



## Role of Histaminegic and calcium channels in the inhibitory effects of hydroalcoholic extract of *Matricaria recutita* L. on isolated rabbit jejunum

Masoomeh Mazandarani<sup>1</sup>, Seyedeh Fatemeh Hoseini<sup>1</sup>, Akhtar Seifi<sup>2</sup>, Hooman Bayat<sup>3</sup>, Mona pourabouk<sup>1</sup>, Fakhri Badaghabadi<sup>4</sup>, Maryam Rajaei<sup>4</sup>, Hamidreza Moheimani<sup>4</sup>, Vahid Khori<sup>4\*</sup>

1. Islamic Azad Univesity, Gorgan, Iran

2. Golestan university of medical sciences, Gorgan, Iran

3. Niak Pharmaceutical company, Gorgan, Iran

4. Golestan Cardiovascular research center, Golestan university of medical sciences, Gorgan, Iran

Received: 14 Jul 2011

Accepted: 22 Dec 2010

### Abstract

**Introduction:** Considering the long traditional history of anti-inflammatory and anti-spasmodic effects of *Matricaria* spices on the gastrointestinal system, the present study aimed to investigate the role of calcium channels and Histamine receptors in the inhibitory effects of hydroalcoholic dry extract of German chamomile (*Matricaria recutita* L.) on the isolated rabbit jejunum.

**Methods:** All experiments were done on the isolated jejunum of New Zealand rabbits (1.8-2.5 kg). Dry extract of aerial parts of *M. recutita* was obtained by the maceration technique. The study was performed on two groups (n=6 in each group). In the first group, the effects of cumulative concentrations of *M. recutita* ( $3 \times 10^{-3}$ - $1 \times 10^{-2}$  mg/ml) on normal and K<sup>+</sup>-induced contractions (50 mM) of isolated jejunum were studied. In the second group, the inhibitory role of *M. recutita* ( $3 - 13 \times 10^{-3}$  mg/ml) was evaluated in the presence and absence of histamine and cetirizine. In the presence and absence of 10  $\mu$ M cetirizine, a histamine H<sub>1</sub>-antagonist, a concentration-dependent inhibitory effect of *M. recutita* extract in the range of  $3-13 \times 10^{-3}$  mg/ml was recorded the rabbit jejunum.

**Results:** Results showed that EC<sub>50</sub> of *M. recutita* in the absence and presence of K<sup>+</sup> was  $6.3 \times 10^{-3}$  and  $6.5 \times 10^{-3}$  mg/ml, respectively. IC<sub>50</sub> values for two concentrations of *M. recutita* ( $8 \times 10^{-3}$  ,  $1 \times 10^{-2}$  ) to abrogated contractive phase of Histamine was  $9.55 \times 10^{-6}$  and  $1.57 \times 10^{-6}$   $\mu$ M. Cetirizine (10  $\mu$ M) abolished inhibitory effects of *M. recutita* (IC<sub>50</sub>= $3.6 \times 10^{-3}$ ), (p< 0.001).

**Conclusion:** Dry extract of *matricaria recutita* had inhibitory effects on the contractions of isolated rabbit jejunum. Calcium channels and histamine were involved in these antispasmodic effects.

**Key words:** German chamomile hydroalcoholic *Matricaria recutita* L., Antispasmodic, Histamine receptor

\* Corresponding author e-mail: vaph99@yahoo.com  
Available online at: www.phypha.ir/ppj

## نقش سیستم هیستامینرژیک و کانال های کلسیمی در اثرات مهارى عصاره هیدروالکلی بابونه آلمانی *Matricaria recutita* L. بر روی ژژنوم جدا شده خرگوش

معصومه مازندرانی<sup>۱</sup>، سیده فاطمه حسینی<sup>۱</sup>، اختر سیفی<sup>۲</sup>، هومان بیات<sup>۳</sup>، منا پورابوک<sup>۴</sup>، فخری بداع آبادی<sup>۴</sup>، مریم رجائی<sup>۴</sup>، حمیدرضا مهیمنی<sup>۴</sup>، وحید خوری<sup>۴\*</sup>

۱. گروه زیست گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

۲. گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان

۳. شرکت کشت و صنعت گیاهان دارویی نیاک، گلستان، گرگان

۴. مرکز تحقیقات قلب و عروق گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان

پذیرش: ۲۳ تیر ۹۰

دریافت: ۱ دی ۸۹

### چکیده

**مقدمه:** با در نظر گرفتن تاریخچه طولانی طب سنتی اثرات ضد التهابی و ضد انقباضی گونه های بابونه بر روی سیستم گوارشی، مطالعه حاضر جهت بررسی نقش کانال های کلسیمی و گیرنده های هیستامین در اثرات مهارى عصاره هیدروالکلی خشک شده گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria recutita* L.) بر روی ژژنوم جدا شده خرگوش طراحی شد.

**روش ها:** آزمایشات بر روی ژژنوم جدا شده خرگوش های نیوزیلندی (۲/۵-۱/۸ کیلوگرم) انجام شد. عصاره خشک قسمت های هوایی گیاه بابونه آلمانی به روش خیساندن بدست آمد. در حضور و عدم حضور هیستامین و آنتا گونیست  $H_1$  (10 $\mu$ M، سیتیزین)، اثرات مهارى وابسته به غلظت 3 - 13 $\times 10^{-3}$  mg/ml، عصاره بابونه بر روی ژژنوم خرگوش ثبت شد. این مطالعه در دو گروه 6 تایی انجام شد که در گروه نخست غلظت مهارى بابونه 1 $\times 10^{-2}$  - 3 $\times 10^{-3}$  mg/ml، بر روی ژژنوم جدا شده طبیعی و تحریک شده در حضور K<sup>+</sup> = 50 mM مطالعه شد. در گروه دوم نقش مهارى بابونه 3 - 13 $\times 10^{-3}$  mg/ml در حضور و غیاب سیتیزین ارزیابی شد. کلیه داده ها بصورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شده است.

**یافته ها:** نتایج اولیه نشان داد EC 50 بابونه در حضور و غیاب پتاسیم کلراید به ترتیب برابر 6.3 $\times 10^{-3}$  و 6.5 $\times 10^{-3}$  mg/ml و IC 50 برای دو غلظت بابونه (10-2 و 1 - 8 $\times 10^{-1}$  mg/ml)، جهت حذف اثرات انقباضی هیستامین برابر با 1.57 $\times 10^{-6}$  و 9.55 $\times 10^{-6}$   $\mu$ M بود. سیتیزین (10 $\mu$ M) توانست سبب از بین رفتن اثرات مهارى بابونه (IC<sub>50</sub> = 3.6 $\times 10^{-3}$  mg/ml) گردد (p<0.001).

**نتیجه گیری:** عصاره خشک بابونه اثرات مهارى بر روی انقباضات صاف ژژنوم جدا شده داشته و همچنین با مداخله در اعمال کلسیم و هیستامین اثرات آنتی اسپاسمودیک از خود نشان داد.

**واژه های کلیدی:** عصاره هیدرو الکللی بابونه آلمانی (*Matricaria recutita*) ضد اسپاسم، گیرنده های هیستامین

### مقدمه

ابتلا به بیماریهای ناشی از التهابات گوارشی و بروز انواع سرطانهها، لزوم رویکرد جهانی را به سمت شناسایی گیاهان دارویی با اثر ضد التهابی قوی و همچنین بررسی عملکرد ضد انقباضی آنها را در مدل های حیوانی و بالینی بیش از پیش ضروری می سازد.

تحقیقات اخیر سازمان بهداشت جهانی مبنی بر افزایش آمار

vaph99@yahoo.com

www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

که اثر ضد اسپاسمی عصاره ترکیبی (Iberogast, STW5) از ۹ گیاه دارویی (*Mentha piperita*, *Chamomile recutita*, *Silybum marianum*, *Melissa officinalis*, *Iberis amara*, *Carum carvi*, *Chelidonium majus*, *Angelica archangelica*, *Glycyrrhiza glabra*) بر روی عضلات صاف قسمتهای مختلف (ژژنوم، ایلئوم و کولون) روده کوچک هندی با مکانیسم های مختلف با استفاده از رسپتورهای 5-HT<sub>3</sub>، 5-HT<sub>4</sub>، موسکارینی (M<sub>3</sub>) و اپیوئیدی در درمان اسپاسم موثر می باشد [۱۰]. در کلیه مطالعات فوق گرچه اثرات ضد اسپاسم بابونه نشان داده شده ولی عمدتاً تفاوت های بین گونه ای مانع از مقایسه اثرات وارسته های کشت شده در ایران در مقایسه با نمونه های مطالعه شده در تحقیقات قبلی شده است. بنابراین انجام تحقیقی که بتواند اثر ضد اسپاسم عصاره بابونه را در روده جدا شده و با تحریک و بدون تحریک غلظت بالای پتاسیم مطالعه کند، می تواند اثر ضد اسپاسم این گیاه و مکانیسم این اثرات را آشکار سازد بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین نقش سیستم هیستامینرژیک و کانال های کلسیمی در اثرات مهاری عصاره هیدروالکلی بابونه آلمانی *Matricaria recutita* L. بر روی ژژنوم جدا شده خرگوش طراحی شد.

## مواد و روش ها

گلپهای بابونه پس از جمع آوری از مزرعه شرکت کشت و صنعت گیاهان دارویی نیاک در نیمه دوم ادیبهشت ۱۳۸۸ در هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان با کد هرباریومی RCMP (0100) شناسایی و ثبت گردید. عصاره هیدروالکلی، در دو مرحله از یک کیلوگرم گلپهای خشک پودر شده گیاه بابونه و اتانول (۷۰٪) به مدت ۶ شبانه روز با روش ماسراسیون استخراج شد. عصاره حاصل جدا و صاف شده (صافی ۱ میکرون) در دو مرحله با استفاده از پمپ خلا (۲۰ میلی متر جیوه) و سیستم تقطیر (حرارت ۵۰-۴۰) و با استفاده از دی اکسید سیکلون کلوتیدال (Aerosol 2000) به صورت پودر خشک بدست آمد.

جمع حجم عصاره: ۱۷/۱ لیتر، وزن محاسبه شده عصاره خشک: ۳۰۸ گرم، در صد عصاره گیری معادل ۳۰/۸٪ بدست

گیاه بابونه با نام علمی (*Chamomilla recutita*, L.) (*Matricaria Chamomilla*, L.) متعلق به تیره Asteraceae، گیاهی علفی، معطر و دارویی است که از گذشته های دور از دمکرده یا جوشانده گلپهای آن در طب سنتی اغلب کشورهای اروپا و آسیا به عنوان ضد التهاب، مسکن دردهای معده و روده، ضد عفونی کننده، ضد میکروب و آرام بخش استفاده می شده است. از فلاونوئیدها (اپی ژنین، کوئرستین و لوتئولین و روتین)، سزکویی ترپنها (کامازولن و  $\alpha$ -بیزابولول) و همچنین کومارینها به عنوان مهمترین اجزای تشکیل دهنده اسانس و عصاره گیاه بابونه نام برده اند که مسئول خواص ضد التهابی، ضد اسپاسمی، ضد باکتریایی و ضد قارچی گیاه می باشند [۱۱، ۳۶]. در تحقیقات مختلف حیوانی و انسانی، اثرات شل کننده عضلات صاف و ضد اسپاسم و زخم معده از اسانس و عصاره گیاه بابونه گزارش شده است. [۱۰، ۷، ۱۰].

تحقیقات مختلفی در مدل های حیوانی از سال ۱۹۷۹ در ارتباط با اثر ضد اسپاسم فلاونوئید اپی ژنین در عصاره و سزکویی ترپن بیزابولول در اسانس گیاه بر روی عضله جدا شده روده کوچک هندی و موش صحرایی انجام شده است. توکرمن و فورستر در مطالعات جداگانه اثرات ضد اسپاسم بابونه و فلاونوئیدهای آن را در ایلئوم کوچک هندی مطالعه و نشان دادند که اثر ضد اسپاسمی بابونه ۹۱ درصد بیشتر از اثر آکالوئید پاپاورین در گیاه خشخاش می باشد. پس از آن اثر فوق در حضور استیل کولین و هیستامین آزمایش گردید و نتایج آن بیانگر نقش رسپتورهای کولینرژیک و هیستامینرژیک در اثرات ضد اسپاسمی عصاره بابونه بود [۴، ۶]. از آن زمان تاکنون مطالعات مختلفی در ارتباط با اثر ضد اسپاسمی فلاونوئیدهای بابونه انجام شده است که در نتیجه اثر ضد اسپاسمی بر روی معده و روده این گیاه را به فلاونوئید های اپی ژنین، کوئرستین و همچنین سزکویی ترپن بیزابولول نسبت می دهند [۸]. در مطالعات بالینی مصرف فراورده های مختلف بابونه در درمان کولیک نوزادان و اسهال اثرات مفیدی را نشان دادند. ویزمن نشان داد مصرف یک هفته ای چای بابونه در ۵۷٪ موارد باعث بهبود کولیک شده است [۱]. در تحقیقی مشابه که توسط ساوینو و همکاران انجام گرفت مصرف یک هفته ای چای بابونه در کاهش گریه نوزادان مبتلا به کولیک اثرات مفیدی را نشان داد [۹]. در تحقیقی دیگر نشان داده شده است

در روده بدون تحریک و سپس منقبض شده توسط پتاسیم کلراید ( $K = 50 \text{ mM}$ ) مورد بررسی قرار گرفته و سپس در گروه دوم ( $n=6$ ) اثرات هیستامین در غلظت های مختلف ( $0.2-200$  میکرو مولار) و سیتیزین  $10$  میکرومولار در حضور و غیاب عصاره بابونه بر روی نمونه های مورد آزمایش بررسی شد.

در هر مرحله نتایج قبل و بعد از اضافه کردن دارو در مقایسه با کنترل ثبت شد.

نرمال بودن داده ها توسط تست KS (Kolmogorov Smirnov) انجام شد. مقایسه بین دو گروه با تست Paired t-test انجام گرفت. کلیه داده ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش شد. ( $p < 0.001$ ) به عنوان شاخص معنی دار در نظر گرفته شد. غلظت مؤثر  $50$  درصدی ( $EC_{50}$ ) و غلظت مؤثر بابونه که می تواند  $50$  درصد اثرات آگونیست را مهار کند ( $IC_{50}$ ) تعریف می شود. جهت آنالیز آماری نرم افزار استفاده شده Statgraph Prism 7 بود.

## یافته ها

آنالیز فیتوشیمیایی بابونه بیانگر وجود فلاونوئیدهای اپی ژنین، کوئرستین، لوتئولین، پاتئولین و عدم وجود ترکیبات گلیکوزیدی می باشد. (جدول ۱)

عصاره بابونه در یک مدل وابسته به غلظت سبب کاهش حرکات پرستالتیک خودبخودی ژژنوم در غلظتهای  $3- \text{mg/ml}$  ( $13 \times 10^{-3}$  شد (شکل ۱). غلظت مؤثر  $50\%$  یا  $EC_{50}$  برابر با  $6.3 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$  بدست آمد. جهت تعیین مکانیسم اثر ضد اسپاسم بابونه و نقش کاناہای کلسیم در اثرات آن، عصاره بابونه در حضور پتاسیم کلراید  $50 \text{ mM}$  و غلظتهای تراکمی کلسیم ( $30 \text{ mM} - 3 \times 10^{-3}$ ) بررسی شد.

در حضور پتاسیم کلراید  $50 \text{ mM}$  افزایش در شدت انقباضات و سپس یک انقباض کامل تونیک و پیوسته دیده شد و پس از اضافه کردن غلظتهای تراکمی بابونه کاهش در انقباضات خودبخودی ناشی از پتاسیم با  $EC_{50} = 6.5 \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$  رخ داد که تفاوت معناداری نسبت به اثرات آن در روده بدون تحریک دیده نشد (شکل ۲ و ۳).

در حضور تیروید فاقد کلسیم حرکات پرستالتیک ژژنوم

آمد و تعیین مقدار فلاونوئید تام به روش رنگ سنجی با کمک کلرید آلومینیوم هگزا هیدرات (Merck) در طول موج  $395$  نانومتر (Shimadzu 1601) انجام شد. میزان فلاونوئید تام بر اساس اپی ژنین معادل  $5$  تا  $7$  درصد عصاره بود.

عصاره بدست آمده در این تحقیق عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه آلمانی بوده که به اختصار از این به بعد عصاره بابونه نامیده می شود.

حیوانات مورد آزمایش: خرگوشهای سفید نر نژاد نیوزیلندی با وزن تقریبی  $2/500-1/800$  کیلوگرم از انستیتو پاستور تهیه گردیدند. حیوانات در شرایط تغذیه ای، درجه حرارت، نور و رطوبت یکسان نگهداری شدند و کلیه حیوانات  $12$  ساعت قبل از آزمایش از غذا محروم شدند و دسترسی نامحدود به آب و غذا داشتند. ابتدا خرگوش ها توسط تیوپنتال سدیم (روتکس مدیکا) بیهوش شده و توسط ضربه به گردن نخاعی شدند. بعد از باز کردن شکم حدود  $2$  سانتیمتر بعد از ابتدای ژژنوم برداشته شده و در محلول تیروید سرد اکسیژنه قرار داده شده و بافت و عروق مزانتریک از آن به آرامی جدا شد. مواد مورد استفاده در تهیه محلول کربس - هنسلیت از شرکت میرک آلمان تهیه گردید. محتوای محلول کربس-هنسلیت بر حسب میلی مولار بکار رفته عبارت است از:

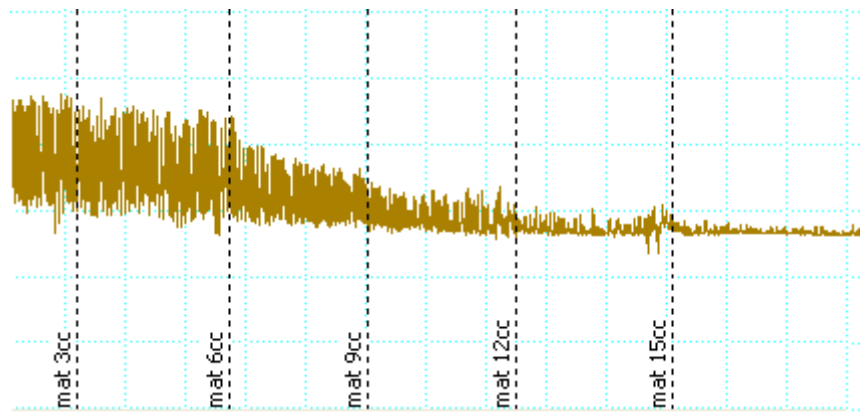
$\text{NaCl}(136.9)$ ,  $\text{KCl}(2.7)$ ,  $\text{CaCl}_2(1.8)$ ,  $\text{MgCl}_2(1)$ ,  $\text{NaHCO}_3(11.9)$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4(0.42)$ ,  $\text{Glucose}(5.5)$

دستگاه فیزیوگراف ADINSTRUMENTS و نرم افزار Lab chart جهت ثبت انقباضات مورد استفاده قرار گرفته، بدین ترتیب که  $3-1$  سانتیمتر از روده در یک محفظه  $70$  میلی متری حاوی تیروید با  $\text{pH}=7.4$  و درجه حرارت  $37$  درجه سانتیگراد که بطور مداوم با مخلوط  $95\%$  اکسیژن و  $5\%$  گاز کربنیک اشباع شده و سپس به مدت  $20$  دقیقه با حفظ شرایط مناسب در محلول تیروید نگهداری می شد کشش اولیه  $20-0$  گرم از طریق یک ترانس دیوسر ایزومتریک مدل N.TRI 202P به بافت اعمال شد. مراحل انجام آزمایش به صورت کنترل - دارو و جمعا در  $12$  نمونه انجام شد که در هر نمونه غلظت های مختلف بابونه به حمام بافتی اضافه شده و بعد از حدود  $3$  دقیقه اثرات آن بصورت محاسبه میزان ارتفاع قله انقباض تا سطح پایه اندازه گیری گردید. آزمایشات در دو گروه انجام شد. در گروه اول ( $n=6$ ) غلظتهای مختلف عصاره بابونه

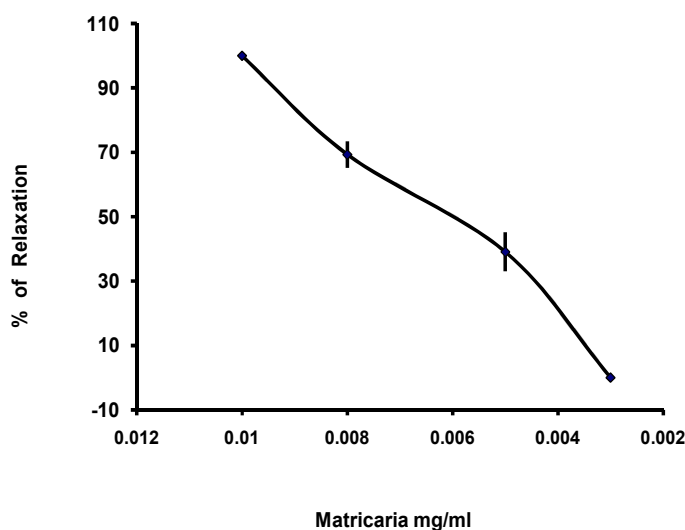
جدول ۱- تجزیه فیتوشیمیایی عصاره هیدرالکلی گیاه بابونه آلمانی کشت شده در استان گلستان

Glycosidic compound	pateoletine	luteolin	quercetin	apigenin
-	+	+	+	+

وجود ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره + ، عدم وجود ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره -



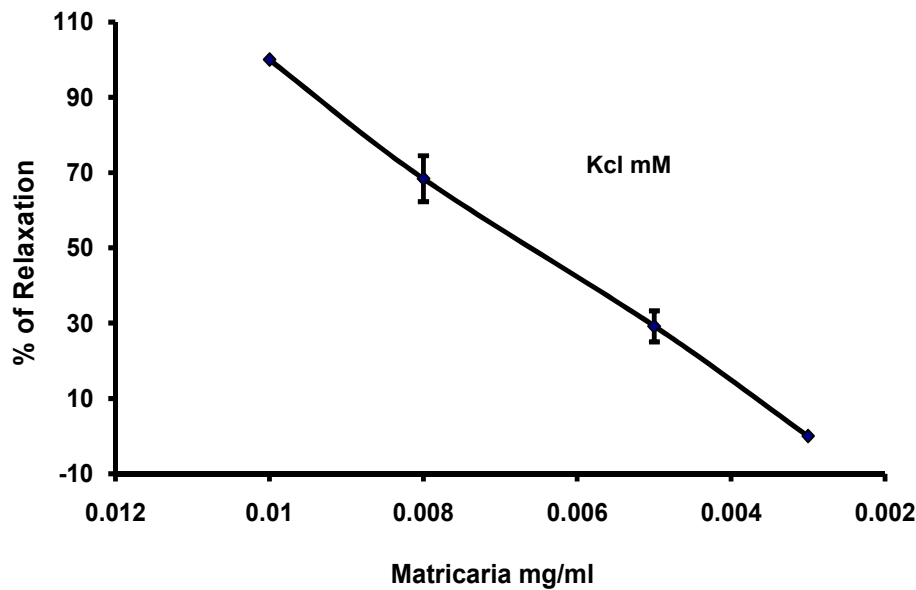
شکل ۱- نمایش انقباضات روده در حضور غلظت های مختلف عصاره بابونه  $3 \times 10^{-3}$  -  $13 \times 10^{-3}$  mg/ml در یکی از نمونه های ژزوم جدا شده خرگوش. عصاره بابونه در یک روند وابسته به غلظت سبب کاهش انقباضات عضله صاف روده شده است. mat=Matricaria



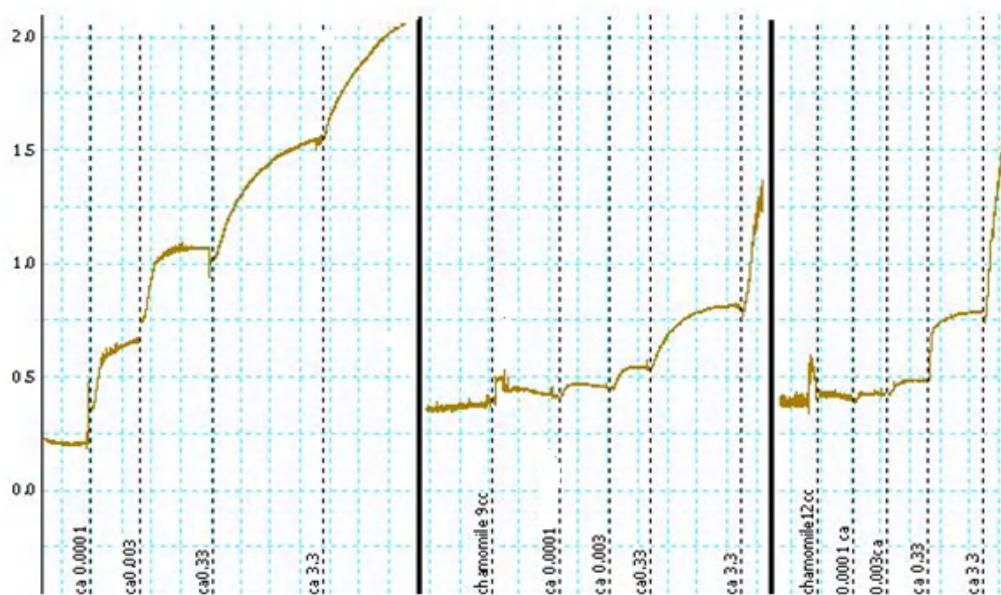
شکل ۲- منحنی غلظت- پاسخ جهت غلظت های مختلف بابونه برای ایجاد شلی عضلات صاف ژزوم خرگوش. عصاره بابونه در ۴ غلظت به کاررفته (  $3 \times 10^{-3}$  -  $1 \times 10^{-2}$  mg/ml) سبب کاهش معنی دار انقباض ژزوم می گردد.  $N=6$ ، Matricaria (mg/ml): بابونه (میلی گرم/میلی لیتر)، % of relaxation: درصد کاهش انقباضات، تمامی اعداد به صورت  $Mean \pm SE$  نشان داده شده است.

کاملاً از بین رفته و سپس در حضور غلظت های تراکمی کلسیم افزایش در انقباضات در یک رابطه وابسته به غلظت منحنی غلظت-پاسخ غلظت های تراکمی کلسیم (  $3 \times 10^{-3}$  -  $30 \text{mM}$ ) گردید (شکل ۴).  
در حضور بابونه با دو غلظت  $1 \times 10^{-2}$  و  $8 \times 10^{-3}$  mg/ml منحنی غلظت - پاسخ ناشی از اضافه کردن کلسیم به سمت

کاملاً از بین رفته و سپس در حضور غلظت های تراکمی کلسیم افزایش در انقباضات در یک رابطه وابسته به غلظت منحنی غلظت-پاسخ غلظت های تراکمی کلسیم (  $3 \times 10^{-3}$  -  $30 \text{mM}$ ) گردید (شکل ۴).  
در حضور بابونه با دو غلظت  $1 \times 10^{-2}$  و  $8 \times 10^{-3}$  mg/ml منحنی غلظت - پاسخ ناشی از اضافه کردن کلسیم به سمت



**شکل ۳-** منحنی غلظت- پاسخ جهت غلظت های مختلف بابونه  $1 \times 10^{-2}$  -  $3 \times 10^{-3}$  mg/ml در حضور پتاسیم ۵۰ میلی مولار بر روی ژژنوم خرگوش. عصاره بابونه در غلظت های به کار رفته سبب کاهش انقباض ناشی از پتاسیم در یک روند وابسته به غلظت به صورت معنا دار می گردد.  $N=6$ ، Matricaria (mg/ml) : بابونه (میلی گرم/میلی لیتر)، % of relaxation : درصد کاهش انقباضات، تمامی اعداد به صورت  $Mean \pm SE$  نشان داده شده است.



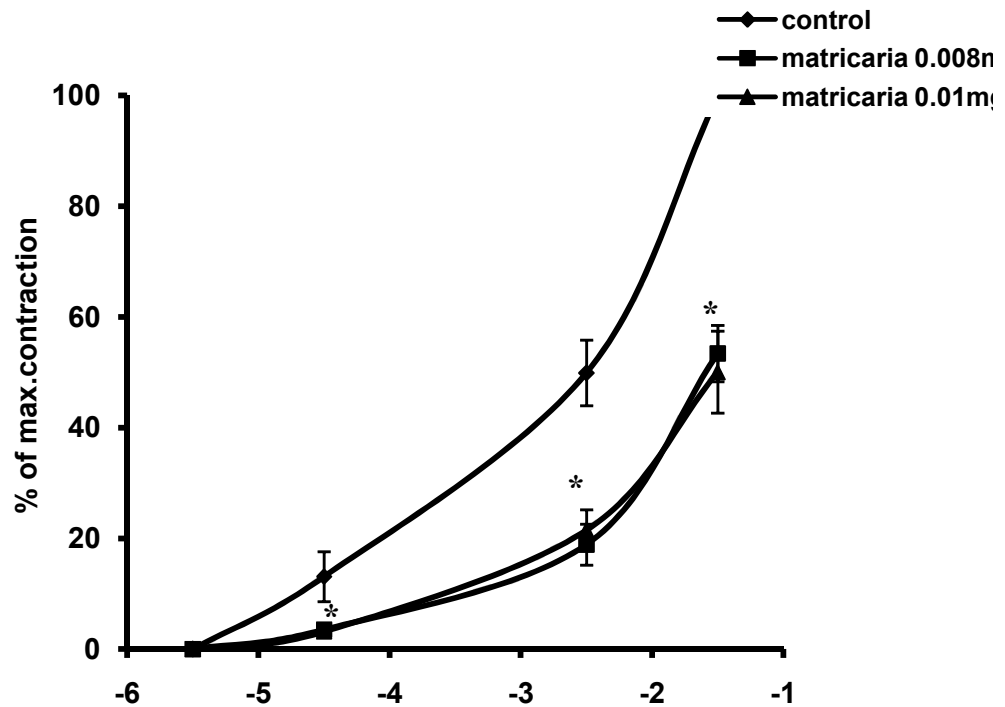
**شکل ۴-** نمایش انقباضات روده در حضور دو غلظت بابونه ( $8 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-2}$  mg/ml) بر روی منحنی غلظت- پاسخ غلظت های تراکمی کلسیم ( $3 \times 10^{-3}$ - 30mM). کنترل : غلظت های تراکمی کلسیم 30-  $3 \times 10^{-3}$  میلی مولار، گروه A: غلظت  $8 \times 10^{-3}$  میلی گرم بر میلی لیتر بابونه (Chamomile 9cc)، گروه B: غلظت  $1 \times 10^{-2}$  میلی گرم بر میلی لیتر بابونه (Chamomile 12cc). بابونه

$$(7.69 \times 10^{-6})$$

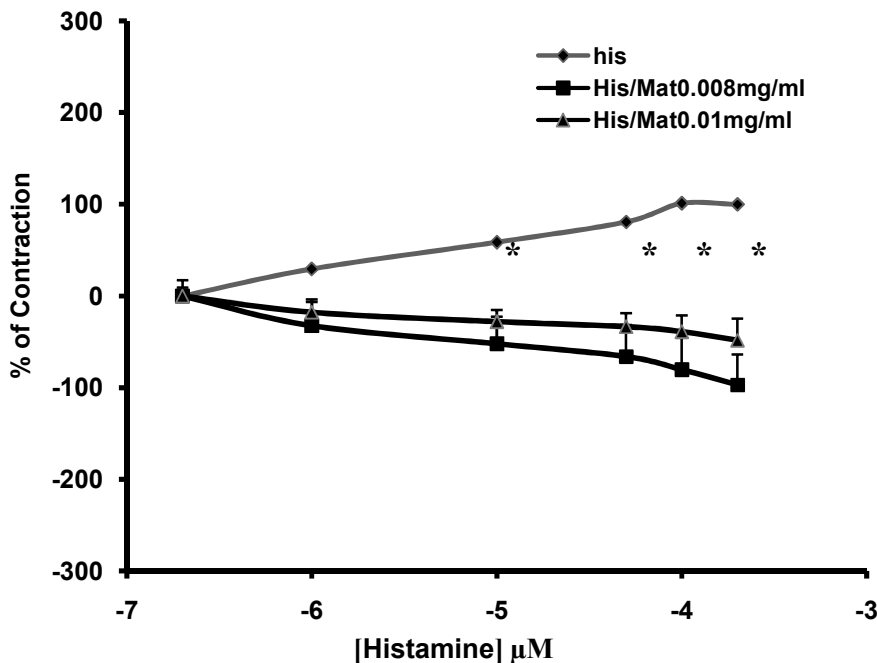
در حضور غلظتهای مختلف بابونه منحنی غلظت - پاسخ هیستامین بطور معنا داری به سمت پائین انتقال پیدا کرد و تفاوت معنا داری بین دو غلظت به کار رفته از بابونه در تغییر منحنی انقباضی هیستامین دیده نشد. غلظت مهاری ۵۰٪ بابونه در مقادیر  $1 \times 10^{-2}$ ,  $8 \times 10^{-3}$  mg/ml به ترتیب

راست و پائین منتقل شده و مقادیر  $IC_{50}$  برای غلظتهای به کار رفته بابونه به ترتیب برابر  $3 \times 10^{-3}$ ,  $7 \times 10^{-3}$  میلی مولار می باشد (شکل ۵).

هیستامین در یک رابطه وابسته به غلظت در یک گروه جداگانه بر روی ۶ نمونه جدا شده از ژژنوم روده خرگوش، افزایش در میزان انقباضات پایه ایجاد کرد ( $EC_{50} = \mu M$ )



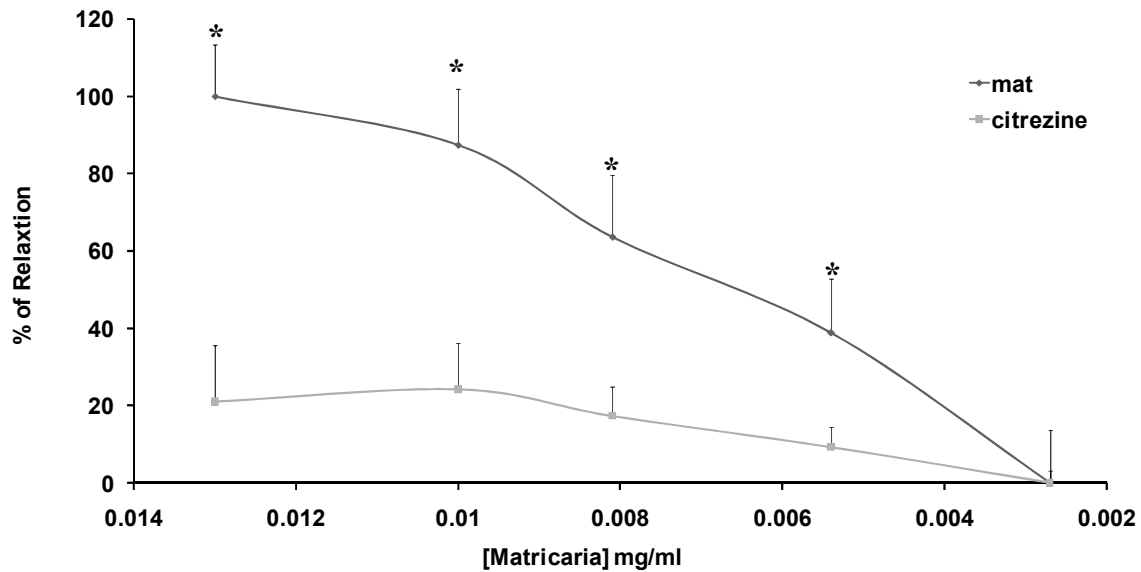
**شکل ۵-** اثرات غلظت های مختلف بابونه بر روی منحنی غلظت-پاسخ کلسیم (30mM-3×10<sup>-3</sup>), بابونه در دو غلظت به کار رفته سبب کاهش معنا دار و انتقال منحنی به سمت پایین گردید. (N=6). Log [ca<sup>++</sup>] mM: غلظت های تراکمی کلسیم, % of Max contraction: درصد افزایش انقباضات, تمامی اعداد به صورت Mean ± SE نشان داده شده است. \*P<0.001 در مقایسه با کنترل, کلسیم



**شکل ۶-** منحنی وابسته به غلظت هیستامین ۲۰۰-۰/۲ μM در حضور غلظت های 1×10<sup>-2</sup>, 8×10<sup>-3</sup> mg/ml: هیستامین, میکرو مولار Histamine μM: درصد انقباضات % of contraction: هیستامین/بابونه His/matricaria, تمامی اعداد به صورت Mean ± SE نشان داده شده است. \*P<0.001 در مقایسه با هیستامین

سیتریزین با غلظت 10μM آزمایش شد. منحنی غلظت – پاسخ بصورت معنادار به سمت پائین منتقل شد که بیانگر جلوگیری از اثرات مهاری توسط بلاکر رسپتورهای H<sub>1</sub> می باشد

همچنین اثرات مهاری بابونه در عضلات صاف ژژنوم خرگوش در حضور آنتاگونیست رسپتور هیستامینی H<sub>1</sub> بود (شکل ۶).  
IC<sub>50</sub> = 9.55×10<sup>-6</sup> و 1.57×10<sup>-6</sup>



شکل ۷- منحنی حداکثر اثرات بابونه در کاهش امواج پرستالتیک روده در حضور آنتاگونیست سیستم هیستامینرژیک، Matricaria. N=6 (mg/ml): بابونه (میلی گرم/میلی لیتر)، % of relaxation: درصد کاهش انقباضات، تمامی اعداد به صورت Mean ± SE نشان داده شده است. \*P<0.001 در مقایسه با کنترل

( $IC_{50} = 3 \times 10^{-3} \mu M$ ) (شکل ۷).

منحنی غلظت - پاسخ کلسیم، نتایج تحقیق بیانگر نقش این کانالها در اثرات ضد اسپاسم گیاه و به عبارتی دیگر بیانگر اثرات احتمالی انسدادی کانال کلسیمی (C. C.B.) عصاره در تحقیق حاضر می باشد. مطالعات مختلفی نشان داده است که گیاه بابونه دارای اثرات ضد اسپاسم و شل کننده عضلات صاف بوده و مؤثر در زخم معده می باشد. فراورده های ترکیبی بابونه (STW5) توانست اثرات ضد اسپاسم در عضلات دئودنوم، ژژنوم و کولون ایجاد کند [۱۰، ۱۱]. همچنین اثرات ضد اسپاسم فراورده فوق در مطالعات قبلی بر روی ایلئوم جدا شده کوچک هندی نیز در تأیید نتایج تحقیق حاضر بیانگر نقش ضد اسپاسم این گیاه می باشد [۱۰]. تحقیقات نشان داده که مواد مؤثره فلاونوئیدی (اپی ژنین) از مهمترین ترکیبات ثانوی و مؤثر در بابونه بوده، که در درمان زخمهای معده ناشی از استرسهای شیمیایی، اشعه یا گرمایی مؤثر می باشد. اپی ژنین در غلظتهای 12.5- 50 mg/kg سبب افزایش زمان انتقال در روده کوچک و بزرگ در مدل اسهال ناشی از روغن کرچک در موش گردید [۲].

ویژمن و همکاران اثرات چای حاوی مخلوط چند گیاه از جمله بابونه را بر روی کولیک نوزادان مطالعه کرد. بعد از مصرف یک هفته ای اسپاسم گوارشی تا حدود ۵۷٪ در مقایسه با ۲۶٪ کنترل بهبود پیدا کرد [۱۲]. مطالعه مشابه در سال ۲۰۰۵ توسط ساوینو و همکاران نشان داد که مصرف فراورده

## بحث

نتایج این تحقیق نشان میدهد، عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه آلمانی در یک روند وابسته به غلظت (3 - mg/ml) سبب کاهش انقباضات عضله صاف ژژنوم خرگوش گردید. این اثرات ضد انقباضی در حضور روده تحریک شده توسط پتاسیم کلراید با غلظت بالا نیز مشاهده شد و همچنین منحنی غلظت - پاسخ کلسیم توسط غلظتهای انتخابی بابونه مهار شد که بیانگر نقش کانالهای کلسیم در اثرات این گیاه است. تغییر منحنی غلظت - پاسخ هیستامین توسط بابونه به سمت پائین، بیانگر نقش گیرنده های هیستامینی ( $H_1$ ) در اثرات ضد انقباضی بابونه می باشد. مطالعات مختلفی در ارتباط با نقش کانالهای کلسیم وابسته به ولتاژ در عضلات صاف روده و تأثیر داروهای گیاهی بر روی آن انجام شده است [۸]. با استفاده از روشهای متعددی می توان نقش کانالهای کلسیم را در اثرات انقباضی گیاهان دارویی ثابت کرد. در تحقیق حاضر با استفاده از اثرات محرک پتاسیم کلراید با غلظت بالا 50 mM و استفاده از رسم منحنی غلظت - پاسخ کلسیم اثرات مهارکنندگی کانالهای کلسیم عصاره بابونه بررسی شد که با توجه به اثرات معنا دار عصاره در انتقال به سمت راست و پائین



بر روی بازوفیل های انسان را به فلاونوئید های اپی ژنین و کوئرستین عصاره نسبت دادند که می تواند سبب جلوگیری از آزاد سازی هیستامین گردد [۸]. در مطالعه ای که توسط آمون و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام گرفت، به بررسی اثر عصاره ترکیبی بابونه (STWS) و همچنین گونه دیگری از بابونه با نام علمی *Matricaria flos* در ارتباط با سیستم هیستامین نشان داده شد، بابونه توانست سبب کاهش انقباضات ناشی از هیستامین و کاهش تعداد انقباضات خود به خودی پرستالتیک ایلئوم کوچک هندی شود، در نتیجه نقش سیستم هیستامین در اثرات بابونه نشان داده شد [۵،۱].

نتایج تحقیق حاضر ضمن تأیید نتایج قبلی نشان می دهد که عصاره بابونه (فاقد اسانس) توانست اثرات هیستامین را بلاکه کند و این به معنای اثرات سیستم هیستامینرژیک در مکانیسم تاثیر اجزای فلاونوئیدی عصاره بابونه در عضلات صاف ژژنوم خرگوش می باشد. همچنین کاهش اثرات آن در حضور سیتیزین بیانگر نقش گیرنده مهم  $H_1$  در ایجاد اثرات بابونه است (شکل ۷)، بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که حداقل قسمتی از اثرات عصاره بابونه فاقد اسانس فرار، از طریق گیرنده های هیستامین انجام می شود.

عصاره هیدروالکلی بابونه آلمانی (*Matricaria recutita*) در این تحقیق توانست در یک روند وابسته به غلظت سبب اعمال یک اثر مهاری بر روی انقباضات عضله صاف ژژنوم خرگوش شود. قسمتی از اثرات عصاره بابونه از طریق کانال کلسیمی و در ارتباط با سیستم هیستامینرژیک و رسپتور های آن می باشد. نقش سایر سیستم های غالب در دستگاه گوارش در اثرات بابونه نیازمند مطالعات بعدی است.

### سپاسگزاری

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان جهت تصویب و در اختیار گذاشتن اعتبار، کارشناسان آزمایشگاه تحقیقاتی الکتروفیزیولوژی سلولی مرکز تحقیقات قلب و عروق جهت انجام آزمایشات و شرکت کشت و صنعت گیاهان دارویی نیاک جهت در اختیار قرار دادن عصاره گیاه مورد استفاده در طرح فوق تشکر و قدردانی می گردد.

دارویی حاوی عصاره بابونه در تجویز یک هفته ای سبب کاهش میزان گریه نوزادان مبتلا به اسپاسم روده شده است [۹]. کلیه مطالعات فوق نشان دهنده اثر ضد اسپاسمی و شل کنندگی عضلات صاف توسط عصاره بابونه بوده که در تایید نتایج این تحقیق حائز اهمیت می باشد.

تحقیق حاضر نشان داد، عصاره بابونه (فاقد ترکیبات سزکوئی ترپنی) نیز می تواند اثرات قاطع ضد انقباضی و شل کننده عضلات صاف داشته باشد و بیانگر آن است که ترکیبات فعال فلاونوئیدی و احتمالاً اپی ژنین می تواند به عنوان یک ضد اسپاسم از انقباضات شدید ماهیچه های صاف عضلات روده در مدل حیوانی جلوگیری نماید و اینکه کدام یک از فلاونوئیدها منحصراً مسئول این اثر می باشند نیاز به تحقیقات بعدی دارد. در تحقیقی دیگر ترکیبات ترپنی اسانس بابونه ( $\alpha$ -بیزابولول، ماتریسین و کامازولن) توانست اثری در بلوکه کردن رسپتورهای موسکارینی ( $M_3$ ) نشان دهند [۱۰]، بنابراین نتایج بدست آمده در تایید این تحقیق نشان میدهد که احتمالاً سایر ترکیبات (فلاونوئید ها) می توانند مسئول اثر ضد اسپاسمی در این گیاه باشند.

ارتباط بین رسپتور های هیستامین در اثرات ضد اسپاسم بابونه یکی از فرضیه های تحقیق حاضر بود. اثر ضد اسپاسم عصاره اتانولی بابونه آلمانی در حضور هیستامین و استیل کولین در مطالعه فورستر مورد بررسی قرار گرفت و اثرات مهاری گیاه بر روی انقباضات ناشی از هیستامین نشان داده شد [۴]. در یک مطالعه دیگر که توسط سیمون در ارتباط با تاثیر بابونه در اتصال به گیرنده های  $M_3, 5HT_3, 5HT_4$  و اوبیوئیدی، عصاره اتانولی گلهای های بابونه اثرات اختصاصی بر روی گیرنده  $5HT_4$  نشان داد در صورتی که سایر گیاهان از قبیل ریشه شیرین بیان رسپتور های  $5HT_3$  و زرشک گیرنده  $M_3, 5HT_4$  را مسدود کردند [۱۰].

مطالعه میلر در ارتباط با اثرات با اسانس فرار بابونه در آزاد شدن هیستامین از ماست سل ها و در مدل پروتامین القاء کننده تخلیه گرانول ها، نشان داد که مشتقات دای سیکلو اتر اسانس اثرات مهاری داشته در صورتیکه کامازولن و بیزابولول اثرات مشخصی نداشتند [۶]. همچنین اثرات ضد آلرژی بابونه

## References

- [1] Ammon HP, Kelber O, Okpanyi SN, Spasmolytic and tonic effect of Iberogast (STW 5) in intestinal smooth muscle. *Phytomedicine* 13 (2006) 67-74.
- [2] Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F, Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci* 65 (1999) 337-53.
- [3] Fonseca FN, Tavares MF, Horváth C, Capillary electrochromatography of selected phenolic compounds of Chamomilla recutita. *J Chromatogr A* 22 (2007) 390-99.
- [4] Forster HB, Niklas H, Lutz S, Antispasmodic effects of some medicinal plants. *Planta Med* 40 (1980) 309-19.
- [5] Heinle, H., Hagelauer, D., Pascht, U., Kelber, O., Weiser, D, Intestinal spasmolytic effects of STW 5 (Iberogast) and its components. *Phytomedicine* 13 (2006)75-79.
- [6] McKay DL, Blumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.), *Phytother Res* 20 (2006) 519-530.
- [7] OShea JJ, Murray PJ, Cytokine signaling modules in inflammatory responses. *Immunity* 28 (2008) 477-487.
- [8] Rotondo A, Serio R, Mule F, Gastric relaxation induced by apigenin and quercetin: analysis of the mechanism of action. *Life Sci* 85 (2009) 85-90.
- [9] Savino F, Cresi F, Castagno E, Silvestro L, Oggero R, A randomized double-blind placebo-controlled trial of a standardized extract of *Matricariae recutita*, *Foeniculum vulgare* and *Melissa officinalis* (ColiMil) in the treatment of breastfed colicky infants. *Phytother Res* 19 (2005) 335-40.
- [10] Simmen U, Kelber O, Okpanyi SN, Jaeggi R, Bueter B, Weiser D, Binding of STW 5 (Iberogast) and its components to intestinal 5-HT, muscarinic M3, and opioid receptors. *Phytomedicine* 13 (2006) 51-55.
- [11] Srivastava JK, Pandey M, Gupta S, Chamomile, a novel and selective COX-2 inhibitor with anti-inflammatory activity. *Life Sci* 85 (2009) 663-9.
- [12] Weizman Z, Alkrinawi S, Goldfarb D, Bitran C, Efficacy of herbal tea preparation in infantile colic. *J Pediatr* 122 (1993) 650-52.