

## بررسی اثر عصاره آبی گیاه بابونه (*MATRICARIA RECUTITA L.*) بر کولیت زخمی ناشی از اسید استیک در موش های صحرایی نر بالغ

یاسر معصومی اردکانی<sup>۱</sup>، مهدی عباس نژاد<sup>۲،۵\*</sup>، امین درخشانی<sup>۳</sup>، خدیجه اسماعیل پور بزنجانی<sup>۱</sup>، علی مصطفوی<sup>۳،۴</sup>

۱. زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

۳. گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

۴. هسته تحقیقاتی گیاهان دارویی، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

۵. هسته پژوهشی درد و التهاب، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

پذیرش: ۱۲ خرداد ۸۹

دریافت: ۱۵ اسفند ۸۸

### چکیده

**مقدمه:** کولیت زخمی (Ulcerative colitis) یک التهاب مزمن در روده بزرگ است. التهاب و زخم های لایه داخلی کولون در بیماران مبتلا به کولیت زخمی، به علل مختلفی چون دردهای شکمی، اسهال و خونریزی مقعدی منجر می شود. مطالعات قبلی نشان داده است که *Matricaria recutita* دارای یک سری اثرات فیزیولوژیکی از قبیل اثرات ضد انقباضی، ضد نفخ، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی می باشد. در این مطالعه اثر عصاره آبی این گیاه در مدل حیوانی القای کولیت به وسیله اسید استیک مورد بررسی قرار گرفت.

**روش ها:** ۵ گروه ۷ تایی از موش های صحرایی نر بالغ نژاد NMRI در محدوده وزنی ۲۸۰-۲۳۰ گرم مورد آزمایش قرار گرفتند. ۳ گروه، دوزهای متفاوت عصاره آبی بابونه (۳۰ mg/kg و ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg) و گروه چهارم حلال را از راه خوراکی دریافت کردند. آخرین گروه، به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. برای القای کولیت، موش های صحرایی به مدت ۳۶ ساعت در حالت گرسنگی نگهداری شدند و سپس تحت یک بی هوشی خفیف با اثر، میزان ۲ میلی لیتر اسید استیک ۴ درصد از طریق مقعد وارد کولون گردید. ۲۴ ساعت بعد، مشاهدات ماکروسکوپی مدفوع علائم کولیت را نشان داد.

**یافته ها:** در این مطالعه عصاره آبی بابونه با دوزهای (۳۰ mg/kg و ۲۰۰) بطور معنی داری موجب کاهش نسبت وزن به طول کولون گردید. همچنین بالاترین دوز عصاره (۳۰۰ mg/kg) توانست شدت و میزان التهاب را کاهش دهد. مطالعات هیستوپاتولوژی از مقطع کولون نشان داد که اثر درمانی عصاره آبی بابونه در دوزهای ۳۰ mg/kg و ۱۰۰، ۲۰۰ همراه با افزایش دوز کامل تر می شود.

**نتیجه گیری:** می توان نتیجه گیری کرد که عصاره آبی بابونه در درمان کولیت زخمی در این مدل موثر بوده و شاخص های التهابی و زخمی کولیت زخمی را به صورت معنی داری کاهش داده است.

**واژه های کلیدی:** کولیت زخمی، بابونه (*Matricaria recutita L.*)، اسید استیک، موش صحرایی

### مقدمه

(diseases)، التهاب ایدئوپاتیکی و مزمن روده هستند که دو بیماری کولیت زخمی (Ulcerative colitis) و بیماری کرون (Crohn's disease) را شامل می شوند [۲۱]. مطالعات اپیدمیولوژیک از شیوع بسیار متفاوت بیماریهای التهابی روده، بر اساس محل جغرافیایی زندگی و زمینه قومی یا نژادی فرد

بیماری های التهابی روده (Inflammatory bowel

mabbas@mail.uk.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

حکایت دارد و در حال حاضر از شایع ترین علل ناراحتی های دستگاه گوارش در کشورهای توسعه یافته هستند [۳۷]. کشورهای شمالی مانند ایالات متحده آمریکا، انگلستان، نروژ و سوئد بالاترین میزان کولیت را دارا هستند. میزان بروز بیماری کولیت زخمی در ایالات متحده حدود ۱۱ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر است. بالاترین میزان مرگ و میر در بیماران مبتلا به IBD طی سالهای اولیه و در بیماری دراز مدت (بیش از ۱۰ سال) در اثر سرطان کولون است [۲۱]. اولین پیک سنی شروع و بروز این بیماری بین ۳۰-۱۵ سالگی و دومین پیک در سنین بین ۶۰-۸۰ سال می باشد. نسبت مبتلایان مرد به زن در مورد بیماری کولیت زخمی، برابر می باشد [۹]. در کشور ما هنوز میزان شیوع دقیق این بیماری مشخص نشده است [۲].

در IBD فعالیت بسیاری از انواع سلولهای ایمنی مخاطی زیاد می شود، اما ظاهراً سلولهای T-helper یا (CD) T cells Cytotoxic نقش اصلی را بازی می کنند. به نظر می رسد که بیماری کرون از نوع پاسخ به Th1 (Th1 و TNF- $\alpha$ ) و گاما-اینترفرون) است در حالی که بیماری کولیت زخمی واجد هر دو نوع پاسخ به Th1 و Th2 (IL4,5,13) است. به هر حال در IBD هومئوستاز (تعادل) مخاطی در سطح مولکولی به هم خورده است و ماحصل همه آنها، التهاب روده است [۵]. این التهاب و زخم های لایه مخاطی در بیماران مبتلا به کولیت زخمی به علائمی چون دردهای شکمی، اسهال و خونریزی مقعدی منجر می شود. درمان های دارویی برای بهبود IBD تا حدود زیادی موثرند اما قیمت بالا، آثار و عوارض جانبی و محدودیت های درمانی هر کدام قابل توجه و غیر قابل اغماض اند [۸].

بابونه آلمانی (*Matricaria recutita* L. syn. German chamomile) از خانواده کمپوزیته (Compositae)، گیاهی است یک ساله، بسیار معطر و به ارتفاع ۲۰ تا ۸۰ سانتی متر که به طور خودرو در مزارع، کنار جاده ها و اماکن بایر و سایه دار می رویند. این گیاه بومی شرق مدیترانه می باشد [۴۵].

آسکله پیاد (Asclepiade)، در دو قرن قبل از میلاد مسیح، دم کرده این گیاه را به کار می برد و دیویدسکورید، در قرن اول میلادی، دم کرده ۳ گونه از این گیاهان را توأمأً به عنوان مدر، قاعده آور و صفرابر به کار می برده که یکی از آنها، بابونه معمولی بوده است. این دانشمند مخلوط سه گیاه اخیر را در

مطالعات قبلی نشان داده است که بابونه (*Matricaria recutita* L. به عنوان یکی از پرمصرف ترین گیاهان موجود در دنیا و با دارا بودن خواص گوناگون دارویی و اثرات فیزیولوژیکی از جمله خواص ضد التهابی و ضد نفخ، آنتی اکسیدانی و تحریک کنندگی سیستم ایمنی از موقعیت ممتازی برخوردار است [۲۰ و ۴]. مهمترین ترکیبات این گیاه شامل: فلاونوئیدها، سزکویی ترپن های آلفا بیزابولول، کامازولن، فارنزن و نیز ایزومرهای سیس و ترانس این - این دی سیکلوتر می باشد [۱۳]. علاوه بر این دارای ترکیبات میرستین، پروآزولن، لوتولین و مشتقات کومارین می باشد. فلاونوئیدهای آن عمدتاً از دسته فلاون ها و فلاونول ها و به صورت آزاد و یا گلیکوزیدی یافت می شوند و گلچه های این

جمع آوری گیاه و تهیه عصاره: گل‌های گیاه بابونه (*Matricaria recutita* L.) در اسفند ماه سال ۱۳۸۶ از بازار گیاهان دارویی در شهرستان کرمان خریداری گردید. گیاه مورد نظر ما پس از شناسایی و تأیید توسط شناس گیاه مورد استفاده قرار گرفت. عصاره گیاه به صورت آبی (Aqueous extract) و از روش دم کردن که منطبق با روش سنتی آن است، تهیه گردید. دم کردن یا گرفتن عصاره به وسیله آب متداولترین و قدیمی ترین روش به کار بردن داروهای گیاهی است. این روش رایج ترین روش استفاده از این گیاه به صورت سنتی در میان خانواده های ایرانی به شمار می آید. بدین منظور ۵۰ گرم از گل بابونه که به روش صحیحی خرد شده را به ۷۵۰ میلی لیتر آب مقطر در حال جوش افزوده و سپس برای مدت ۱ ساعت در یک ظرف بسته چینی بر روی هیتز داغ نگه داشته و گاهی هم مخلوط هم زده می شد. پس از طی این مدت مخلوط حاصل از صافی عبور داده، سپس در محیط آزمایشگاه حلال پرانی انجام گردید بدین معنی که آب تبخیر گردید. در نهایت عصاره خشک شده به دست آمده با حل شدن در سرم فیزیولوژی، برای ساختن غلظت های متفاوت عصاره آبی بابونه (۳۰، ۲۰، ۱۰ mg/kg) مورد استفاده قرار گرفت.

دوز و روش تجویز عصاره: ۳ گروه از موش های صحرایی مورد مطالعه، دوزهای متفاوت عصاره آبی بابونه (۳۰ mg/kg و ۲۰، ۱۰) را به صورت خوراکی (گاوژ) و به مدت ۶ روز پس از القاء زخم توسط اسید استیک دریافت می نمودند. یک گروه از حیوانات به عنوان گروه شاهد (sham)، حلال (نرمال سالین) را به مدت ۶ روز پس از القاء زخم از راه خوراکی (گاوژ) دریافت داشتند. آخرین گروه، دست نخورده و به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. حجم محلول عصاره یا سالین تجویز شده به هر حیوان ۰/۵ میلی لیتر به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن حیوان بود.

القاء کولیت توسط اسیداستیک: جهت القاء کولیت، موش های صحرایی به مدت ۳۶ ساعت در حالت گرسنگی با دسترسی آزاد به آب نگهداری شدند. هر حیوان در یک قفس جداگانه نگهداری شده که کف آن از توری تشکیل شده است تا امکان نزاع و مدفوع خوری (Corpophagy) به حداقل برسد. سپس تحت یک بی هوشی خفیف با اثر میزان ۲ میلی لیتر اسید استیک ۴٪ توسط یک لوله پلاستیکی با قطر داخلی

گیاه حاوی روتین، آپی ژنین و همچنین کوئرستین آزاد می باشد [۳۹ و ۳۳، ۲۰، ۱۳]. رادیکال های آزاد اکسیژن در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماری ها و از جمله التهاب و سرطان دخیل می باشند. یافته های قبلی نشان داده اند که ترکیبات فنلی موجود در ساختار بابونه به عنوان آنتی اکسیدان و از بین برنده رادیکال های آزاد عمل می کنند و از این رو از تخریب کلاژن در برابر رادیکال های آنیون سوپراکسید حفاظت می نمایند [۳۹].

نتیجه بررسی ها اثر ضد تورمی و ضد التهابی بابونه را عمدتاً مربوط به فلاونوئیدها و اسانس های فرار به خصوص کامازولن و آلفا بیزابولول و اثر آنتی اکسیداسیونی بابونه را مربوط به آپی ژنین و کوئرستین می دانند [۲۰ و ۱]. با توجه به آثار ضد التهابی، ضد نفخی و ضد اکسیداسیونی مربوط به ترکیبات متنوع گیاه بابونه و نیز با توجه به اینکه در فرهنگ ایرانیان از دم کرده آن برای ناراحتی های دستگاه گوارش استفاده می شود، هدف این تحقیق بررسی علمی این موضوع برای نخستین بار می باشد.

## مواد و روشها

حیوانات: در این مطالعه تعداد ۳۵ سر موش صحرایی نر با نژاد NMRI در محدوده وزنی ۲۸۰-۲۳۰ گرم از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه و مورد آزمایش قرار گرفتند. حیوانات در شرایط یکسان و مناسب نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای استاندارد  $23 \pm 1$  درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در همه گروه ها حیوانات از غذای مخصوص جوندگان تغذیه شده و آب آشامیدنی به حد کافی در دسترس قرار می گرفت. همچنین حیوانات به طور تصادفی به گروه های آزمایشی شامل گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره آبی بابونه (۳۰، ۲۰ و ۱۰) و گروه شاهد و نیز گروه کنترل تقسیم شده و در هر گروه ۷ سر حیوان قرار گرفت.

اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در تمامی مراحل انجام آزمایش زیر نظر کمیته اخلاق در پزشکی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام گرفت. سوگرایی محقق (Bias) در جمع آوری داده ها در این مطالعه وجود ندارد.

Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به منظور اطمینان از ایجاد زخم در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل از آزمون آماری One-Sample T Test استفاده گردید.  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی دار بودن اختلاف بین گروه ها در نظر گرفته شد. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین (SEM) بیان گردیده است.

## یافته ها

به منظور بررسی قدرت اسید استیک در ایجاد بیماری در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل از آزمون آماری One-Sample T Test استفاده گردید که مشاهدات آماری حاصل از این آزمون زخم‌های خونریزی دهنده، با وسعت زیاد و بعضاً نکروز فراوان بافتی در گروه شاهد را نشان می دهد. از طرفی در گروه کنترل، گروهی که اسیداستیک دریافت نشده بود هیچ گونه زخم و التهابی وجود ندارد، از این رو داده‌های مربوط به فاکتورهای سطح، شدت، اندکس اولسر و همچنین داده‌های مربوط به مشاهدات پاتولوژی شامل میزان و شدت التهاب و درصد ناحیه درگیر در این گروه صفر می باشد، بنابراین با توجه به نتایج این آزمون، داده‌ها و ستون‌های مربوط به این فاکتورها در این گروه از نمودارها حذف شده است.

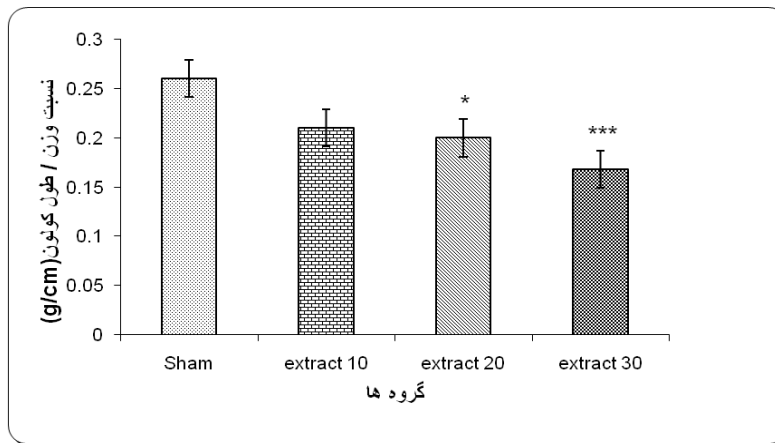
تغییر در نسبت وزن به طول کولون: از ویژگی های عمده القای کولیت توسط اسید استیک افزایش چشم گیر این نسبت می باشد. همان گونه که در شکل ۱ مشاهده می شود نسبت وزن به طول بافت جدا شده کولون در گروه دریافت کننده عصاره با دوز (30 mg/kg) در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی دار ( $P < 0/001$ ) نشان می دهد. همچنین گروه دریافت کننده عصاره خوراکی بابونه با دوز (20 mg/kg) نیز نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری ( $P < 0/05$ ) را نشان می دهد. در مقایسه با گروه شاهد، دوز (10 mg/kg) عصاره بابونه در کاهش نسبت وزن به طول کولون مؤثر نبوده است. تغییرات اندکس اولسر: میانگین اندکس اولسر در همه گروه های دریافت کننده عصاره بابونه با دوزهای (30، 20 و 10 mg/kg) در مقایسه با گروه شاهد، به میزان معنی داری به ترتیب 0/01،  $P < 0/001$  و  $P < 0/001$  کاهش یافت (شکل ۲).

تغییرات شدت التهاب در مشاهدات پاتولوژی: شدت التهاب

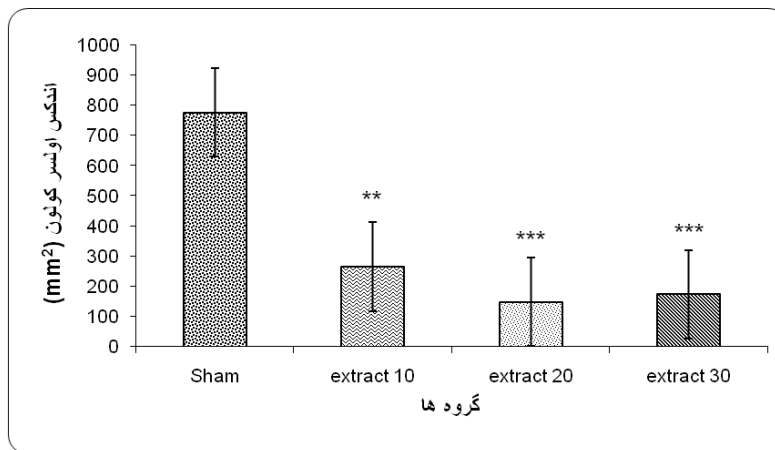
2/5mm و به طول 8 cm از راه مقعد به درون کولون حیوان تزریق می گردید. سپس حیوانات در داخل همان قفس های سیمی به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند [۲۶]. پس از طی این مدت (القاء زخم) و با گذشت ۶ روز از دوره درمان موش ها به روش اخلاقی کشته شده و کولون حیوان از حفره شکم خارج گردید تا در مراحل بعدی برخی از شاخص های التهابی، مورد مطالعه قرار گیرد. جهت مطالعات هیستوپاتولوژی، کولون در فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار گرفته تا پس از فیکس شدن و تهیه قالب های پارافینی، برش هایی به قطر ۵ میکرون تهیه و به وسیله هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی گردند.

ارزیابی زخم: ۷ سانتی متر از کولون از فاصله ۳ سانتیمتری مقعد جدا گردید و به صورت طولی برش داده شد و سپس توسط نرمال سالین سرد شسته و وزن مرطوب آن محاسبه گردید [۲۶]. پس از آن نسبت وزن به طول کولون (g/cm) محاسبه گردید [۳۲]. همچنین مساحت زخم ها در کولون برای هر حیوان محاسبه شده و به عنوان اندکس زخم تلقی گردید [۳۱]. همچنین برخی از شاخص های بیماری به روش های میکروسکوپی چون تغییرات وزن بدن در طول دوره آزمایش و نیز شاخص های میکروسکوپی (هیستوپاتولوژی) از جمله شدت و درجه التهاب، میزان التهاب و درصد ناحیه درگیر مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. شدت التهاب (Severe=۳ و Moderate=۲، Mild=۱، None=۰) و میزان التهاب (Transmural=۳ و Mucosa and submucosa=۲، Mucosa=۱، None=۰) در یک مقیاس نسبتاً کیفی در بزرگنمایی ۴۰ و ۱۰۰ میکروسکوپ نوری از صفر تا سه و درصد ناحیه درگیر در مقیاس صفر تا چهار (0%-100% = ۰، ۱-۲۵% = ۱، ۲۶%-۵۰% = ۲، ۵۱%-۷۵% = ۳، ۷۶%-۱۰۰% = ۴) در مورد هر نمونه بافت شناسی درجه بندی گردید [۴۱]. درجه بندی شدت التهاب بر اساس عدم تغییرات میکروسکوپی (None=۰)، ادم خفیف مخاطی، خونریزی یا خراشیدگی جزئی (Mild=۱)، ادم متوسط، خراشیدگی ها و زخم های خونریزی دهنده (Moderate=۲) و ادم و زخم شدید و نکروز بافتی (Severe=۳) صورت پذیرفت [۳۰].

تجزیه و تحلیل آماری: پس از حصول داده ها، محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS17 انجام شد. نتایج آزمایش به کمک آزمون آماری ANOVA یکطرفه با پس آزمون



شکل ۱- تغییرات نسبت وزن به طول (g/cm) بافت جدا شده کولون در گروه های مورد آزمایش: عصاره با دوزهای (۳۰، ۲۰، و ۱۰) mg/kg و گروه شاهد. هر ستون نمایانگر میانگین ± خطای استاندارد و (n=7) است. \*\*\* اختلاف معنی دار (P<0.001) با گروه شاهد و \* اختلاف معنی دار (P<0.05) در مقایسه با گروه شاهد.



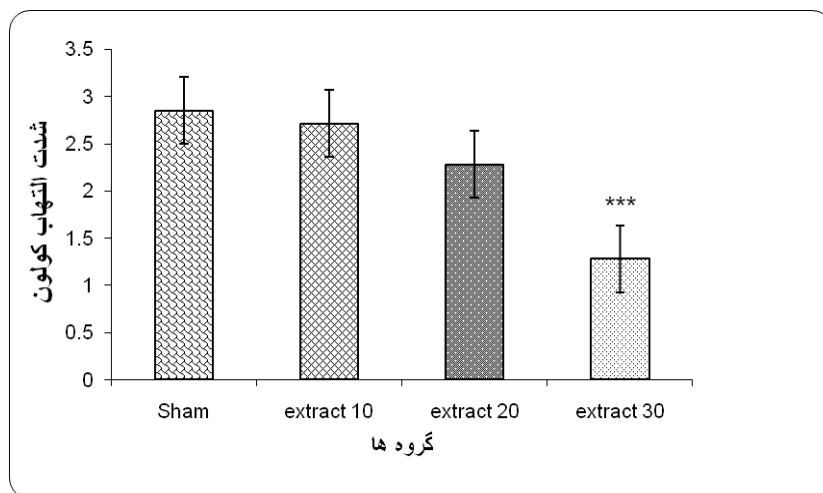
شکل ۲- تغییرات اندکس اولسر در گروه های مورد آزمایش: عصاره با دوزهای (۳۰، ۲۰، و ۱۰) mg/kg و گروه شاهد. هر ستون نمایانگر میانگین ± خطای استاندارد و (n=7) است. \*\*\* اختلاف معنی دار (P<0.001) با گروه شاهد و \*\* اختلاف معنی دار (P<0.01) در مقایسه با گروه شاهد.

که بیشترین دوز عصاره بابونه (۳۰ mg/kg) را دریافت داشته است، در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی داری (P<0.001) نشان می دهد. در گروه درمانی با دوزهای (۲۰ و ۱۰) mg/kg عصاره بابونه، اختلاف معنی داری در میزان درصد ناحیه درگیر نسبت به گروه شاهد مشاهده نگردید (شکل ۵). نتایج حاصل از بررسی سایر پارامترهای مورفولوژیک در جدول شماره ۱ ارایه شده است.

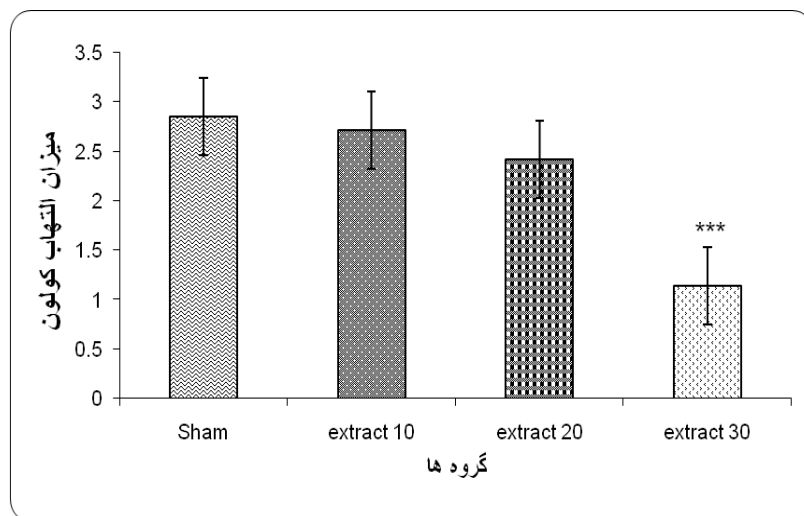
نتایج هیستوپاتولوژیک و تغییرات میکروسکوپی بافت کولون: در شکل ۶ تغییرات بافتی در ساختمان دیواره کولون که به ترتیب از داخل به خارج شامل لایه های مخاط، زیر مخاط، عضلانی و سروز می باشد مورد بررسی قرار گرفت. در گروه کنترل، ساختمان طبیعی و نرمال کولون با ۴ لایه مجزا از هم به چشم می خورد (شکل ۶A). در گروه شاهد، برش های رنگ

در مشاهدات پاتولوژی در گروهی که بیشترین دوز عصاره بابونه (۳۰ mg/kg) را دریافت کرده است نسبت به گروه شاهد کاهش معنی دار (P<0.001) نشان می دهد، ولی این کاهش در مورد سایر گروه های درمانی دریافت کننده عصاره بابونه (۲۰ و ۱۰) mg/kg در مقایسه با گروه شاهد معنی دار نیست (شکل ۳).

تغییرات میزان التهاب در مشاهدات پاتولوژی: میزان التهاب در مشاهدات پاتولوژی فقط در مورد گروه درمانی دریافت کننده بیشترین دوز عصاره بابونه (۳۰ mg/kg) در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی داری (P<0.001) نشان می دهد در حالی که سایر گروه های آزمون مورد بررسی (۲۰ و ۱۰) mg/kg اختلاف معنی داری را با گروه شاهد نشان نمی دهند (شکل ۴). تغییرات درصد ناحیه درگیر: درصد ناحیه درگیر در گروهی



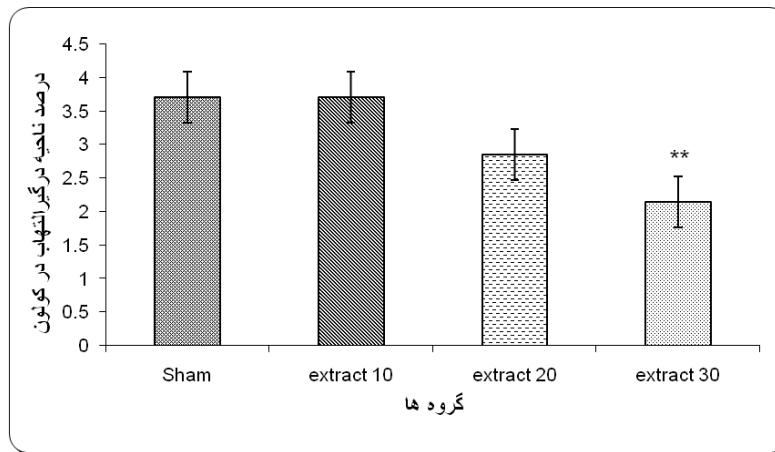
شکل ۳- تغییرات شدت التهاب در مشاهدات پاتولوژی در گروه های مورد آزمایش: عصاره با دوزهای (۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg) و گروه شاهد. هر ستون نمایانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد و (n=7) است. شدت التهاب در مقیاس ۰-۳ درجه بندی گردید (۰=None، ۱=Mild، ۲=Moderate و ۳=Severe). \*\*\* اختلاف معنی دار ( $P < 0/001$ ) در مقایسه با گروه شاهد.



شکل ۴- تغییرات میزان التهاب در مشاهدات پاتولوژی در گروه های مورد آزمایش: عصاره با دوزهای (۱۰، ۲۰ و ۳۰ mg/kg) و گروه شاهد. هر ستون نمایانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد و (n=7) است. میزان التهاب در مقیاس ۰-۳ درجه بندی گردید (۰=None، ۱=Mucosa، ۲= Mucosa and submucosa و ۳=Transmural). \*\*\* اختلاف معنی دار ( $P < 0/001$ ) در مقایسه با گروه شاهد.

و ساختار لایه بندی همچنان در این گروه نامشخص است. برش های میکروسکوپی گروه دریافت کننده دوز (۱۰ mg/kg) عصاره بابونه مشابه با برش های میکروسکوپی گروه شاهد دیده شد (شکل ۶C). گروه دریافت کننده دوز (۲۰ mg/kg) عصاره بابونه در مقایسه با گروه شاهد، از نظر تغییرات بافتی وضعیت مساعدتری را نشان می دهد به گونه ای که زخم ها در این گروه به صورت کانونی مشاهده می گردد در حالی که سایر قسمت های کولون طبیعی به نظر می رسد. همچنین نفوذ سلول های آماسی در بخش زیر مخاط قسمت آسیب دیده

آمیزی شده با همتوکسیلین و ائوزین تغییرات شدید بافت کولون بدون مرزبندی مشخص لایه ها را نشان می دهد. نکروز و زخم در تمام لایه های کولون همراه با خونریزی و تشکیل رشته های فیبرین در گروه شاهد کاملاً مشهود می باشد. این علائم و نشانه های هیستولوژیکی غیر طبیعی، در مقایسه با گروه های درمانی دریافت کننده دوزهای (۲۰ و ۳۰ mg/kg) عصاره بابونه به طور چشمگیر دیده شد (شکل ۶B). در مقایسه با گروه شاهد، گروه دریافت کننده دوز (۱۰ mg/kg) عصاره بابونه تغییر مشهودی مشاهده نمی گردد



شکل ۵- تغییرات درصد ناحیه درگیر در مشاهدات پاتولوژی در گروه های مورد آزمایش: عصاره با دوزهای ۳۰، ۲۰ و ۱۰ mg/kg و گروه شاهد. هر ستون نمایانگر میانگین  $\pm$  خطای استاندارد و (n=7) است. درصد ناحیه درگیر در مقیاس ۰-۴ درجه بندی گردید (۱۰۰٪-۷۶٪=۴ و ۷۵٪-۵۱٪=۳، ۵۰٪-۲۶٪=۲، ۲۵٪-۱٪=۱، ۰٪=۰). \*\* اختلاف معنی دار ( $P < 0.01$ ) در مقایسه با گروه شاهد.

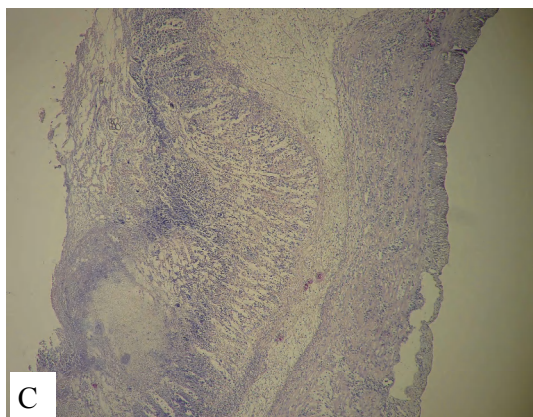
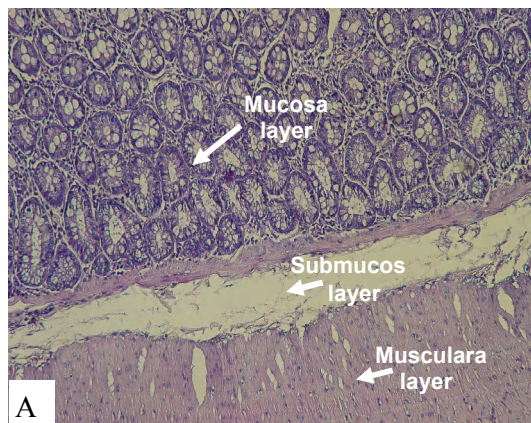
در این گروه فقط آسیب کانونی و خفیف در مخاط به همراه ادم جزئی زیر مخاط و ارتشاح خفیف سلول‌های التهابی به صورت نادر مشاهده می‌شود در حالی که در گروه شاهد نکروز در عرض غشاء همراه با خونریزی و تشکیل رشته های فیبرین و نیز ارتشاح فراوان سلول‌های التهابی و ادم قابل توجه در لایه‌های زیر مخاط مشاهده می‌شود. این مشاهدات نشان می‌دهد که مدل القای کولیت توسط اسید استیک جنبه‌های بافت شناسی مشترکی با کولیت زخمی در انسان داشته و شامل ادم مخاط، ارتشاح نوتروفیل در مخاط و زیر مخاط و زخم‌زایی می‌باشد [۳۶ و ۲۵].

مطالعات هیستوپاتولوژی از مقطع کولون نشان داد که اثر درمانی عصاره آبی بابونه در دوزهای ۳۰ و ۲۰ mg/kg، ۱۰ همراه با افزایش دوز کامل تر می‌شود. شدت زخم به عنوان معیاری ساده و مفید جهت بررسی اثر بخشی عصاره ها در این روش مورد استفاده قرار گرفت [۳۰]، که با مشاهده اریتم، ادم، زخم و نکروز می‌توان این معیار را به طور مناسبی درجه‌بندی نمود. در گروه شاهد که به منظور بررسی قدرت استیک اسید در ایجاد بیماری و رد جواب مثبت کاذب صورت گرفت این شدت در حداکثر میزان خود مشاهده شد. زخم‌های خونریزی دهنده در تمام لایه ها، با وسعت زیاد و همراه با نکروز بافتی به وفور در این گروه مشاهده گردید. شدت التهاب Inflammation (severity) بیان کننده ارتشاح سلول‌های التهابی و میزان التهاب (Inflammation Extent) نشان دهنده درگیر بودن قسمت‌های مختلف عرض جدار شامل مخاط، زیر مخاط و یا

رؤیت گردید (شکل ۶D)، در گروه درمانی دریافت کننده دوز (۳۰ mg/kg) بابونه در مقایسه با گروه شاهد همه علائم مذکور، بهبودی نشان دادند و برش های میکروسکوپی تنها یک زخم کوچک را نشان می دهند و این در حالی است که بقیه مخاط ترمیم شده است (شکل ۶E).

## بحث

در این مطالعه عصاره آبی بابونه با دوزهای (۳۰ و ۲۰ mg/kg) موجب کاهش نسبت وزن به طول کولون گردید. بافت ملتهب کولون یک معیار دقیق، حساس و مطمئن از شدت و میزان پاسخ سیستم ایمنی می‌باشد، که خود شاخصی از افزایش نفوذپذیری مویرگی و محتوای آب میان بافتی می‌باشد از این رو کاهش این نسبت و به دنبال آن کاهش التهاب کولون، تأییدی بر اثر بخش بودن دوزهای (۳۰ و ۲۰ mg/kg) عصاره بابونه خواهد بود. عصاره در همه دوز های به کار رفته سبب کاهش اندکس اولسر در مقایسه با گروه شاهد شد. همچنین بالاترین دوز به کار رفته عصاره (۳۰ mg/kg) توانست شدت و میزان التهاب را کاهش دهد. همان گونه که در نمودارهای مربوط به مشاهدات پاتولوژی مشاهده می‌شود، شاخص‌های این مشاهدات در تمام گروه های درمانی نسبت به گروه شاهد کاهش می‌یابد که این کاهش به ویژه در گروه های دریافت کننده دوز (۳۰ mg/kg) بابونه به صورت خوراکی با اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد کاملاً مشهود است به طوری که



**شکل ۶-** نمای میکروسکوپی ساختار روده بزرگ (کولون) رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین. گروه Control (A): به ساختمان طبیعی کولون شامل لایه های مخاطی، زیر مخاط و عضلانی دقت شود، گروه Sham (B): خونریزی شدید (الف) و نفوذ سلول های التهابی همراه با نکروز شدید (ب) را نشان می دهد، گروه دریافت کننده دوز (۱۰ mg/kg) عصاره بابونه (C)، گروه دریافت کننده دوز (۲۰ mg/kg) عصاره بابونه (D) و گروه دریافت کننده دوز (۳۰ mg/kg) عصاره بابونه (E). بزرگنمایی C و D برابر با ۴۰ و بزرگنمایی A، B و E برابر با ۱۰۰.

می‌گردد. با تحریک یا تخریب مخاط توسط اسید استیک لوکوترین B4، یکسری اسیدهای چرب منوهیدروکسی در مسیر لیپواکسیژناز و همچنین مقادیر کمتری از محصولات مسیر سیکلو اکسیژناز شامل پروستاگلاندین G2 تولید می‌گردد [۱۹]. در انسان نیز به طور قابل ملاحظه‌ای میزان پروستاگلاندین I2، ترومبوکسان A2 و پروستاگلاندین E2 در کولیت زخمی افزایش می‌یابد [۲۴ و ۲۵]. پروستاگلاندین‌ها، متابولیت‌های اکسیژنه طبیعی از اسیدهای چرب غیر اشباع شده‌اند. نقش‌های

سراسر عرض دیواره کولون می‌باشد [۴۱]. این مطالعه نشان داد که مقادیر تجویز شده عصاره بابونه (۳۰ و ۲۰ mg/kg) به طور معنی داری زخم ناشی از اسید استیک را درمان می‌کند و از نظر بافت شناسی نیز مشاهده شد که عصاره (۳۰ mg/kg) بیشترین اثر درمانی را دارد. مکانیسمی که به نظر می‌رسد اسید استیک پروسه التهاب را شروع می‌کند شامل ورود فرم پروتونه اسید به اپی تلیوم می‌باشد که در آن جا تجزیه و پروتون حاصل با اسیدی کردن محیط داخل سلول آسیب اپی تلیال را سبب



فلاونوئیدها مسیر NF-KappaB را مهار می‌کنند. مهار این مسیر منجر به کاهش تولید TNF- $\alpha$  و iNOS به عنوان یکی از آنزیم‌های کلیدی در فعال شدن سلولهای التهابی می‌شود. همچنین در تحقیقات گذشته افزایش بیان سایتوکین ضد التهابی IL-10 در اثر فلاونوئیدها ثابت شده است [۱۱]. از طرفی کاهش تولید IL-1 به وسیله فلاونوئیدها منجر به کاهش تولید IL-2 و INF- $\gamma$  می‌شود. هر چند مکانیسم‌های مستقلى نیز برای کاهش تولید IL-2 و INF- $\gamma$  به وسیله فلاونوئیدها پیشنهاد شده است [۴۴]. بنابراین با توجه به حضور فلاونوئیدها در بابونه می‌توان دریافت که عصاره دارای اثر درمانی بر سلول‌های مخاطی کولون در مقابل زخم ناشی از اسید استیک می‌باشد، ضمن اینکه توانست از بر هم خوردن تعادل مخاطی در سطح مولکولی جلوگیری به عمل آورد. همچنین مطابق با تحقیقات قبلی فعالیت تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی از سوی عصاره بابونه بر روی گرانولوسیت‌ها باعث می‌شود که این عصاره واکنش‌های التهابی را سرکوب و مهار کند [۴]. کوئرستین هم که یکی از ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره است با داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون چربی‌ها را مهار نموده و می‌تواند با رادیکال‌های آزاد واکنش دهد [۳۴]. بنابراین شاید یکی دیگر از ترکیبات موثر گیاه بر درمان کولیت کوئرستین باشد. همچنین با توجه به حضور آزلون‌ها در این گیاه و اثر ضد التهابی آنها ممکن است این اثر با تأثیر بر غدد هیپوفیز و آدرنال از طریق افزایش رها سازی کورتیزون و کاهش تولید هیستامین مرتبط باشد [۲۰].

از میان مواد موجود در گل‌های این گیاه، گزارش شده است که سزکوئی‌ترین‌های Chamazulene و  $\alpha$ -Bisabolol اثرات ضد التهابی قوی در برابر عوامل پیش التهابی از خود نشان داده‌اند [۲۰]. مطالعات قبلی نشان دادند که ترپن‌ها دارای فعالیت ضد تولید زخم (antiulcerogenic) می‌باشند [۱۷] و عملکرد پیشنهادی برای آنها عبارت است از فعال سازی مسیرهای حفاظت سلولی و کاهش دادن متابولیسم پروستاگلندین‌های مخاطی [۳۵]. به نظر می‌رسد بخشی از اثر مهارى عصاره بابونه بر کولیت به وجود این ترپن‌ها در این گیاه بر می‌گردد [۲۰]. به طور خلاصه نتایج تحقیق نشان می‌دهد که عصاره آبی بابونه *Matricaria recutita* به

فیزیولوژیک این مواد در روده شامل کنترل حرکات و همچنین افزایش ترشحات آبی روده می‌باشد و در انواع مختلف بیماری‌های دستگاه گوارش و از جمله IBD نقش دارند [۱۰]. در IBD در مخاط کولون مقدار لوکوترین B4 به عنوان یک عامل کموتاکتیک قوی در ارتشاح نوتروفیل به مخاط به شدت افزایش می‌یابد [۳۶ و ۲۵]. همچنین بیان آنزیم COX-2 به عنوان یکی از مراحل کلیدی در التهاب زایی لوله گوارش و از جمله IBD افزایش می‌یابد که این آنزیم منجر به سنتز، PGE2، PGD2 و PGF2 $\alpha$  می‌گردد [۳ و ۳۸]. به طوری که مطالعات بالینی اخیر نقش داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی و مهار کننده‌های انتخابی COX-2 در درمان IBD را به طور وسیع نشان داده‌اند. از آنجا که عصاره بابونه می‌تواند بیان mRNA و فعالیت آنزیم COX-2 را که یکی از آنزیم‌های کلیدی در مسیر بیوسنتز پروستاگلندین‌ها و فرایند شکل‌گیری التهاب می‌باشد را مهار کند [۲۰]، بنابراین یکی از مکانیسم‌های احتمالی که عصاره توانسته کولیت زخمی را بهبود بخشد این اثر است. مطالعات شیمی گیاهی صورت گرفته بر گیاه بابونه وجود ترکیبات فلاونوئیدی، سزکوئی‌ترین‌های آلفا بیزابولول، کامازولون و فارنزن را نشان داده است [۱۳]. از آنجا که فلاونوئیدهای موجود در عصاره بابونه باعث مهار بیان ژن COX-2 می‌شوند [۱۴]، بنابراین یکی از دلایل بهبود کولیت می‌تواند مهار این آنزیم و کاهش التهاب باشد. علاوه بر این به نظر می‌رسد خاصیت ضد التهابی فلاونوئیدها با کاهش نفوذ سلول‌های آماسی از جمله نوتروفیل‌ها در مخاط بافت کولون در ارتباط باشد [۴۰].

امروزه از فلاونوئیدها به عنوان دسته مهمی از ترکیبات طبیعی آنتی‌اکسیدان نام برده می‌شود [۱۲]. از این رو وجود این ترکیب در بابونه سبب شده است تا با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده و به مهار زخم کمک کند. از طرفی با مهار لیپولیز و توانایی آن در مهار پراکسیداسیون لیپیدها، از نفوذ عامل نکروز دهنده به موکوس جلوگیری نماید. فلاونوئیدها زخم‌های نکروز عمیق را دفع و از ورقه ورقه شدن وسیع مخاط جلوگیری می‌کنند [۱۶]. فلاونوئیدها باعث مهار تولید سایتوکین‌های التهابی مانند IL-1، IL-6 و TNF- $\alpha$  می‌شوند [۲۸ و ۱۸]. در مطالعه‌ای که توسط Comalada و همکاران (۲۰۰۶) انجام گرفت نشان داده شد که بعضی

## سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از آقایان دکتر وحید شیبانی و دکتر سید منصور میرتاج الدینی و سرکار خانم دکتر حکیمه علومی به خاطر همکاری و راهنمایی های ارزنده و بی دریغشان کمال سپاسگزاری را دارند.

صورت وابسته به دوز دارای اثر درمانی بسیار مناسبی در کاهش و بهبود شاخص های التهابی و زخمی کولیت در برابر کولیت ناشی از اسیداستیک می باشد و بخشی از این اثر به علت ترکیباتی چون فلاونوئید و آلفا بیزابولول با مهار آنزیم COX-2 اعمال می شود. به هر حال مکانیسم دقیق تر این اثر و سایر مکانیسم های احتمالی در این زمینه هنوز نیازمند بررسی های تکمیلی و مطالعه بیشتر است.

## References

- [1] Abate A, Yang G, Wong R, Schroder H, David K, Stevenson, Phyllis A, Dennery Apigenin decreases hemin-mediated heme oxygenase-1 induction. *Free Radical Biol. Med.* 39 (2005) 711 – 718.
- [2] Aghazadeh R, Zali MR, Bahari A, Amin K, Ghahghaie F, Firouzi F, Inflammatory bowel disease in Iran: a review of 457 cases. *J Gastroenterol Hepatol* 11 (2005) 1691-1695.
- [3] Agoff SN, Brentnall TA, Crispin DA, Taylor SL, Raaka S, Haggit RC *et al*, The role of cyclooxygenase 2 in ulcerative colitis-associated neoplasia. *Am J Pathol* 157 (2000) 737-745.
- [4] Amirghofran Z, Azadbakht M, Karimi M.H, Evaluation of the immunomodulatory effects of five herbal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 72 (2000) 167–172.
- [5] Andreoli, Carpenter, Griggs, Loscalzo; *Essential of Medicine*, 16th Edition, 2004: Saunders: 363-365.
- [6] Ashtral-Nakhai L, Mohammadirad A, Yasa N, Minaie B, Nikfar SH, Ghazanfari GH, Zamani M, Dehghan GH, Jamshidi H, Boushehri V, Khorasani R and Abdollahi M, Benefit of Zataria multiflora Boiss in Experimental Model of mouse Inflammatory Bowel Disease. *eCAM* 1 (2007) 43-50.
- [7] Barada KA, Mourad FH, Sawah SI, Khoury C, Safieh-Garabedian B, Nassar CF *et al*, Up-regulation of nerve growth factor and interleukin-10 in inflamed and non-inflamed intestinal segments in rats with experimental colitis. *J Cytokine* 3 (2007) 236-245.
- [8] Bertram G. Katzung. *Basic & clinical Pharmacology*, 9<sup>th</sup> Edition; McGraw Hill, 2004: 1053-1057.
- [9] Bouma G, Strober W, The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 3 (2003) 521-533.
- [10] Branski D, Sharon P, Abrahamov A, Prostaglandins in disorders of the intestinal tract: a review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 5(6) (1986) 853-560.
- [11] Comalada M, Ballester I, Bailon E, Sierra S, Xaus J, Galvez J *et al*, Inhibition of pro-inflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: Analysis of the structure-activity relationship. *Biochem Pharmacol* 72 (2006) 1010-1021.
- [12] Conforti F, Sosa S, Marelli M, Menichini F, Statti GA, Uzunov D *et al*, The protective ability of Mediterranean dietary plants against the oxidative damage: The role of radical oxygen species in inflammation and polyphenol, flavonoids and sterol contents. *Food Chem* 112 (2009) 587-594.
- [13] Ganzera M, Schneider P, Stuppner H, Inhibitory effects of the essential oil of chamomile (*Matricaria recutita* L.) and its major constituents on human cytochrome 450 enzymes. *J Life Sci* 78 (2006) 856 – 861.
- [14] Garcia-Mediavilla V, Crespo I, S.Collado P, Esteller A, Sanchez-campos SJ, Tunon M *et al*, The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells. *Euro J Pharmacol* 557 (2007) 221-229.
- [15] Gomma A, Hashem T, Mohamed M, Ashry E, *Marticaria chamomilla* extract inhibits both development of morphine dependence and expression of

- abstinence syndrome in rats. *J Pharmacol Sci* 92(2003) 50-55.
- [16] Gonzales E, Laglesias I, Carretero E and Villar A, Gastric cytoprotection of bolivian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 70 (2000) 329-333.
- [17] Hiruma-Lima CA, Gracioso JS, Toma W, Almeida AB, Paula ACB, Brasil DSB *et al*, Gastroprotective effect of aparisthman, a diterpene isolated from *Aparisthmium cordatum*, on experimental gastric ulcer models in rats and mice. *Phytomedicine* 8 (2001) 94-100.
- [18] Hougee S, Saunders A, Faber J, Graus YMF, VDBerg WB, Garssen J *et al*, Decreased pro-inflammatory cytokine production by LPS-stimulated PBMC upon in vitro incubation with flavonoids apigenin, luteolin or chrysin due to selective elimination of monocyte/macrophages. *Biochem Pharmacol* 69 (2005) 241-248.
- [19] Jagtap AG, Shirke SS, Phadke AS, Effect of polyherbal formulation on experimental models of inflammatory bowel disease. *J Ethnopharmacol* 90 (2004) 195-204.
- [20] Janmejai K, Srivastava A, Mitali P, Sanjay G, Chamomile, a novel and selective COX-2 inhibitor with anti-inflammatory activity. *J Life Sciences* 85 (2009) 663-669.
- [21] Kasper, Braunwald, Fauci, Hausen, Long, and Jameson; *Principles of internal Medicine*, 16<sup>th</sup> Edition; McGraw Hill, 2005: 1776-1778.
- [22] Kobayashi Y, Takashi R, Ogino F, Antipruritic effect of the single oral administration of German Chamomile flower extract and its combined effect with antiallergic agent in ddY mice. *J Ethnopharmacol* 101 (2005) 308-312.
- [23] Kupfersztain C, Rotem C, Fagot R, Kaplan B, The immediate effect of natural plant extract, *Angelica sinensis* and *Matricaria chamomilla* (Climex) for the treatment of hot flushes during menopause. *Clin Exp Obstet Gynecol* 30 (2003) 203-206.
- [24] Ligumsky M, Karmeli F, Sharon P, Zor U, Cohen F, Rachmilewitz D, Enhanced thromboxane A<sub>2</sub> and prostacyclin production by cultured rectal mucosa in ulcerative colitis and its inhibition by steroids and sulfasalazine. *Gastroenterol* 81(3) (1981) 444-449.
- [25] Lobos EA, Sharon P, Stenson WF, Chemotactic activity in inflammatory bowel disease. Role of leukotrien B<sub>4</sub>. *Dig Dis Sci* 32(12) (1987) 1380-1388.
- [26] Mascolo N, Izzo A, Autore G, Maiello F, DiCarlo G, Capasso F, Acetic acid-induced colitis in normal and essential fatty acid deficient rats. *J Pharmacol Exp Ther* 272 (1995) 469-475.
- [27] McKay DL, Blumberg JB, A review of bioactivity and potential health benefit of Chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother Res* 20 (2006) 519-530.
- [28] Miles EA, Zoubouli P, Calder PC, Effects of polyphenols on human Th1 and Th2 cytokine production. *Clin Nutr* 24 (2005) 780-784.
- [29] Mirshafiey A, Khodadadi A, Rehn BH, Khorramizadeh MR, Eslami MB, Razavi A *et al*, Sodium alginate as a novel therapeutic option in experimental colitis. *Scand J Immunol* 61 (2005) 316-321.
- [30] Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL, Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *J Gastroenterol* 96 (1989) 795-803.
- [31] Navarrete A, Trejo-Mirandd J, Reyes-Trejo L, Principles of root bark of *Heppocratea excela* with gastroprotective activity. *J Ethnopharmacol* 79 (2002) 383-388.
- [32] Piva LAF, Gurle LA, Desousa ET, Silveria ER, Silva RM, Santoz FA *et al*, Protective effect of *Copaifera Langsdorffi* oleo-resin against acetic acid-induced colitis in rats. *J Ethnopharmacol* 93 (2004) 51-56.
- [33] Raskin I, M.Ribnický D, Komarnytsky S, Ilic N, Poulev A, Borisjuk N, Brinker A, A. Moreno D, Ripoll Ch, Yakoby N, M.O'Neal J, Cornwell T, Pastor I and Fridlender B, Plants and human health in the twenty-first century. *TRENDS Biotechnol* 12 (2002) 522-531.
- [34] Sairam K, Rao CV, Dora Babu M, Vijay Kumar VK, Goel RK, Antiulcerogenic effect of methanolic extract of *Emblca officinalis*: an experimental study. *J Ethnopharmacol* 82 (2002) 1-9.
- [35] Sertié JAA, Carvalho JCT, Panizza S, Antiulcer activity of the crude extract from the leaves of *Casearia sylvestris*. *Pharm Biol* 38 (2000) 112-119.
- [36] Sharma SS, Gupta YR, Reversal of cisplatin-induced delay in gastric emptying in rats by ginger (Zingiber officinale). *J Ethnopharmacol* 1 (1998) 49-55.
- [37] Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, *et al*, Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative

- Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut* 5 (1996) 690-697.
- [38] Singer II, Kawka DW, Schloemann S, Tessner T, Riehl T, Stenson WF, Cyclooxygenase-2 is induced in colonic epithelial cells in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 115 (1998) 297-306.
- [39] Trouillas P, Calliste CA, Allais DP, Simon A, Marfak A, Delage Ch, Duroux JL, Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chemistry* 80 (2003) 399-407.
- [40] Villegas I, Alarcon de la Lastra C, Orjales A, La Casa C, A new flavonoid derivative, dosmalfate, attenuates the development of dextran sulphate sodium-induced colitis in mice. *Int Immunopharmacol* 13 (2003) 1731-1741.
- [41] Williams KL, Fuller R, Dieleman LA, Dacosta CM, Haldeman KM, Sartor RB *et al*, Enhanced survival and mucosal repair after dextran sodium sulfate-induced colitis in transgenic mice that overexpress growth hormone. *Gastroenterology* 120 (2001) 925-937.
- [42] Yamada Y, Marshall S, Specian RD, Grisham MB, A comparative analysis of two models of colitis in rats. *J Gastroenterol* 102(5) (1992) 1524-1534.
- [43] Yamada T, Fujimoto K, Tso P, Gaginella TS, Grisham MB, Misoprostole accelerates colonic mucosal repair in acetic acid-induced colitis. *J Pharmacol Exp Ther* 260(1) (1992) 313-318.
- [44] Yu ES, Min HJ, An SY, Won HY, Hong JH, Hwang ES, Regulatory mechanisms of IL-2 and IFN $\gamma$  suppression by quercetin in T helper cells. *Biochem Pharmacol* 76 (2008) 70-78.
- [45] Zargari A, editor. *Medicinal plants*. 3rd ed. Tehran: university of tehranm, 1371, P. 1-4, 153-158.