فعالیت مسدودکنندگی کانال کلسیم اسانس *Trachyspermum ammi* بر آئورت سینه‌ای موش صحرایی 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 آئورت در شرایط برون‌تنی مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف از این مطالعه بررسی فعالیت آنتاگونیستی اسانس Trachyspermum ammi بر کانال‌های کلسیم عضله صاف آئورت می‌باشد. اسانس گیاه توسط سیستم کلونجر به میزان ٪٤/٥ حجمی وزنی بدست آمد. جهت ارزیابی فعالیت اسانس Trachyspermum ammi در شل کردن آئورت موش صحرایی، اثر غلظت‌های مختلف اسانس بر روی آئورت منقبض شده توسط فنیل افرین (۱میکرومول) و کلرید پتاسیم(٦٠ میلی مول) ارزیابی شد. غلظت تجمعی 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 مهاری اسانس T. ammi روی حلقه‌های آئورت پیش انقباضی با کلرید پتاسیم و فنیل افرین بطور معناداری در حضور نیفدیپین (۱ میکرومول بر میلی‌لیتر) کاهش یافت که نشان‌دهنده‌ی 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 اثرشل‌کنندگی اسانس T. ammi روی آئورت موش صحرایی وابسته به مهار ورود کلسیم خارج سلولی از طریق مسدود کردن کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ صورت می‌گیرد.

واژگان کلیدی: *زنبان، شل‌کنندگی عضلانی، آئورت، موش*

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۱٦

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 ابـزارهـای درمان جایگزین آن، استفاده از گیاهـان دارویی جهت شل‌کردن 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 احتمالا 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 Ajwain، Ajowan یا Carumcopticum 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 سنتی برونشیت، آرتریت، کولیک، اسهال وحتی سرماخوردگی ساده با علائم آنفولانزا و سردرد استفاده می‌کنند(۱۰و۲).

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 (۱۹و٤)، اثر مهارکننده گیرنده‌های هیستامین(٤)، ضد فشار خون، شل‌کنندگی و گشادکنندگی برونش‌ها(۱۰)، محافظت از کبد(۱۳)، ضددرد(۹)، ضدالتهاب(۱۰) و آنتی‌اکسیدانی(۱۲) عصاره دانه‌های *T. ammi* انجام شده است.

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

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 احتمالا بعلت اثر آنتاگونیستی کلسیم، باز کردن کانال‌های پتاسیم و مهار فسفو-دی‌استراز ایجاد می‌گردد(١٦و١٤). همچنین در مطالعه‌ای دیگر اثر ضداسپاسم عصاره این گیاه به وجود مقادیر بالای تیمول آن نسبت داده شده است(١٥). از یک سو بعلت 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 معمولا دارای تعداد بیشتری مولکول‌های فعال دارویی شامل ترپنوئیدها، بنزنوئیدها، فنیل‌پروپانوئیدها 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 برآئورت سینه‌ای موش صحرایی نژاد ویستار در شرایط برون‌تنی پس از پیش‌انقباض با دو منقبض‌کننده عمده (کلریدپتاسیم و فنیل‌افرین) 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 ١٣٩٥ 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 محیطی با دمای ٢٥ الی ٣٠ درجه سانتیگراد خشک شده و سپس بصورت پودر در آورده شدند.

٢٠٠گرم از پودر خشک شده در دستگاه تمام شیشه‌ای نوع کلونجر بر طبق روش پیشنهاد شده توسط European Pharmacopeia در معرض تقطیر آبی قرار گرفت(١١). 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 ٤درجه سانتیگراد جهت انجام آزمایش‌های بعدی ذخیره گردید.

داروها و محلول‌ها

داروهایی که در این تحقیق استفاده شدند، شامل نیفدیپین، دی‌متیل‌سولفوکساید، فنیل‌افرین، کلریدپتاسیم، کتامین‌هیدرو-کلراید و زایلازین (بایر، آلمان) بودند. اسانس *T. ammi* به صورت محلول ١٠میلی‌گرم در دی‌متیل‌سولفوکساید٥٠٪ (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 ٤٠٪ حل شده و قبل از انجام آزمایشات از عدم تاثیر آن روی انقباضات و نتایج اطمینان حاصل شد. ترکیب محلول Krebs-Henseleit(pH:٧/٤) جهت استفاده روی بافت‌های مورد نظر مطابق ترکیب ذیل تهیه گردید:

کلریدسدیم(١١٨ میلی‌مول)، کلرید پتاسیم(٤/٧ میلی‌مول)، کلرید کلسیم(٢/٥ میلی‌مول)، سولفور منیزیم(١/٢ میلی‌مول)، مونوپتاسیم فسفات (١/١٧ میلی‌مول)، بی‌کربنات سدیم (٢٠ میلی‌مول)، EDTA (٠/٠١ میلی‌مول) و گلوکز (١١ میلی‌مول).

حیوانات آزمایشگاهی

حیوانات آزمایش شده شامل موش‌های ویستار و وزن ٢٠٠–١٨٠ گرم، عاری از پاتوژن، تکثیر شده در انستیتو پاستور ایران و تغذیه شده بر اساس رژیم استاندارد آزمایشگاهی و دسترسی

آزاد به آب و غذا بودند. این موش‌ها در دمای محیط تحت ۱۲ ساعت چرخه تاریکی ـ 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 به‌صورت عرضی به بخش‌های حلقوی استوانه‌ای به عرض ۲ الی ۳ میلی‌متر بریده شد و بلافاصله در محلول بافر کربس 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) پرشده با ۲۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی در دمای ۳۷درجه 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. تانسیون استراحت به‌میزان 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 TAEOبه‌صورت تجمعی با غلظت‌های مختلف پس از ایجاد پیش انقباض با فنیل–افرین و کلریدپتاسیم افزوده شد. همچنین حامل DMSOبرای 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 برون‌تنی، ابتدا TAEO بصورت تجمعی با غلظت‌های مختلف ۲۰ تا ۱۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر (پس از ایجاد پیش انقباض با فنیل‌افرین ۱ میکرومول و کلریدپتاسیم ٦۰ میلی‌مول) افزوده شد. در ادامه تغییرات تانسیون 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 بلاکرهای کانال‌های کلسیمی، اثرات مهاری 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.

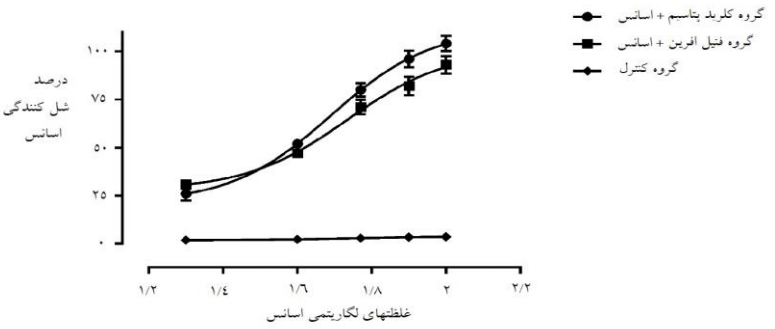
تحلیل آماری

غلظت موثر ۵۰٪ اسانس T. ammi با نرم‌افزار تحلیل آماری Graphpad Prism بدست آمد. اطلاعات و داده‌های آزمایشات محتلف روی بافت‌ها نیز بصورت میانگین ± انحراف معیار از میانگین (SEM) بیان گردید. همچنین اختلاف معنی دار بین گروه‌ها با آزمون یک‌طرفه ANOVA براساس$P < ۰/۰۵$ 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 حد۱۰٤/٤٪ و۵ ±۹۳٪ در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رسید. همانطور که در نمودار۱ 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

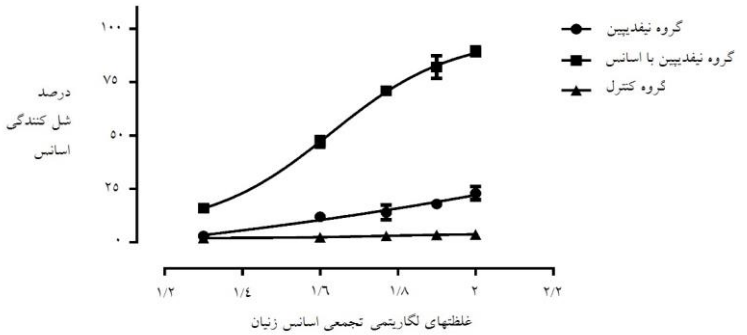
حداکثری بین اثر شل‌کنندگی ناشی از انقباض با فنیل‌افرین یا کلریدپتاسیم نشان نداد(P <۰/۰۵).



نمودار ۱- اثر گشادکنندگی غلظت‌های مختلف TAEO بر روی آئورت‌های با اندوتلیوم منقبض‌شده توسط فنیل‌افرین و کلریدپتاسیم

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

در مراحل تکمیلی آزمایشات، پاسخ شل‌کنندگی اسانس T. ammi بطور معناداری پس از پیش تیمار حلقه‌های آئورتی با نیفدیپین کاهش یافت که در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معناداری نشان داد(P <۰/۰۵)(نمودار۲).



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 آئورت موش صحرایی

گروه‌ها	تیمار	غلظت موثر یا IC_{50} (µg/mL)	درصد شل‌کنندگی عضلانی	P value
۱	**گروه فنیل‌افرین+ غلظت‌های تجمعی اسانس TAEO**	٥٤ ± ٤	۹۳ ± ٥	P <۰/۰٥
۲	**گروه کلریدپتاسیم+ غلظت‌های تجمعی اسانس TAEO**	٤۹ ± ۳	۱۰٤ ± ٤	P <۰/۰٥
۳	**گروه نیفدیپین+ غلظت‌های تجمعی اسانس TAEO**	٥۳ ± ۳	۱۸ ± ۳	P <۰/۰٥

بحث

در مطالعه پیش رو برای اولین بار اثر شل‌کنندگی عروق و مکانیسم عمل TAEO بر آئورت سینه‌ای موش صحرایی بررسی شده است. پیش از این اثرات دارویی مختلف *T. ammi* نظیر ضدقارچ، ضد میکروب، آنتی‌اکسیدانی، سیتوتوکسیک، هایپولیپیدمی، ضدفشارخون، ضد اسپاسم، ضد سنگ‌های مجاری ادراری، مدر، ضد سرفه، ضد انگل، ضد کرم، ضد فیلاریا وشل‌کنندگی برونش‌ها ثابت شده است(۱۰و۲). اسانس روغنی موجود در دانه‌های *T. ammi* به میزان ٤/٥٪ حجمی وزنی بر پایه وزن خشک ارزیابی گردید، در حالیکه سایر محققان میزان آنرا تا ٥٪اسانس در تحقیقات مختلف گزارش کرده‌اند(۲۰و۱۸).

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(١٦). در مطالعه Boskabady و همکاران اثر شل‌کنندگی و آنتی‌کولینرژیک T.ammi در نای خوکچه هندی مورد تایید قرار گرفت(٤). 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(٦و٤). همچنین T. ammi، روی گیرنده‌های H1 هیستامینی عضله صاف نای خوکچه هندی اثر آنتاگونیست رقابتی نشان داد، اگرچه اثر آن کمتر از کلرفنیرامین ارزیابی گردید(٥).

در مطالعه Gilani و همکاران اثر شل‌کنندگی برونشی عصاره دانه‌های T. ammi در حضور پتاسیم با غلظت بالا و کارباکول روی نای خوکچه 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(١٤). در بررسی دیگری، یافته‌ها حاکی از آن بود که اسانس در غلظت‌های بالای ۰/۰۰۲٪ سبب کاهش انقباض ناشی از استیل‌کولین می‌شود. اثر شل-کنندگی مشاهده شده در این بررسی، احتمالا بعلت وجود تیمول رخ داده است که ماده اصلی اسانس روغنی محسوب می‌شود(١٥). 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 مهارکند. 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 کانال-های 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

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 مسدود کننده‌های کانال کلسیم بود، در مطالعه حاضر مقایسه‌ای بین این اثرات با استفاده از نیفدیپین و اسانس T. ammi انجام گردید.

نیفدیپین یک مهار کننده 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 آئورتی 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 ۱۰-۱میلی‌گرم 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(۱۸و۳،۷). اگرچه ورود کلسیم به سلول‌های عضلانی صاف را نمی توان تنها به فعال شدن کانال‌های کلسیم نوع L که حساس به بلاکرهای 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 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، نمی توان تنها به مسدودکنندگی کانال‌های کلسیمی محدود کرد. از این رو، مطالعات بیشتری جهت یافتن مسیرهای فعالیت فارماکولوژیکی در ارتباط با اثر وازودیلاتوریTAEO 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 Trachyspermumammi (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 Trachyspermumammi Linn. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 4: S545-S553.
3. Begrow, F., Engelbertz, J., Feistel, B., Lehnfeld, R., Bauer, K., Verspohl, EJ. (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 Carumcarvi on isolated guinea pig tracheal chains. Med. J. Islam. Rep. Iran. 12 (4): 345-351.
5. Boskabady, M., Shaikhi, J. (2000): Inhibitory effect of Carumcopticum 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 Carumcopticum on guinea pig tracheal chains. Phytother. Res. 17(10): 1145-1149.

7. Choudhury, S. (2010): Composition of the seed oil of Trachyspermumammi (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, SH., 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 Trachyspermumammi (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, BK., Seong, E.S., Kim, EH.,Ghimeray, A.K., Yu, CY., Ghimire BK. (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. Hejazianndash, SH., 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 Trachyspermumammi 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 TrachyspermumAmmi (Ajwain). J. Med. Plants. Res.6 (5):768-75.
18. Minija, J., Thoppil, J. (2002): Essential oil composition of trachyspermumammi (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.