2000; 5: 621-625.
17. Jeong BC, Kim BS, Kim HH. Effects of green tea on urinary stone formation: an in vivo and in vitro study. *mary Ann libert. J Enouourol* 2006; 20: 356-361.
18. Volak DJ, Stodola J. Persian translation of "plantas medicinalis". 3rd edition. 1376. P 214.
19. Robbers JE, Varro E, Tyler's T. Herbs of choice: The therapeutic use of phytomedicinals. New York: Haworth press; 1999. P 93.
20. Evans WC. Pharmacognosy Trease and Evans. 15th edition, London: Elsevier Science; 2002. P 46.
21. Cifuentes DL. Alkalinizing Treatment as preventive of recurrent calsium oxalate lithiasis. *Arch Urol* 1991; 44: 903.