

بررسی مکانیسم احتمالی اثر اتساعی گیاه زنیان بر تراشه جدا شده خوکچه هندی

محمد حسین بسکابادی، محمد امین کراچیان
دانشگاه علوم پزشکی مشهد، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

چکیده

در مطالعات قبلی انجام شده، اثر اتساعی نسبتاً قوی و اثرات ضد کلینرژیک، تحریکی گیرنده‌های بتا دو-آدرنرژیک و ضد هیستامینی برای گیاه زنیان بر روی زنجیره جدا شده تراشه خوکچه هندی نشان داده شده است. در این مطالعه مکانیسم‌های احتمالی دیگر مسئول اثر برونکودیلاتوری گیاه زنیان به جز اثرات فوق مورد بررسی قرار گرفتند. اثر برونکودیلاتوری عصاره الکلی و اسانس گیاه زنیان در مقایسه با توفیلین (شاهد مثبت) و اتانول (شاهد منفی) بر زنجیره منقبض شده تراشه جدا شده خوکچه هندی در دو حالت غیر اینکوبه و اینکوبه با آتروپین، پروپرانولول و کلرفنیرامین مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین اثر اتساعی غلظت‌های افزایشنده اسانس گیاه زنیان با توفیلین و ایزوپرنالین مقایسه شد.

نتایج مطالعه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین اثر برونکودیلاتوری عصاره الکلی و اسانس گیاه زنیان بر بافت غیر اینکوبه و اینکوبه وجود نداشت. از طرفی رابطه نزدیک و معنی‌داری بین اثر اتساعی غلظت‌های افزایشنده اسانس گیاه زنیان با توفیلین وجود داشت.

نتایج بدست آمده مؤید آن است که مکانیسم اصلی اثر اتساعی گیاه زنیان بر زنجیره تراشه احتمالاً اثرات ضد کلینرژیک، تحریک گیرنده‌های بتا دو-آدرنرژیک و ضد هیستامینی گیاه نمی‌باشد و مکانیسم‌های محتمل دیگری از جمله اثر شبه گزانتینی می‌تواند مسئول اثر برونکودیلاتوری این گیاه باشد.

واژه‌های کلیدی: زنیان، اثر اتساعی، تراشه، خوکچه هندی

(Thymol) و مواد دیگر نظیر کارواکرول (Carvacrol)

می‌باشد [۱].

دانه‌های گیاه زنیان دارای خواص مدر، ضد تهوع، ضد درد، ضد آسم و ضد تنگی نفس می‌باشد. همچنین اثر درمانی بر بیماری‌های جلدی، عصبی و ادراری تناسلی

مقدمه

زنیان گیاهی است از تیره چتریان، یک ساله با گل‌های سفید رنگ و دانه های قهوه‌ای که در نواحی هند شرقی، ایران و مصر می‌روید. دانه‌های آن بویی شبیه تیمول دارد و شامل اسانسی مشتمل بر ۳۵-۵۰٪ تیمول

ماه ۱۳۷۶ جمع آوری شد. گیاه پس از جمع آوری در شرایط مناسب (محل سایه و خنک) و با جریان ملایم باد خشک شد. سپس میوه گیاه جداسازی و توسط آسیاب برقی تا حد مناسبی پودر گردید و این پودر جهت تهیه عصاره و اسانس مورد استفاده قرار گرفت.

عصاره الکلی با روش سوکسله با استفاده از ۵۰g پودر گیاه و ۳۰۰ml اتانل ۹۶° به عنوان حلال تهیه گردید. سپس عصاره بدست آمده به وسیله دستگاه دوار تقطیر در خلاء تقریباً خشک شد و عصاره خشک در اتانل حل گردید بطوریکه حاوی ۲۳۷/۷٪ از ترکیبات میوه زنیان بود.

برای تهیه اسانس از مقدار ۱۰۰g پودر زنیان و یک لیتر آب مقطر، توسط دستگاه اسانس گیری استفاده شد. اسانس بدست آمده در اتانل حل شد بطوریکه حاوی ۱/۳۷/۷٪ مواد گیاه بود.

آماده کردن بافت : خوکچه‌های هندی (همگی نر و بین ۶۰۰ تا ۸۰۰ گرم) به وسیله نخاعی کردن کشته شده و تراشه به ده قطعه (هر قطعه حاوی ۲-۳ حلقه غضروفی) تقسیم شد و قطعه‌ها بهم گره زده شد. سپس غضروف هر حلقه در ناحیه مقابل عضله ترکانالیس قطع گردید تا زنجیره تراشه حاصل گردد [۸،۱۲]. سپس زنجیره تراشه داخل دستگاه حمام بافتی (Washington, Sheerness, Kent, U.K. Organ bath 61300, BioScience, Palmer) حاوی ۱۰ml محلول Krebs-Henseleit که توسط مخلوط گازی ۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی اکسید کربن هوادهی می‌شد و درجه حرارت آن ۳۷° بود، تحت کشش ۱g نصب گردید. ترکیبات محلول کربس بر حسب میلی مول عبارت بود از: $\text{NaCl}=120$, $\text{KCL}=\frac{4}{72}$, $\text{KH}_2\text{PO}_4=\frac{1}{20}$, $\text{CaCl}_2=\frac{2}{50}$ و $\text{NaHCO}_3=25$

$\text{Dextrose}=11$ [۶]. جهت ایجاد تطابق بافتی مدت یک ساعت به بافت استراحت داده شد و در طی این مدت هر

دارد. عصاره آبی این گیاه به طور وسیع در درمان سرماخوردگی اطفال به کار می‌رود و در اسهال از دانه‌های برشته آن یا عصاره آبی استفاده می‌شود [۱].

در مطالعه قبلی، اثر برونکودیلاتوری نسبتاً قوی برای میوه گیاه زنیان نشان داده است [۴]. مکانیسم‌های اصلی مسئول بروز اثر برونکودیلاتوری (اثر اتساعی بر زنجیره تراشه) به قرار زیر است:

۱- تحریک گیرنده‌های بتا آدرنژیک [۱۰]
۲- اثر ضد کلینژیک مخصوصاً مهار گیرنده‌های M2 [۹]

۳- اثر مهاری بر گیرنده‌های هیستامینی H_1 [۱۵]

۴- اثر گزانتینی [۱۴]

۵- اثر مهاری بر سیستم Non-Adrenergic Non-Cholinergic (NANC) یا اثر تحریکی بر سیستم مهاری آن [۱۱]

۶- سایر مکانیسم‌ها شامل اثر مهاری بر کانال‌های کلسیمی. اثر بازکنندگی کانال‌های پتاسیمی و اثر مهاری بر فسفودی استراز [۳،۷،۱۳،۱۶]

همچنین مطالعات قبلی اثر ضد کلینژیک [۴]، اثر تحریکی بر گیرنده‌های آدرنژیک [۵] و اثر مهاری بر گیرنده‌های هیستامینی H_1 [۶] را برای این گیاه نشان داده است. در مطالعه حاضر نقش اثر تحریکی گیاه بر گیرنده‌های آدرنژیک، اثر ضدکلینژیک، اثر مهاری بر گیرنده‌های هیستامینی H_1 و اثر گزانتینی آن در بروز اثر برونکودیلاتوری عصاره الکلی و اسانس زنیان مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره‌ها : گیاه زنیان (خردانه) از مزارع روستای عباس آباد هادیف تربت حیدریه در روز بیست شهریور

(۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میکرولیتر از اسانس تهیه شده)، چهار غلظت افزایشنده تئوفیلین (۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی لیتر از محلول ۱mM) و چهار غلظت افزایشنده ایزوپرنالین (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میکرولیتر از محلول ۱mM، بر بافت اینکوبه با یک میکرومول آتروپین و یک میکرومول کلرفنیرآمین بررسی شد. در این مرحله نیز انقباض زنجیره تراشه توسط ۶۰ میلی مول کلریدپتاسیم ایجاد و زمان اثر هر یک از وقت‌ها ۷ دقیقه بود (n=۴).

سه مرحله مختلف اثر برونکودیلاتوری بر سه سری متفاوت زنجیره تراشه مطالعه شد و آزمایش‌های هر مرحله بطور اتفاقی و با یک ساعت استراحت بین هر دو آزمایش و شستشوی بافت هر ۱۵ دقیقه در ضمن استراحت انجام گردید. کلیه نتایج فوق بر روی کاغذ دوده اندود کیموگراف (ET-G-Boulitte-Paris) رسم و پس از ثبوت توسط محلول فیکساتور مورد محاسبه قرار گرفت.

محاسبه آماری: نتایج اثر اتساعی در هر مرحله بصورت میانگین \pm خطای معیار بیان گردید. مقایسه اثر برونکو دیلاتوری عصاره با اتانول و تئوفیلین توسط آزمون آماری paired t-test و مقایسه اثر برونکودیلاتوری در دو مرحله مختلف به وسیله آزمون آماری unpaired t-test ارزیابی شد. همچنین رابطه بین اثر برونکودیلاتوری ۴ غلظت افزایشنده اسانس، تئوفیلین و ایزوپرنالین توسط آزمون Least Square Regression محاسبه گردید. میزان $p < 0/05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل بر بافت اینکوبه با آتروپین، کلرفنیرآمین و پروپرانولول نشان داد که اثر اتساعی (برونکودیلاتوری) عصاره الکلی و اسانس گیاه زنیان و

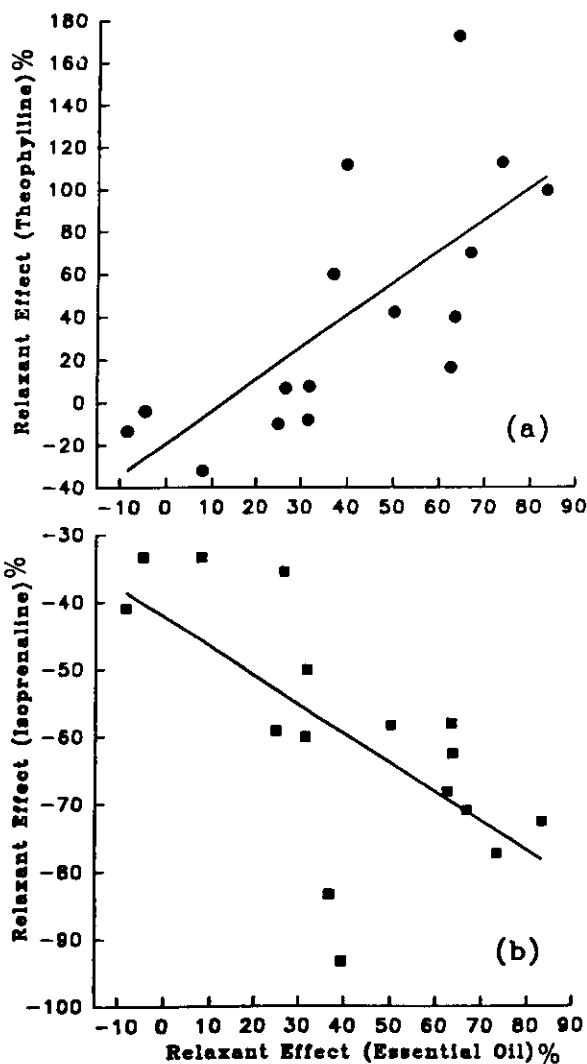
۱۵ دقیقه یک بار بافت مورد شستشو قرار گرفت.

بررسی اثر اتساعی: اثر اتساعی اتانول،

تئوفیلین، ایزوپرنالین، عصاره الکلی و اسانس زنیان بر اساس مطالعات قبل [۴، ۲] در سه مرحله مختلف مورد بررسی قرار گرفت. بطور خلاصه جهت بررسی اثر اتساعی هر محلول، ابتدا در زنجیره تراشه انقباض ایجاد شد. ۱۰ دقیقه پس از اضافه نمودن ماده منقبض کننده میزان تأثیر هر محلول ۷ دقیقه پس از اضافه شدن، بر بافت منقبض شده بصورت میزان درصد تغییر حداکثر انقباض محاسبه گردید. کاهش میزان انقباض حاصل از اضافه شدن محلول‌های مورد آزمایش (اتانول، تئوفیلین، ایزوپرنالین، عصاره الکلی و اسانس زنیان) بعنوان پاسخ اتساع برونشی (bronchodilator effect) و افزایش میزان انقباض به عنوان پاسخ تنگ کننده برونشی (broncho constrictor effect) بیان گردید. اثر اتساع برونشی بصورت میزان درصد مثبت و اثر انقباض برونشی بصورت میزان درصد منفی نشان داده شد.

در مرحله اول زنجیره تراشه توسط ۱۰ میکرومول متاکولین منقبض گردید در این مرحله فقط اثر اتساعی ۰/۵ ml عصاره الکلی و ۰/۰۰۵ ml اسانس زنیان مورد بررسی قرار گرفت (n=۸). در مرحله دوم در ضمن شستشوی سوم و چهارم در طی بررسی اثر اتساعی، بافت توسط یک میکرومول آتروپین، یک میکرومول کلرفنیرآمین و یک میکرومول پروپرانولول اینکوبه شد. همچنین در این مرحله انقباض به وسیله ۶۰ میلی مول کلریدپتاسیم حاصل و اثر اتساعی عصاره الکلی، اسانس زنیان (مقادیر عصاره و اسانس برابر مرحله اول)، ۰/۰۵ ml اتانول (به عنوان شاهد منفی) و ۰/۶ ml از غلظت ۱۶۷mM تئوفیلین (به عنوان شاهد مثبت) بررسی گردید (n=۸). در مرحله سوم اثر برونکودیلاتوری چهار غلظت افزایشنده

اینکوبه با آتروپین و پروپرانولول یک انحراف موازی در منحنی غلظت - پاسخ هیستامین نشان داد که حداکثر



شکل ۱- (a) رابطه بین اثر اتساعی ۴ غلظت مختلف اسانس میوه زنیان را با تئوفیلین $r=0/714$ ، $P<0/005$. **(b)** رابطه بین اثر اتساعی ۴ غلظت مختلف اسانس میوه زنیان با ایزوپرنالین $r=-0/665$ ، $P<0/01$ (n=4) اثر اتساعی (برونکودیلاتوری) عبارت است از میزان درصد اتساع زنجیره تراشه نسبت به حداکثر میزان انقباض حاصل از ۶۰ میلی مول کلراید پتاسیم. ایزوپرنالین اثر انقباضی بر زنجیره تراشه داشت یعنی موجب افزایش میزان انقباض حاصل از کلرید پتاسیم گردید.

تئوفیلین بطور معنی داری از اثر اتانول بیشتر بود (در هر سه مورد $P<0/001$). همچنین نتایج این مرحله از آزمایشات نشان داد که اثر اتساعی عصاره الکلی و اسانس گیاه زنیان نه تنها از تئوفیلین کمتر نبود بلکه بطور غیر معنی داری بیشتر بود (جدول ۱). مقایسه اثر اتساعی حاصل بر بافت اینکوبه و غیر اینکوبه نشان داد که اختلاف معنی داری بین اثر برونکودیلاتوری عصاره الکلی و اسانس گیاه زنیان بر بافت اینکوبه و غیر اینکوبه وجود ندارد (جدول ۲).

نتایج حاصل از مرحله سوم آزمایشات رابطه نزدیک و معنی داری بین اثر اتساعی غلظت‌های افزایشده اسانس گیاه زنیان و تئوفیلین نشان داد ($P<0/005$ ، شکل ۱-ا)، اما بین اثر اتساعی غلظت‌های افزایشده اسانس و ایزوپرنالین یک رابطه منفی معنی دار وجود داشت ($P<0/01$)، یعنی ایزوپرنالین اثر انقباضی بر بافت داشت (شکل ۱-ب).

بحث

در مطالعات قبلی انجام شده اثر اتساعی (برونکودیلاتوری) نسبتاً قوی برای عصاره‌های مختلف و اسانس زنیان نشان داده شده است. نتایج بررسی اثر ضد کولینرژیک نشان داد که عصاره‌ها و اسانس زنیان منحنی غلظت - پاسخ متاکولین را بطور چشم‌گیری به طرف راست منحرف نمود. این انحراف یک انحراف غیر موازی بوده و حداکثر پاسخ متاکولین در حضور عصاره‌ها و اسانس زنیان بدست نیامد. بنابراین نتایج این مطالعه نشان دهنده یک اثر آنتاگونیستی بر گیرنده‌های موسکارینی اما بیشتر از نوع غیر رقابتی بود [۴].

نتایج بررسی اثر ضد هیستامینی عصاره‌های سوکسله آبی، خیسانده، الکلی و اسانس زنیان بر بافت

جدول ۱- مقایسه اثر برونکودیلاتوری اسانس و عصاره الکلی میوه گیاه زنیان با اتانول (شاهد منفی) و تنوفیلین (شاهد مثبت) با بافت اینکوبه

مواد	mean ± S.E.M.	اختلاف آماری (p) با اتانول (شاهد منفی)	اختلاف آماری (p) با تنوفیلین (شاهد مثبت)
اسانس	۷۳/۹۶±۱۳/۸۶	P<۰/۰۰۱	NS
عصاره کلی	۷۱/۶۵±۱۶/۹۳	P<۰/۰۰۱	NS
اتانول	-۶۹/۱۹±۵/۴	-	-
تنوفیلین	۵۰/۰۷±۱۰/۸۴	P<۰/۰۰۱	-

NS = غیر معنی دار

جدول ۲- مقایسه اثر برونکودیلاتوری اسانس و عصاره الکلی میوه گیاه زنیان بر بافت اینکوبه با غیر اینکوبه

مواد	بافت غیر اینکوبه mean±S.E.M.	بافت اینکوبه mean±S.E.M.	اختلاف آماری (P)
اسانس	۵۳/۵۵±۷/۹۵	۷۳/۹۶±۱۳/۸۶	NS
عصاره الکلی	۳۸/۹۴±۵/۱۰	۷۱/۶۵±۱۶/۸۳	NS

NS = غیر معنی دار

گرفت تا مشخص گردد که آیا مکانیسم برونکودیلاتوری گیاه زنیان مهار گیرنده‌های موسکارینی، هیستامینی و تحریک گیرنده‌های آدرنرژیک است یا مکانیسم های دیگری نیز در اثر برونکودیلاتوری دخیل می‌باشند.

لازم به ذکر است که در آزمایشات غیر اینکوبه، انقباض زنجیره تراشه توسط متاکولین ایجاد شد ولی از آنجایی که در آزمایشات اینکوبه از آتروپین استفاده شده که یک ترکیب ضد موسکارینی است و داروهای پاراسمپاتومیمتیک مانند متاکولین را خنثی می‌سازد، توسط کلرید پتاسیم انقباض در زنجیره تراشه کوچکچه هندی ایجاد شد. همچنین چون قبلاً اثر اتساعی نسبتاً قوی برای عصاره‌ها و اسانس زنیان در مقایسه با شاهد منفی نشان داده شده بود [۴] در مطالعه حاضر در مرحله اول (بربافت غیر اینکوبه) از شاهد منفی استفاده نشد.

نتایج مطالعه اخیر هیچگونه اختلاف معنی داری

پاسخ نیز حاصل شده بود. این نتایج بیانگر اثر مهارى عصاره های سوکسله آبی، خیسانده، الکلی و اسانس زنیان بر گیرنده های هیستامینی H₁ با خاصیت اثر آنتاگونیست رقابتی است [۶].

بررسی اثر بتا - آدرنرژیکی مشخص نمود که عصاره الکلی زنیان یک اثر نسبتاً قوی تحریک کنندگی بر گیرنده‌های بتا آدرنرژیک دارد و برای اسانس نیز یک اثر ضعیف تر وجود داشت [۵].

با توجه به وجود اثر ضد کولینرژیکی، ضد هیستامینی و تحریکی گیرنده‌های بتا - آدرنرژیک گیاه زنیان، در این مطالعه اثر اتساعی (برونکو دیلاتوری) عصاره الکلی و اسانس این گیاه، که دارای بیشترین اثر برونکودیلاتوری بودند، مجدداً بر بافت اینکوبه با آتروپین پروپرانولول و کلرفنیرامین جهت مهار گیرنده های موسکارینی، آدرنرژیکی و هیستامینی مورد بررسی قرار

بین اثر برونکودیلاتوری اسانس و عصاره الکلی بر بافت اینکوبه در مقایسه با بافت غیر اینکوبه را نشان نداد (جدول ۲). به عبارت دیگر علی رغم بلوک گیرنده های موسکارینی، هیستامینی و آدرنرژیکی بافت، اثرات برونکودیلاتوری اسانس و عصاره الکلی زیان مشاهده گردید که اختلاف معنی داری با اثر اسانس و عصاره الکلی بر بافت غیر اینکوبه نداشت و حتی از اثر اتساعی بر بافت غیر اینکوبه بیشتر بود (NS) (جدول ۲).

همچنین آزمایشات بررسی اثر برونکودیلاتوری غلظت افزاینده اسانس، توفیلین و ایزوپرنالین بر بافت اینکوبه با آتروپین و کلرفنیرآمین نشان داد که رابطه نزدیک و معنی داری بین اثر اتساعی غلظت های افزاینده زیان و توفیلین وجود دارد. در صورتیکه بین اثر برونکودیلاتوری غلظت های افزاینده اسانس و ایزوپرنالین یک رابطه منفی وجود داشت (شکل های ۱-a، ۱-b).

این نتایج همگی نشان می دهند که اگر چه گیاه زیان دارای اثرات ضد کولینرژیکی، ضد هیستامینی و تحریکی گیرنده های بتا- آدرنرژیک است ولی این مکانیسم ها در بروز اثر برونکودیلاتوری این گیاه نقش زیادی ندارد. چون با وجود مهار این گیرنده ها نه تنها اثر برونکودیلاتوری حذف نشد و یا حتی کاهش نیافت بلکه افزایش نیز یافته است (جدول ۲).

از این رو می توان چنین استدلال کرد که اثر برونکودیلاتوری گیاه زیان به طور عمده به وسیله مکانیسم های دیگری غیر از مهار گیرنده های موسکارینی، هیستامینی، H_1 و اثر تحریکی بر گیرنده های بتا -

آدرنرژیک ایجاد می گردد. با توجه به اینکه اثر اتساعی عصاره الکلی و اسانس گیاه زیان به طور غیر معنی داری بیشتر از توفیلین بود و همچنین رابطه نزدیکی بین اثر اتساعی غلظت های افزاینده اسانس گیاه زیان و توفیلین وجود داشت. یکی از محتمل ترین مکانیسم های برونکودیلاتوری این گیاه می تواند اثر شبه گزانتینی آن باشد [۱۴].

سایر مکانیسم های احتمالی دیگر که می توانند باعث اثر برونکودیلاتوری گیاه زیان شوند، مکانیسم های ۵ و ۶ ذکر شده در مقدمه هستند.

لازم به ذکر است که در طی ۸ مورد آزمایش با شاهد منفی (اتانول) در تمامی موارد اثر انقباض بافتی مشاهده گردید که میزان آن $(69/19 \pm 5/4)$ قابل توجه بوده و آن را می توان احتمالاً مربوط به اثر مستقیم اتانول بر روی بافت و یا ادامه اثر انقباضی کلرید پتاسیم بر بافت فرض کرد.

بر اساس نتایج این مطالعه می توان چنین نتیجه گیری کرد که اگر چه گیاه زیان دارای اثر ضد کلینرژیکی، مهاری بر گیرنده های H_1 هیستامینی و اثر تحریکی بر گیرنده های بتا آدرنرژیکی است، ولی این مکانیسم ها در بروز اثر برونکودیلاتوری این گیاه نقش زیادی ندارد و یکی از مکانیسم های محتمل برای بروز اثر اتساعی این گیاه بر زنجیره تراشه خوکچه هندی ممکن است. اثر شبه گزانتینی گیاه باشد.

منابع

- [۱] رجحان، م ص، *شفا با گیاهان دارویی*، چاپ اول، انتشارات اترک، تهران، ۱۲۹-۱۲۶ (۱۳۶۱)
- [۲] بسکابادی م ح، نیکرو م، بررسی اثر اتساعی و آنتی کلینریژیکی گیاه هفت بند بر تراشه جدا شده خوکچه هندی، *مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی*، سال دوم (شماره ۱۰): ۷۳-۶۴.
- [3] Barnes, P.J., New therapeutic approaches *Br. Med. Bull*, 48 (1991) 213-247.
- [4] Boskabady, M. H., Rakhshandak, H., and Moetamed Shariati, V., Bronchodilatory and anticholinergic effects of *Carum copticum*, on isolated guinea-pig tracheal chain, *Med. J. Islam, Res.*, 11 (1998) 329-338.
- [5] Boskabady, M. H., and Moemeni A., Stimulatory effect of *Carum copticum* on beta2 adrenoceptors of isolated guinea-pig tracheal chains (accepted by) *Med, J. Islam, Rep, Iran*,
- [6] Boskabady, M. H., and Shikhi J., Inhibitory effect of *carum, copticum* on histamine (H₁) receptors of isolated guinea-pig tracheal chains, *Ethnopharmacol*, 69 (2000) 217-227.
- [7] Buckle, D.R., Arch, J.R.S., Boeing, N.E., FASTER, K. A. Taylor J.T., Taylor S.G., Shaw, D.J., Relaxant effect of potassium channel activators BRL39277 and pinacidil; on guinea-pig and human airway smooth muscle and blockade of their effect by glibenclamide and BRL 31660 *Pulmon, Pharmacol.*, 6 (1993) 77-86.
- [8] Holroyed, M.C., The influence of epithelium on the responsiveness of guinea-pig isolated trachea. *Br. J. Pharmacol.*, 87 (1986) 501-507.
- [9] Leonards, B., Rampart, M., And Herman A. G., Selective M₃ muscarine receptor inhibit smooth muscle contraction in rabbit trachea without increasing the release of acetylcholine *J. Pharmacol Exp. Ther.*, 263 (1992) 773-779.
- [10] Linden, A., Bergendal A., Uliman, A. Skogh, B. E., Lofdahl C.G., Salmeterol, formetrol, and salbutamol in the guinea-pig trachea differences in maximum relaxant effect and potency but not functional antagonism, *Thorax*, 48 (1993) 547-553.
- [11] Linden, A., Lofahl, C.G., Vilman, A. and Skoogh, B.E., Nonadrenergic, noncholinergic responses stabilize smooth muscles tone with and without parasympathetic activation in guinea-pig isolated airways *Eur, Respir, J.*, 6 (1993) 425-433.
- [12] Martin, C.A.E., Naline E., Bakdach, H., and Advenier, C. B₃ adrenoceptor agonist, BRL 37344 and SR 58611 A do not induce relaxation of human, sheep and guinea-pig airway smooth muscle in vitro, *Eur. Respir. J.*, 7 (1994) 1610-1615.
- [13] McCaig, D., De Jonckheere S., Effect of two Ca²⁺ modulators in normal and albumin sensitized guinea-pig trachea, *Eur. J. Pharmacol.*, 249 (1993) 53-63.
- [14] Meini, S., Ballati, L., Evangelista, S., Manzini, S., Isbufulline, a xanthine derivative, inhibits bronchoconstrictor responses produced by stimulation of capsaicin sensitive nerves in guinea-pig, in vitro and in vivo evidence, *Pulm, Pharmacol.*, 6 (1993) 279-286.
- [15] Popa, V.T., Bronchodilatory activity of an H₁ blocker chlorpheniramine, *J. Allergy Clin. Immuno.*, 59 (1977) 54-63.
- [16] Van Amsterdam, R.K.M., Merurs, H. et al., Role of phosphoinositid metabolism in functional antagonism of airway smooth muscle contraction by beta adrenoceptor agonist, *Eur. J. Pharmac.*, 172 (1989) 175-183.