

فعالیت مسدودکنندگی کانال کلسیم اسانس *Trachyspermum ammi* بر

آنورت سینه‌ای موش صحرائی در شرایط برون‌تنی

قائم سرگزیزاده^۱، نگار پناهی^{۱*}، حمیدرضا اشراقی^۱

چکیده

اثرات فارماکولوژیک گیاه *Trachyspermum ammi* در مطالعات قبلی مورد بررسی قرار گرفته است. این اثرات شامل شل‌کنندگی برونش، ضد فشار خون و شل‌کنندگی عضلات صاف دستگاه گوارشی می‌باشند. این در حالی است که تاکنون عمل این گیاه بر روی آنورت در شرایط برون‌تنی مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف از این مطالعه بررسی فعالیت آنتاگونیستی اسانس *Trachyspermum ammi* بر کانال‌های کلسیم عضله صاف آنورت می‌باشد. اسانس گیاه توسط سیستم کلونجر به میزان ۵/۴٪ حجمی وزنی بدست آمد. جهت ارزیابی فعالیت اسانس *Trachyspermum ammi* در شل کردن آنورت موش صحرائی، اثر غلظت‌های مختلف اسانس بر روی آنورت منقبض شده توسط فنیل افرین (۱ میکرومول) و کلرید پتاسیم (۶۰ میلی مول) ارزیابی شد. غلظت جمعی اسانس *T. ammi* (۲۰-۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) پس از ایجاد انقباض ناشی از فنیل افرین و کلرید پتاسیم با فواصل استاندارد به حمام ارگان افزوده شد و توانست این انقباضات را بطور معناداری کاهش دهد که این اثرات وابسته به دوز ارزیابی گردید. همچنین اثر مهاري اسانس *T. ammi* روی حلقه‌های آنورت پیش انقباضی با کلرید پتاسیم و فنیل افرین بطور معناداری در حضور نیفدیپین (۱ میکرومول بر میلی لیتر) کاهش یافت که نشان‌دهنده اثر آنتاگونیستی این اسانس روی کانال‌های کلسیم و رقابت نیفدیپین با اسانس برای اتصال به این جایگاه است. بر اساس نتایج فوق این فرضیه مطرح می‌گردد که مکانیسم اثر شل‌کنندگی اسانس *T. ammi* روی آنورت موش صحرائی وابسته به مهار ورود کلسیم خارج سلولی از طریق مسدود کردن کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ صورت می‌گیرد.

واژگان کلیدی: زبان، شل‌کنندگی عضلانی، آنورت، موش

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۱۶

مقدمه

در طول صدها سال، طبیعت منبع غنی از گیاهان دارویی را فراهم آورده است و تعداد قابل توجهی از داروهای امروزی از همین گیاهان ساخته شده‌اند. فشار خون بالا از مشکلات قلبی عروقی شایع بخصوص در سنین میانسالی بوده و یکی از ابزارهای درمان جایگزین آن، استفاده از گیاهان دارویی

جهت شل کردن عروق خونی و در نتیجه کاهش مقاومت عروقی می‌باشد. لذا انواع مختلفی از عصاره‌ها و اسانس‌ها در تحقیقات گیاهان دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند که تحقیقات بافتی از مهمترین مراحل جهت تایید اثرات فارماکولوژیک و احتمالاً شناخت مواد موثره و استخراج آنها است (۸). اسانس‌ها موادی آروماتیک و فراری هستند که در بسیاری از گیاهان دارویی یافت می‌شوند و اثرات فارماکولوژیک متعددی دارند (۲۱).

Trachyspermum ammi (*T. ammi*)، که به *Ajowan*، *Ajwain* یا *Carum copticum* نیز شناخته می‌شود، گیاهی است که در مناطقی همچون هند، پاکستان، جنوب شرقی و فلات مرکزی ایران رشد می‌کند. مردم این مناطق از دانه‌های این گیاه جهت درمان سستی برونشیت، آرتريت، کولیک، اسهال و حتی سرماخوردگی ساده با علائم آنفولانزا و سردرد استفاده می‌کنند (۱۰ و ۲).

همانند اکثر گونه‌های خانواده *Apiaceae*، *T. ammi* دارای اسانس قهوه‌ای رنگ، بو و مزه تند خاص شبیه به آویشن است. همچنین میزان بالای تیمول در اسانس که ترکیب فنولی اصلی موجود در *T. ammi* می‌باشد، به عنوان یک عامل میکروب‌کش، ضد اسپاسم و ضد قارچ شناخته شده است (۱۷). پیش از این چندین مطالعه دارویی روی اثرات ضدسرفه (۱۹ و ۴)، اثر مهارکننده گیرنده‌های هیستامین (۴)، ضد فشار خون، شل‌کنندگی و گشادکنندگی برونش‌ها (۱۰)، محافظت از کبد (۱۳)، ضد درد (۹)، ضد التهاب (۱۰) و آنتی‌اکسیدانی (۱۲) عصاره دانه‌های *T. ammi* انجام شده است.

* ۱- گروه علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. panahi@srbiau.ac.ir

محیطی با دمای ۲۵ الی ۳۰ درجه سانتیگراد خشک شده و سپس بصورت پودر در آورده شدند.

۲۰۰ گرم از پودر خشک شده در دستگاه تمام شیشه‌ای نوع کلونجر بر طبق روش پیشنهاد شده توسط European Pharmacopoeia در معرض تقطیر آبی قرار گرفت (۱۱). در این روش دانه‌های تازه خرد شده گیاه در یک فلاسک همراه با آب در حال جوش به مدت سه ساعت قرار گرفته و سپس از طریق لوله‌هایی بخارات حاصل به کندانسور منتقل گردیده و در آنجا روغن فرار به صورت فاز جداگانه در بالای مایع تشکیل شد و در پایان عملیات از انتهای لوله حجمی خارج گردید. اسانس روغنی بدست آمده بلافاصله در ویال‌های تیره در بسته در دمای ۴ درجه سانتیگراد جهت انجام آزمایش‌های بعدی ذخیره گردید.

داروها و محلول‌ها

داروهایی که در این تحقیق استفاده شدند، شامل نیفدیپین، دی‌متیل سولفوکساید، فنیل‌فرین، کلرید پتاسیم، کتامین‌هیدرو-کلراید و زایلازین (بایر، آلمان) بودند. اسانس *T. ammi* به صورت محلول ۱۰ میلی‌گرم در دی‌متیل سولفوکساید ۵۰٪ (DMSO) درآمد (جهت کم کردن احتمال سیتوتوکسیک بودن و اثر احتمالی آن بر فعالیت فیزیولوژیک بافت‌ها). از آنجا که نیفدیپین حلالیت کمی در محلول کربس دارد، ابتدا در اتانول ۴۰٪ حل شده و قبل از انجام آزمایشات از عدم تاثیر آن روی انقباضات و نتایج اطمینان حاصل شد. ترکیب محلول Krebs-Henseleit (pH: ۷/۴) جهت استفاده روی بافت‌های مورد نظر مطابق ترکیب ذیل تهیه گردید:

کلرید سدیم (۱۱۸ میلی‌مول)، کلرید پتاسیم (۴/۷ میلی‌مول)، کلرید کلسیم (۲/۵ میلی‌مول)، سولفور منیزیم (۱/۲ میلی‌مول)، مونوپتاسیم فسفات (۱/۱۷ میلی‌مول)، بی‌کربنات سدیم (۲۰ میلی‌مول)، EDTA (۰/۰۱ میلی‌مول) و گلوکز (۱۱ میلی‌مول).

حیوانات آزمایشگاهی

حیوانات آزمایش شده شامل موش‌های ویستار و وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم، عاری از پاتوژن، تکثیر شده در انستیتو پاستور ایران و تغذیه شده بر اساس رژیم استاندارد آزمایشگاهی و دسترسی

تحقیقی که توسط حجازیان جهت بررسی اثر عصاره *T. ammi* بر حرکات روده در ایلئوم رت انجام گردید، نشان داد که اثر شل‌کنندگی و کاهش حرکات عضلات صاف آن احتمالاً بعثت اثر آنتاگونیستی کلسیم، باز کردن کانال‌های پتاسیم و مهار فسفو-دی‌استراز ایجاد می‌گردد (۱۶ و ۱۴). همچنین در مطالعه‌ای دیگر اثر ضداسپاسم عصاره این گیاه به وجود مقادیر بالای تیمول آن نسبت داده شده است (۱۵). از یک سو بعثت نقش عمده کانال‌های کلسیمی و کلسیم خارج سلولی در انقباض عضلات صاف عروق و از سوی دیگر، بدلیل اثرات اثبات شده گیاه *T. ammi* در شل‌کردن عضلات صاف تنفسی و گوارشی، در این مطالعه فعالیت اسانس روغنی دانه‌های گیاه *T. ammi* (TAEO) بر روی این کانال‌ها ارزیابی شد. هر چند فقدان مطالعات بافتی بر روی آئورت امکان مقایسه این نتایج را محدود می‌کند.

همچنین از آنجایی که اسانس‌های روغنی معمولاً دارای تعداد بیشتری مولکول‌های فعال دارویی شامل ترپنوئیدها، بنزنوئیدها، فنیل پروپانوئیدها و فنل‌ها نسبت به عصاره‌ها هستند و با توجه به تحقیقات پیشین انجام شده بر روی این گیاه، در این مطالعه ابتدا اثر شل‌کنندگی اسانس *T. ammi* بر آئورت سینه‌ای موش صحرائی نژاد ویستار در شرایط برون‌تنی پس از پیش‌انقباض با دو منقبض‌کننده عمده (کلرید پتاسیم و فنیل‌فرین) بررسی گردید، سپس ارتباط این اثر با فعالیت آن بر کانال‌های کلسیم مطالعه شد.

مواد و روش کار

استخراج اسانس روغنی

جهت استخراج اسانس روغنی، دانه‌های *T. ammi* از منطقه سیستان و بلوچستان واقع در جنوب شرقی ایران در فروردین ماه سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری گردید و جهت اسانس‌گیری به مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انتقال داده شد. دانه‌های تازه در سایه و در

میلی‌لیتر (پس از ایجاد پیش انقباض با فنیل‌افرین ۱ میکرومول و کلریدپتاسیم ۶۰ میلی‌مول) افزوده شد. در ادامه تغییرات تانسینون ثبت گردید و با گروه کنترل که بدون افزودن اسانس منقبض شده بودند، مقایسه گردید.

بررسی فعالیت آنتاگونیسم کانال‌های کلسیمی

در گروه ۳ برای ارزیابی شباهت‌های میان TAEO و بلاک‌های کانال‌های کلسیمی، اثرات مهارتی غلظت‌های تجمعی ۲۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در حضور نیفدیپین (۱ میکرومول بر میلی‌لیتر) که یک مسدودکننده انتخابی کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ است مشخص گردید. برای بررسی این مکانیسم عمل احتمالی TAEO روی عضلات صاف جداره عروق آئورت موش صحرایی، کانال‌های کلسیم پیش از القای انقباضات با فنیل‌افرین و کلریدپتاسیم با استفاده از نیفدیپین مسدود گردید. پس از ۲۰ دقیقه غلظت‌های تجمعی TAEO به حمام ارگان اضافه شد. بدنبال آن درصدهای شل‌کنندگی در گروه با نیفدیپین و فاقد آن مقایسه گردید.

تحلیل آماری

غلظت موثر ۵۰٪ اسانس *T. ammi* با نرم‌افزار تحلیل آماری Graphpad Prism بدست آمد. اطلاعات و داده‌های آزمایشات مختلف روی بافت‌ها نیز بصورت میانگین \pm انحراف معیار از میانگین (SEM) بیان گردید. همچنین اختلاف معنی دار بین گروه‌ها با آزمون یک‌طرفه ANOVA براساس $P < 0.05$ لحاظ گردید.

نتایج

غلظت‌های تجمعی ۲۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس سبب شل شدن وابسته به دوز عروق در آئورت همراه با اندوتلیوم ناشی از انقباضات کلریدپتاسیم یا فنیل‌افرین بترتیب به بالاترین حد ۱۰۴/۴٪ و 93 ± 5 ٪ در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌گردد، TAEO بطور قابل توجهی انقباضات ناشی از فنیل‌افرین یا کلریدپتاسیم را بصورت وابسته به غلظت، آنتاگونیزه می‌کند. این آزمایشات اختلاف معنی دار قابل توجه، پاسخ و یا حساسیت

آزاد به آب و غذا بودند. این موش‌ها در دمای محیط تحت ۱۲ ساعت چرخه تاریکی - روشنایی نگهداری شدند. با تمام حیوانات براساس و مطابق با دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی رفتار شد (۱۹).

آماده‌سازی حلقه‌های آئورت

تحت بیهوشی با کتامین هیدروکلراید و زایلازین، قفسه سینه باز گردید و آئورت سینه‌ای به اندازه یک سانتی‌متر از بافت‌های همبندی اطراف جدا گردید. پس از آن آئورت به صورت عرضی به بخش‌های حلقوی استوانه‌ای به عرض ۲ الی ۳ میلی‌متر بریده شد و بلافاصله در محلول بافر کریس سرد و مخلوط هوای ۵٪ دی‌اکسیدکربن همراه با ۹۵٪ اکسیژن قرار داده شد (۲۲).

روش‌های *in vitro*

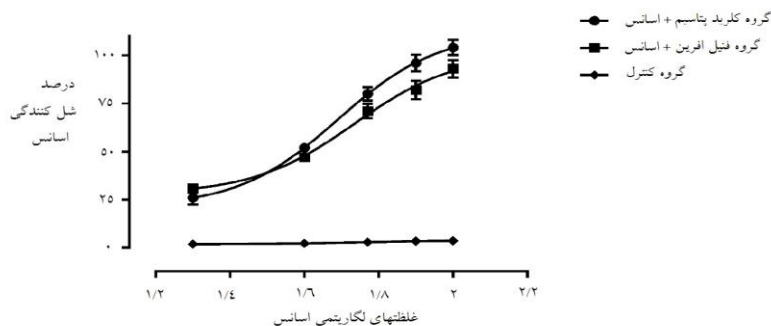
قبل از شروع آزمایش، دستگاه باوزنه‌های یک و نیم گرمی استاندارد کالیبره گردید. حلقه‌های آئورت در اتاقک دستگاه پاورلب (Organ Bath) پر شده با ۲۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شده و بطور مداوم با مخلوط ۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی‌اکسیدکربن هوادهی گردیدند. ترانس دیوسر ایزومتریک به دستگاه ثبت همودینامیک (MP35) و کامپیوتر متصل گردید. تانسینون استراحت به میزان ۱ گرم به هر حلقه آئورت اعمال شد و در حالیکه محلول ارگان هر ۱۵ دقیقه تعویض می‌گردید، اجازه یافت تا به تعادل برسد. ابتدا TAEO به صورت تجمعی با غلظت‌های مختلف پس از ایجاد پیش انقباض با فنیل‌افرین و کلریدپتاسیم افزوده شد. همچنین حامل DMSO برای اطمینان از عدم دخالت در نتایج منحنی دوز پاسخ مورد آزمایش قرار گرفت. کلیه مراحل آزمایشات بافتی بر اساس روش تشریح شده توسط دامیانی و همکاران انجام گردید (۲۲).

بررسی اثر گشادکنندگی عروقی بر انقباض ناشی از فنیل-

افرین و کلریدپتاسیم

در گروه ۱ و ۲ جهت بررسی فعالیت گشادکنندگی اسانس این گیاه بر آئورت منقبض شده در شرایط برون تنی، ابتدا TAEO بصورت تجمعی با غلظت‌های مختلف ۲۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر

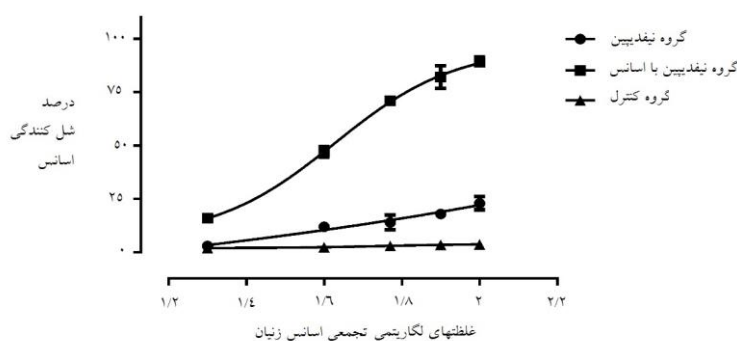
حداکثری بین اثر شل‌کنندگی ناشی از انقباض با فنیل‌افرین یا کلریدپتاسیم نشان داد ($P < 0/05$).



نمودار ۱- اثر گشادکنندگی غلظت‌های مختلف TAEO بر روی آنورت‌های با اندوتلیوم منقبض شده توسط فنیل‌افرین و کلریدپتاسیم

در مراحل تکمیلی آزمایشات، پاسخ شل‌کنندگی اسانس T. ammi بطور معناداری پس از پیش تیمار حلقه‌های آنورتی با نیفدیپین کاهش یافت که در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معناداری نشان داد ($P < 0/05$) (نمودار ۲).

نتایج به وضوح نشان داد که اسانس T. ammi قادر به شل کردن آنورت سینه‌ای رت بطور وابسته به غلظت می‌باشد. نتایج غلظت موثر و درصد شل‌کنندگی در جدول شماره ۱ آمده است.



نمودار ۲- اثر غلظت‌های تجمعی TAEO بر انقباضات ناشی از فنیل‌افرین و کلریدپتاسیم در حضور نیفدیپین

جدول ۱- مقایسه درصد شل‌کنندگی عضلانی و غلظت موثر اسانس بر شل‌کنندگی آنورت موش صحرائی

گروه‌ها	تیمار	غلظت موثر یا IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	درصد شل‌کنندگی عضلانی	P value
۱	گروه فنیل‌افرین + غلظت‌های تجمعی اسانس TAEO	54 ± 4	93 ± 5	$P < 0/05$
۲	گروه کلریدپتاسیم + غلظت‌های تجمعی اسانس TAEO	49 ± 3	104 ± 4	$P < 0/05$
۳	گروه نیفدیپین + غلظت‌های تجمعی اسانس TAEO	53 ± 3	18 ± 3	$P < 0/05$

بحث

در مطالعه پیش رو برای اولین بار اثر شل‌کنندگی عروق و مکانیسم عمل TAEO بر آنورت سینه‌ای موش صحرایی بررسی شده است. پیش از این اثرات دارویی مختلف *T. ammi* نظیر ضدقارچ، ضد میکروب، آنتی‌اکسیدانی، سیتوتوکسیک، هایپولیپیدمی، ضد فشارخون، ضد اسپاسم، ضد سنگ‌های مجاری ادراری، مدر، ضد سرفه، ضد انگل، ضد کرم، ضد فیلاریا و شل‌کنندگی برونش‌ها ثابت شده است (۲۰ و ۲۱). اسانس روغنی موجود در دانه‌های *T. ammi* به میزان ۴/۵٪ حجمی وزنی بر پایه وزن خشک ارزیابی گردید، در حالیکه سایر محققان میزان آنرا تا ۰/۵٪ اسانس در تحقیقات مختلف گزارش کرده‌اند (۲۰ و ۱۸).

اثرات پرفشاری خون، ضد اسپاسم و گشادکنندگی برونشی عصاره آبی و متانولی دانه‌های *T. ammi* جهت تایید کاربردهای سنتی آن مطالعه گردیده است. همچنین مشاهده گردید که عصاره *T. ammi* موجب کاهش وابسته به دوز فشار خون و مهار انقباض برونش‌ها می‌گردد (۱۳). *Gilani* و همکاران فعالیت شل‌کنندگی آنرا در مطالعه‌ای روی موش صحرایی تحت بیهوشی در حضور تعدادی مهارکننده تایید کرده و این فرضیه را مطرح کردند که فعالیت آن ممکن است از طریق مهار کانال‌های کلسیم رخ دهد (۱۳).

در بررسی که روی اسانس یا روغن فرار *T. ammi* انجام شد، فعالیت معنی دار ضد اسپاسمی روی انقباضات ناشی از استیل‌کولین بر ایلئوم موش اثبات گردید (۱۶). در مطالعه *Boskabady* و همکاران اثر شل‌کنندگی و آنتی‌کولینرژیک *T. ammi* در نای خوکیچه هندی مورد تایید قرار گرفت (۴). *Boskabady* و همکاران، در مطالعه‌ای دیگر اثر قوی *T. ammi* روی عضلات صاف نای و برونش‌ها را نشان دادند، که مکانیسم آن بعلت اثر مهاری تیمول روی گیرنده‌های هیستامینی و اثر تحریکی آن روی گیرنده‌های بتا آدرنرژیک پیشنهاد شد (۶ و ۷). همچنین *T. ammi*، روی گیرنده‌های H1

هیستامینی عضله صاف نای خوکیچه هندی اثر آنتاگونیست رقابتی نشان داد، اگرچه اثر آن کمتر از کلرفنیرامین ارزیابی گردید (۵).

در مطالعه *Gilani* و همکاران اثر شل‌کنندگی برونشی عصاره دانه‌های *T. ammi* در حضور پتاسیم با غلظت بالا و کارباکول روی نای خوکیچه هندی ارزیابی گردید. نتایج، اثر شل‌کنندگی وابسته به دوز ۱-۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با احتمال ارتباط مسدودکنندگی کانال‌های کلسیم را اثبات کرد (۱۳).

گزارشی مبنی بر اثر شل‌کنندگی عصاره *T. ammi* بر روی انقباضات روده کوچک به علت مکانیسم‌های ممکن از جمله آنتاگونیسم کلسیم، باز کردن کانال‌های پتاسیمی و مهار فسفودی‌استراز وجود دارد (۱۴). در بررسی دیگری، یافته‌ها حاکی از آن بود که اسانس در غلظت‌های بالای ۰/۰۰۲٪ سبب کاهش انقباض ناشی از استیل‌کولین می‌شود. اثر شل‌کنندگی مشاهده شده در این بررسی، احتمالاً بعلت وجود تیمول رخ داده است که ماده اصلی اسانس روغنی محسوب می‌شود (۱۵). علاوه بر این، اثر مهارکنندگی *T. ammi* روی انقباض‌های ناشی از پتاسیم بر روی روده کوچک خرگوش در طول استفاده از عصاره آن مشاهده شده است (۱۰).

آزمایشات بافتی انجام شده در این تحقیق نشان داد پیش تیمار با اسانس *T. ammi* توانست به‌طور موثری انقباضات ناشی از فنیل‌افرین و کلریدپتاسیم را مهار کند. گزارش شده است که انقباض عروقی القایی با فنیل‌افرین با تحریک گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک جفت شده با *G Protein* انجام می‌گیرد، در حالیکه کلریدپتاسیم اثرش را با استفاده از کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ و آزادی کلسیم از شبکه سارکوپلاسمی انجام می‌دهد. در هردو مورد، اثر عمده افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی از طریق ورود کلسیم می‌باشد (۲۲). بنابراین فعالیت شل‌کنندگی *T. ammi* ممکن است از طریق مسدود کردن کانال‌های کلسیم انجام گیرد. در

طریق مسدود کردن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L مهار می‌کند.

بر اساس آزمایشات انجام شده، فعالیت گشادکنندگی عروق اسانس گیاه *T. ammi* در این مطالعه تایید گردید، درحالی‌که مکانیسم اثر آن را با توجه به عناصر مختلف تشکیل دهنده‌ی روغن‌های فرار، نمی‌توان تنها به مسدودکنندگی کانال‌های کلسیمی محدود کرد. از این رو، مطالعات بیشتری جهت یافتن مسیرهای فعالیت فارماکولوژیکی در ارتباط با اثر وازودیلاتوری TAEO و نقش سایر عوامل و مکانیسم‌های تنظیم‌کننده مورد نیاز است.

فهرست منابع

1. Aftab, K., Usmanghani, K. (1995): Blood pressure lowering action of active principle from *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague. *Phytomed.* 2(1):35-40.
2. Asif, H.M., Sultana, S., Akhtar, N. (2014): A panoramic view on phytochemical, nutritional, ethnobotanical uses and pharmacological values of *Trachyspermum ammi* Linn. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 4: S545-S553.
3. Begrow, F., Engelbertz, J., Feistel, B., Lehnfeld, R., Bauer, K., Verspohl, E.J. (2010): Impact of thymol in thyme extracts on their antispasmodic action and ciliary clearance. *Planta. Med.* 76(4):311-8.
4. Boskabady, M., Talebi, M. (1999): Bronchodilatory and anticholinergic effects of *Carum carvi* on isolated guinea pig tracheal chains. *Med. J. Islam. Rep. Iran.* 12 (4): 345-351.
5. Boskabady, M., Shaikhi, J. (2000): Inhibitory effect of *Carum copticum* on histamine (H 1) receptors of isolated guinea-pig tracheal chains. *J. Ethnopharmacol.* 69(3): 217-227.
6. Boskabady, M., Ramazani, M., Tabei, M. (2003): Relaxant effects of different fractions of essential oil from *Carum copticum* on guinea pig tracheal chains. *Phytother. Res.* 17(10): 1145-1149.

نتیجه این فرضیه مطرح گردید که روغن فرار *T. ammi* ورود کلسیم را از طریق کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ سلول-های عضله صاف دیواره عروق کاهش می‌دهد. از آنجا که الگو و درصد اثرات مهاری اسانس *T. ammi* مشابه با مسدودکننده‌های کانال کلسیم بود، در مطالعه حاضر مقایسه‌ای بین این اثرات با استفاده از نیفدیپین و اسانس *T. ammi* انجام گردید.

نیفدیپین یک مهارکننده اختصاصی کانال‌های کلسیم نوع L است که در انواع مختلف عضلات صاف، مهارکننده‌های کانال‌های کلسیم مانند نیفدیپین بصورت قوی افزایش غلظت کلسیم ناشی از کلرید پتاسیم را مهار می‌کنند (۲۲). همانطور که مشاهده گردید، پیش تیمار حلقه‌های آنورتی با نیفدیپین سبب کاهش درصد شل‌کنندگی اسانس *T. ammi* از ۹۳ به ۱۸ درصد گردید که بیان‌کننده این است که نیفدیپین با اسانس *T. ammi* بر روی جایگاه‌های اتصال کانال‌های کلسیمی رقابت کرده و باعث عدم بروز فعالیت شل‌کنندگی عروقی ناشی از اسانس گردیده است که پیش از این، در گروه‌های تیمار اثبات گردید. Aftab و همکاران گزارش دادند که *T. ammi* یک نقش برجسته در ضربان قلب و فشار خون دارد، زیرا تیمول سبب افت فشار خون و ضربان قلب گردید (۱). همچنین در مطالعه‌ای، اثر یونوتروپیک منفی در اثر تجویز ۱۰-۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمول در موش‌ها منجر به کاهش فشار خون گردید. در نتیجه اثر مسدودکنندگی کانال‌های کلسیمی پیشنهاد گردید (۱۳). علاوه بر این در سایر مطالعات اثر ضد اسپاسمی تیمول و پیش‌سازهای آن روی نای موش نشان داده شده است (۳، ۷ و ۱۸). اگرچه ورود کلسیم به سلول‌های عضلانی صاف را نمی‌توان تنها به فعال شدن کانال‌های کلسیم نوع L که حساس به بلاک‌های کانال‌های کلسیمی هستند، نسبت داد، بلکه آزادی کلسیم و ورود آن از طریق کانال‌های غیر از L هم در این امر نقش دارد (۲۲). بطور کلی نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌دهد که اسانس *T. ammi* ورود کلسیم خارج سلولی را از

7. Choudhury, S. (2010): Composition of the seed oil of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague from Northeast India. *J. Essent. Oil. Res.* 10(5): 588-590.
8. Cowan, M.M. (1999): Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12(4): 564-582.
9. Dashti-Rahmatabadi, M.H., Hejazian, S.H., Morshedi, A., Rafati A. (2017): the analgesic effect of *Carumcopticum* extract and morphine on phasic pain in mice. *J. Ethnopharmacol.* 109(2):226-8.
10. Dwivedi, S., Mishra, R., Alava, S. (2012): Phytochemistry, Pharmacological studies and Traditional benefits of *Trachyspermum ammi* (Linn.) Sprague. *Int. J. Pharm. Life. Sci.* 3(5):23-32.
11. Européenne, Pharmacopeia. (1996): Conseil de l'Europe. Maisonneuve SA Editions, Sainte Ruffine. 45-49.
12. Ghimire, B.K., Seong, E.S., Kim, E.H., Ghimeray, A.K., Yu, C.Y., Ghimire B.K. (2011): A comparative evaluation of the antioxidant activity of some medicinal plants popularly used in Nepal. *J. Med. Plants. Res.* 5(10):1884-91.
13. Gilani, A., Jabeen, Q., Ghayur, M., Janbaz, K., Akhtar, M. (2005): Studies on the antihypertensive, antispasmodic, bronchodilator and hepatoprotective activities of the *Carumcopticum* seed extract. *J. Ethnopharmacol.* 98(1):127-35.
14. Hejazian, S., Morowatisharifabad, M., Mahdavi, S. (2007): Relaxant effect of *carumcopticum* on intestinal motility in Ileum of rat. *World. J. Zool.* 2(2): 15-18.
15. Hejaziandash, S.H., Sepehri, H., Dashti-R, M.H., Mahdavi, S.M., Bagheri, S.M., Morshedi, A. (2011): Does essential oil of *Carumcopticum* affect acetylcholine-induced contraction in isolated rats Ileum. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 5(12):1432-5.
16. Hejazian, S.H., Bagheri, S.M., Safari, F. (2014): Spasmolytic and anti-spasmodic action of *Trachyspermum ammi* essence on rat's ileum contraction. *North. Am. J. Med. Sci.* 6(12): 643.
17. Javed, S., Shahid, A.A., Haider, M.S., Umeera, A., Ahmad, R., Mushtaq, S. (2012): Nutritional, phytochemical potential and pharmacological evaluation of *Nigella Sativa* (Kalonji) and *Trachyspermum Ammi* (Ajwain). *J. Med. Plants. Res.* 6 (5):768-75.
18. Minija, J., Thoppil, J. (2002): Essential oil composition of *trachyspermum ammi* (L.) sprague from South India. *Indian. J. Pharm. Sci.* 64(3): 250-251.
19. National Research Council. (2010): Guide for the care and use of laboratory animals. National Academies Press.
20. Platel, K., Srinivasan, K. (2001): Studies on the influence of dietary spices on food transit time in experimental rats. *Nutrition. Res.* 21(9): 1309-1314.
21. Sadgrove, N., Jones, G. (2015): A Contemporary Introduction to Essential Oils: Chemistry, Bioactivity and Prospects for Australian Agriculture. *Agric.* 5(1): 48-102.
22. Damiani, C.E.N., Rossoni, L.V. and Vassallo, D.V., (2003): Vasorelaxant effects of eugenol on rat thoracic aorta. *Vascular Pharmacol.* 40(1): 59-66.

