

# Estudo do mecanismo de ação do extrato etanólico da *Chamomilla recutita* (L) Rauschert sobre o miocárdio de cobaia

Study of the mechanism of action of ethanol extract of *Chamomilla recutita* (L) Rauschert on the myocardium of guinea pig

E. L. Barbosa<sup>1,2</sup>; M. S. Santos<sup>1,2</sup>; C. M. L. Vasconcelos<sup>1</sup>; S. L. Santos<sup>1</sup>;  
E. A. C. Garcia<sup>1</sup>; E. D. Oliveira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão-SE, Brasil

<sup>2</sup>Núcleo de Fisioterapia, Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão-SE, Brasil

evaleide@uol.com.br

A *Chamomilla recutita* (L) Raucher é uma planta conhecida desde a antiguidade devido às suas propriedades medicinais, cosméticas, ornamentais e aromáticas. Apresenta efeito adstringente, antialérgica, calmante, sedativa, antiinflamatória, analgésica, entre outras. Apesar de sua grande utilização, pouco pôde ser encontrado sobre os efeitos dessa planta no coração de mamífero, dessa forma esse trabalho visou avaliar os efeitos inotrópicos do extrato etanólico da camomila em miocárdio de cobaia (*Cavia porcellus*). Os experimentos foram realizados em átrio esquerdo isolado de cobaia montado em cuba (4-5 ml, Tyrode, 29±0.1°C, 95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>), estirado (1gf) e estimulado (400V, 0,5 ms), e a força de contração foi registrada, digitalizada e gravada em um computador. A força isométrica da contração atrial na presença do extrato foi reduzida em 60% indicando um efeito inotrópico negativo de maneira concentração-dependente e reversível após lavagem, apresentando uma CE<sub>50</sub> de 1,98 mg/mL. Alguns possíveis mecanismos de ação foram então investigados, obtendo-se como resultado uma eficácia relativa de 30% sobre os efeitos inotrópicos produzidos pelo CaCl<sub>2</sub>, e nenhum resultado significativo produzido pelo TEA e pelos receptores adrenérgicos e colinérgicos. Conclusões: No átrio esquerdo de cobaia a camomila deprimiu a força de contração, inibindo parcialmente as correntes dos canais de cálcio. Já as correntes de potássio e os receptores adrenérgicos e colinérgicos não interferem no mecanismo de inotropismo negativo produzido pela camomila pois seus efeitos não foram estatisticamente significantes.

Palavras-chave: átrio; cobaia; chamomilla recutita

The *Chamomilla recutita* (L) Raucher is a plant known since ancient times due to the medicinal, cosmetic, aromatic and ornamental properties. Its effects include astringent, hypoallergenic, soothing, sedative, anti-inflammatory, analgesic and others. Despite its widespread use could be found shortly on the effects of this plant in mammalian heart, so this study aims to evaluate the inotropic effects of ethanol extract of chamomile in the myocardium of guinea pig (*Cavia porcellus*). The experiments were performed in isolated guinea pig left atrium mounted in Cuba (4-5 ml Tyrode, 29 ± 0.1 °C, 95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>), stretched (1gf) and stimulated (400 V, 0.5 ms), and force of contraction was recorded, digitized and recorded on a computer. Isometric force of atrial contraction in the presence of the extract was reduced by 60% indicating a negative inotropic effect of concentration-dependent manner and reversible after washing, with an EC<sub>50</sub> of 1.98 mg / mL. Some possible mechanisms of action were then investigated, resulting in a relative effectiveness as a result of 30% of the inotropic effects produced by CaCl<sub>2</sub>, and no significant result produced by the TEA and the adrenergic and cholinergic receptors. Conclusions: Chamomile depressed the force of contraction in guinea pig left atrium, partially inhibiting the calcium channel currents. Potassium currents and cholinergic and adrenergic receptors do not interfere in the mechanism of negative inotropism produced by chamomile because their effects were not statistically significant.

Keywords: atrium; guinea pig; chamomilla recutita

## 1. INTRODUÇÃO

Grande parte da população mundial, carente de atendimento médico e de condições financeiras para adquirir produtos farmacêuticos utiliza-se dos “poderes” das plantas medicinais. Por ser um país de biodiversidade admirável, o Brasil merece destaque pela flora

riquíssima em exemplares que podem ser utilizados como remédio. Entretanto, muitas espécies vêm desaparecendo, vítimas da extração predatória, das queimadas e da devastação.

É em função do uso indevido e demorado de plantas medicinais que o seu conhecimento científico faz-se de suma importância. Pela tradição oral, muitas espécies apresentam propriedades curativas, contudo é preciso comprovar a eficácia e a segurança de seu uso. Pesquisadores do mundo inteiro buscam na flora substâncias ativas, para estudos farmacológicos cada vez mais avançados e posterior viabilidade de sua síntese. A síntese dessas substâncias contribui de certa forma para que a flora seja preservada.

A camomila é uma das ervas medicinais mais antigas conhecidas pela humanidade, ela é um membro da família Asteraceae Compositae. As flores secas de camomila contêm muitos terpenóides e flavonóides que contribuem para suas propriedades medicinais e por isso preparações de camomila são comumente usadas para muitas doenças humanas, tais como febre do feno, distúrbios menstruais, úlceras, feridas, distúrbios gastrointestinais, dores reumáticas, e hemorróidas [1]. Os efeitos obtidos com o uso da camomila estão relacionados com a presença de terpenos e flavonóides em sua constituição. Camazuleno e  $\alpha$ -bisabolol são os componentes mais importantes do óleo essencial desta planta [2].

Segundo Tubaro, em 1984, e Muller e cols., em 1996, os compostos de camomila podem apresentar efeitos antioxidantes e antiinflamatórios por uma inibição de prostaglandinas e leucotrienos, podendo ainda apresentar certo auxílio na cicatrização das lesões [3 e 4].

A *Chamomilla recutita* (L) Rauschert é uma planta herbácea que apresenta propriedades medicinais, cosméticas, ornamentais e aromáticas. Possui caule ereto de pequeno porte, alcançando cerca de 30 a 50 cm de altura. Suas folhas são verdes, lisas na página superior e recortadas em segmentos afilados. As inflorescências do tipo capítulo são semelhantes às das margaridas, com centro amarelo e corola simples de pétalas brancas. A floração ocorre na primavera e verão [5]. Seus extratos e óleos essenciais são amplamente utilizados na indústria de medicamentos e de cosméticos, pois possui ativos calmantes e emolientes. O chá das flores é utilizado na medicina popular como sedante e antiespasmódico. Na medicina tradicional, apresenta propriedades adstringente, antialérgica, calmante, sedativa, antiinflamatória, espasmolítica, analgésica e anticonvulsiva, entre outras [6,7,8,9,]. Por tais propriedades a camomila é bastante utilizada em processos inflamatórios, ansiedade, insônia, enjôos, cólicas infantis, etc [8, 10, 11,12]. A atividade espasmolítica é devida principalmente aos flavonóides [13]. Já para a propriedade antialérgica, Chandrashekar (2011) em seu estudo sugeriu que o extrato metanólico de *Matriarca recutita* mostrou atividade antialérgica potente pela inibição da liberação de histamina dos mastócitos [14].

A *Camomilla* é um eficiente inibidor de recaptção de serotonina e noradrenalina, efetivamente utilizado como antidepressivo. Esse efeito foi comprovado no estudo de Niederhofer (2009) no qual mostrou que essa planta pode ser utilizada no tratamento do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade [15].

O óleo essencial da camomila (CEO) é particularmente conhecido por inibir o dano genotóxico produzidas por agentes mutagênicos em células somáticas de ratos. Em estudos foi constatado que o CEO é um eficiente agente quimiopreventivo contra o dano induzido pela DAU (Daunorubicina), antibióticos anti-tumorais, em as células precursoras da linha germinativa de camundongos, e que a sua capacidade antioxidante pode induzir esse efeito [16].

Outros estudos mostram que extratos de camomila podem ter implicação terapêutica no tratamento favorável em casos oncogênicos [17]. Já de acordo com Martins (2009), a camomila em comparação com corticoesteróides promove cicatrização da ferida mais rápida no processo de cura [18]. E segundo Fonseca (2011), após dez dias de tratamento com pomada de camomila, há estimulação da reepitelização e a formação de fibras colágenas, porém não tem influência na quantidade de fibroblastos produzidos na inflamação [19].

Apesar de sua grande utilização e do conhecimento dos principais compostos existentes nas diversas partes desse vegetal, pouco pôde ser encontrado sobre os efeitos dessa planta no coração de mamífero. Estudos feitos anteriormente em músculo liso de útero de rata indicam uma possível semelhança na resposta de músculo cardíaco. Desse modo, Laboratório de Biofísica dos Tecidos Excitáveis do Departamento de Fisiologia/CCBS/UFS realizou um

screening farmacológico com extrato etanólico de *Chamomilla recutita* em átrio esquerdo de cobaia e neste experimento observou-se que houve depressão da força de contração do átrio de cobaia. Assim sendo, devido aos efeitos sobre a redução da força contrátil e da grande aplicabilidade terapêutica de drogas ou produtos que reduzem a contratilidade cardíaca torna-se importante estudar os mecanismos de ação da resposta inotrópica deste extrato.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. ANIMAIS

Foram usadas cobaias adultas (*Cavia porcellus*) de ambos os sexos, provenientes do biotério da Universidade Federal de Sergipe, pesando entre 300 a 500 gf. Foram obedecidas as normas vigentes aprovadas pelo Comitê de Ética e Bioética da Universidade Federal de Sergipe.

### 2.2. TESTES EXPERIMENTAIS COM O EXTRATO DE *Chamomilla recutita*

#### 2.2.1. EFEITO DO EXTRATO ETANÓLICO DA *Chamomilla recutita* SOBRE A FORÇA DE CONTRAÇÃO DO ÁTRIO ESQUERDO DE COBAIA

Os testes mecânicos foram feitos registrando-se a força de contração de átrios de cobaias isolados e mantidos em banho para órgão. Essas preparações serão mantidas em Tyrode a  $27 \pm 0.1^\circ\text{C}$  (NaCl 137 mM, KCl 5.0 mM,  $\text{MgCl}_2$  0.5 mM,  $\text{NaHCO}_3$  12 mM,  $\text{CaCl}_2$  1.37 mM, glicose 6.0 mM,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1.8 mM) oxigenado e equilibrado com mistura carbogênica (95% de  $\text{O}_2$  + 5% de  $\text{CO}_2$ ).

As preparações biológicas foram pré-estiradas a 1 gf e submetidas a uma estimulação de campo com pulso de 400 V e 0,5 ms (DIGITIMER D3040, 3072). Suas forças foram medidas com transdutor isométrico (FTA10 HP/SUNBORN) acoplado a um amplificador HP 8805B. Os sinais foram registrados em polígrafo de inscrição térmica (HP7754A, 7754B) e também armazenados em microcomputador (DATAQ DI-205, DI-400).

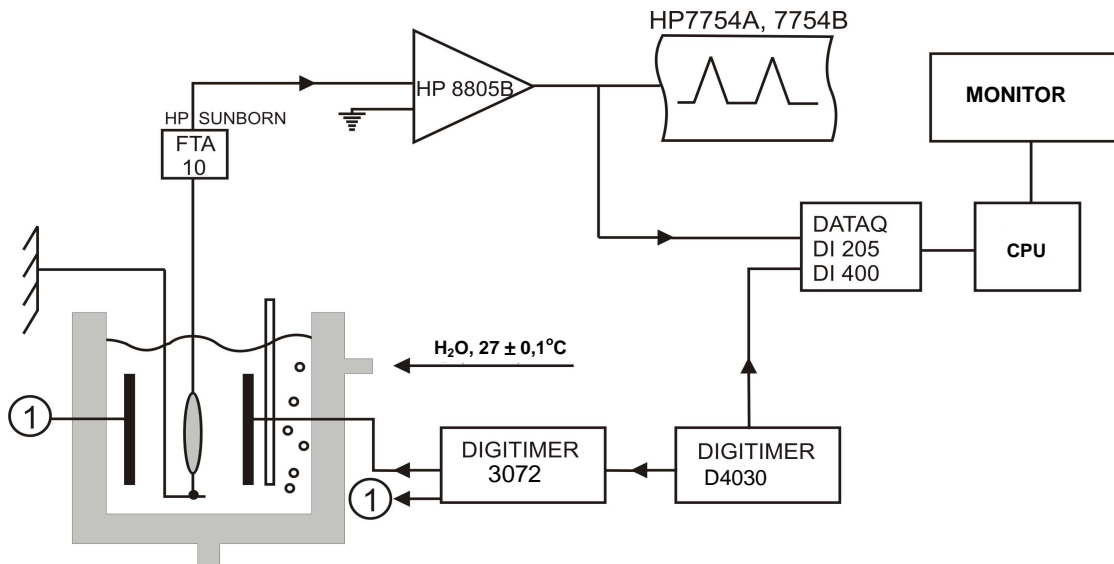


Figura 1: Diagrama esquemático da montagem experimental usada para determinar a força de contração atrial. A força atrial será medida com um transdutor isométrico (HP FTA 10) acoplado a um amplificador (HP 8805B). Os sinais serão registrados em polígrafo (HP7754A, 7754B) e armazenados em computador (Dataq DI205, DI400, WinDAQ Pro Acquisition). O átrio será estimulado a 2 Hz, 400 V e 0,5 ms (Digitimer D3072, Digitimer D4030)

### **2.2.2. AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO ETANÓLICO DA *Chamomilla recutita* SOBRE A RESPOSTA INOTRÓPICA DO ÁTRIO ESQUERDO DE COBAIA A BLOQUEADORES DE RECEPTORES ADRENÉRGICOS E COLINÉRGICOS**

Para avaliar o possível antagonismo dos extratos da *Chamomilla recutita* à receptores adrenérgicos e colinérgicos foram utilizados drogas bloqueadores adrenérgicos (propranolol) e colinérgicos (atropina). Para isso, preparações de átrio esquerdo de cobaia foram mantidas em solução de Tyrode-Dorigo modificado a  $27 \pm 0,1$  °C e estirados para uma tensão de repouso de 1,0gf.

Após um período de estabilização (1 h), uma curva concentração resposta cumulativa ao extrato etanólico da *Chamomilla recutita* foi obtida. Em seguida, a droga bloqueadora (2000 mg/mL) foi incubado por 20 minutos e, ainda em sua presença, uma segunda curva, concentração-resposta cumulativa foi obtida com as concentrações previamente estabelecidas (100µg/mL, 300µg/mL, 500µg/mL, 800µg/mL, 1000µg/mL, 1500µg/mL, 2000µg/mL, 2500µg/mL, 3000µg/mL, 3500µg/mL, 4000µg/mL, 4500µg/mL, 5000µg/mL, 6000µg/mL, 7000µg/mL). Os resultados, normalizados percentualmente, foram avaliados comparando-se a resposta contrátil na presença do bloqueador administrado.

### **2.2.3. TESTES EXPERIMENTAIS PARA AVALIAR O EFEITO DO EXTRATO DA *Chamomilla recutita* (L) Raucher SOBRE A RESPOSTA INOTRÓPICA DO ÁTRIO ESQUERDO DE COBAIA A CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE $\text{CaCl}_2$ NO MEIO EXTRACELULAR.**

Para avaliar o possível antagonismo dos extratos da *chamomilla recutita* à entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  nos cardiomiócitos atriais, foi adotado o protocolo de Dorigo et al. (1990) [20]. Para isto, preparações de átrio esquerdo de cobaia foram mantidas em soluções de Tyrode-Dorigo-modificado a  $29 \pm 0,1$ °C e estirados para uma tensão de repouso de 1,0 gf.

Após um período de estabilização (1h), duas curvas concentração-resposta cumulativas ao  $\text{CaCl}_2$  (concentrações de cálcio: 0,02137; 0,0855; 0,171; 0,342; 0,685; 1,37; 2,055; 2,74; 4,11; 5,48; 6,85; 8,22 nM) foram obtidas [20]. Em seguida, o extrato (2000 µg/ml) foi incubado por 15 minutos e, ainda em sua presença, uma terceira curva, concentração- resposta cumulativa foi obtida com as concentrações citadas para o  $\text{CaCl}_2$ . Cada preparação foi submetida a uma única concentração do extrato (2 mg/mL). Os resultados, normalizados percentualmente, foram avaliados comparando-se a resposta contrátil na presença do extrato com aquela obtida em situação controle.

### **2.2.4 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO EXTRATO ETANÓLICO DA *Chamomilla recutita* SOBRE OS CANAIS DE POTÁSSIO DO MIOCÁRDIO DE COBAIA**

Para estudar a possível participação de canais de potássio no efeito inotrópico da *Chamomilla recutita*, foram feitas duas curvas concentração-resposta, sendo uma em situação controle onde as concentrações crescentes de *Chamomilla recutita* para obter o efeito máxima do extrato foram 100µg/mL, 500µg/mL, 1000µg/mL, 1500µg/mL, 2000µg/mL, 2500µg/mL, 3000µg/mL, 3500µg/mL, 4000µg/mL, 5000µg/mL, e uma segunda curva após incubação do átrio esquerdo de cobaia com TEA (20 mM, 15 min), um bloqueador inespecífico de canais de potássio.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O estudo sobre o efeito inotrópico negativo da *Chamomilla recutita* foi investigado devido ao conhecimento de que muitos efeitos medicamentosos sobre a contratilidade cardíaca podem ser explicados em termos de ação sobre os receptores adrenérgicos, colinérgicos, canais de cálcio e canais de potássio. A *C. recutita* foi selecionada por possivelmente apresentar propriedades que atuam como: antiarrítmicas, anti-hipertensivas, antidepressivas, entre outras.

Os experimentos realizados neste estudo buscaram elucidar se o extrato etanólico da *C. recutita* deprimia o efeito inotrópico do miocárdio por interagir com as etapas do mecanismo de contração do cardiomiócito. Entre as abordagens realizadas estão os protocolos que visaram estudar a interferência do extrato etanólico sobre o inotropismo.

A fig. 2 mostra uma curva concentração-efeito com dados obtidos dos átrios submetidos à ação do extrato. A análise desta curva mostrou que a  $CE_{50}$  do extrato foi de 1,98 mg/ML.

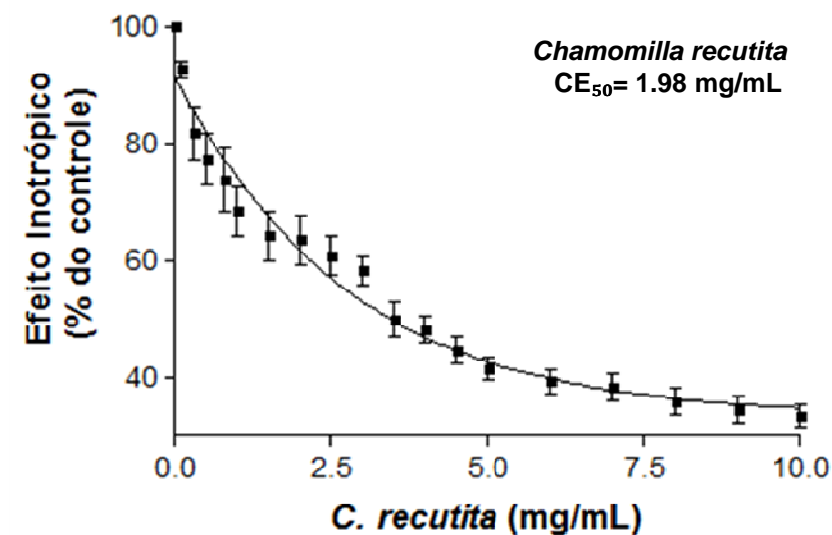


Figura 2: Curva concentração – efeito da ação inotrópica negativa do extrato etanólico da *Chamomilla recutita* em átrio esquerdo de cobaia (n=6 átrios)

Vários mecanismos podem estar envolvidos em uma resposta inotrópica negativa nas células cardíacas, entre elas temos, o antagonismo aos receptores adrenérgicos ou colinérgicos da membrana celular, a ativação dos canais de cálcio e o bloqueio dos canais responsáveis pela passagem do íon potássio através da membrana celular. O efeito inotrópico negativo observado com a aplicação da *Chamomilla recutita* em átrio de cobaia demonstra que possivelmente alguns destes mecanismos citados podem ser responsáveis pela resposta observada, desse modo outros protocolos, visando estudar qual via de sinalização estava sendo ativada no efeito inotrópico negativo da *C. recutita*, foram utilizadas drogas, que bloqueiam os receptores, e que bloqueiam os canais de membrana. Sendo assim, na presença do bloqueador de receptores adrenérgicos (propranolol) a fig. 3(A) mostra curvas do tipo concentração-resposta, obtidas pela adição cumulativa da *C. recutita*, tanto na ausência quanto na presença do propranolol (1 $\mu$ M). Pode-se observar que o efeito inotrópico negativo da *Chamomilla recutita* não apresentou alterações estatisticamente significantes perante o bloqueio dos receptores adrenérgicos. A resposta da *Chamomilla recutita* perante os receptores colinérgicos foi observada utilizando uma droga bloqueadora de receptores colinérgicos (atropina), na fig. 3(B) as curvas foram obtidas assim como a anterior, no entanto a droga utilizada foi a atropina (1,5 $\mu$ M), a  $CE_{50}$  no controle foi de  $1,87 \pm 0,15 \text{ mg/mL}$ , de modo que na presença da atropina a  $CE_{50}$  elevou-se para  $2,30 \pm 0,23 \text{ mg/mL}$ , este aumento sugere que a atropina inibiu parcialmente o efeito produzido pela *C. recutita*, porém apesar desta diferença as  $CE_{50}$  não foram estatisticamente significantes, contudo o extrato etanólico não tem efeito expressivo por essas vias de sinalização.

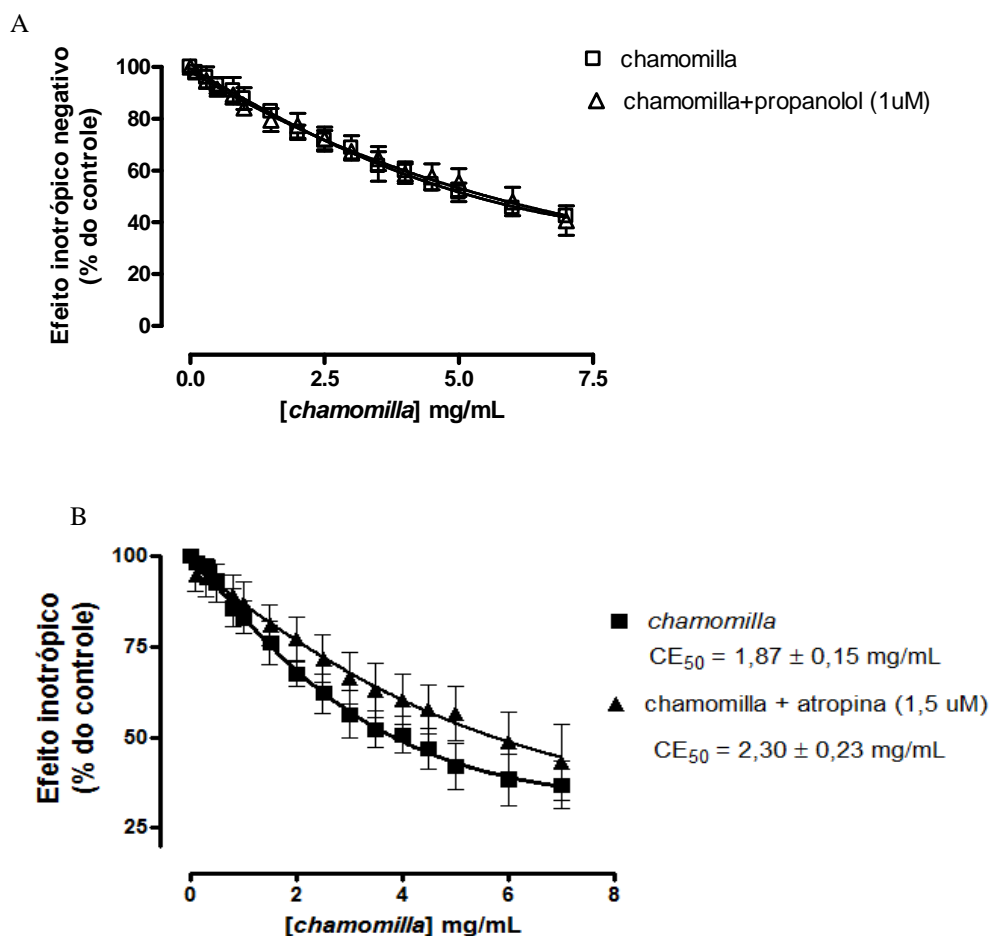


Figura 3: Curva concentração – efeito da ação inotrópica do extrato etanólico de *Chamomilla recutita*. A: no controle e na presença de bloqueador de receptores adrenérgicos (propranolol) em átrio esquerdo; B: no controle, e na presença de bloqueador de receptores colinérgicos (atropina) em átrio esquerdo de cobaia (n=3 átrios).

Visto que a *Chamomilla recutita* não apresentou efeito expressivo pela via de sinalização dos receptores adrenérgicos e colinérgicos, foi realizado um protocolo para evidenciar se a *C. recutita* apresentaria efeito sobre os canais de cálcio e potássio, desse modo, a figura 5 mostra curvas do tipo concentração-resposta obtidas pela adição cumulativa ao  $\text{CaCl}_2$  no banho tanto na ausência, quanto na presença do extrato etanólico da *C. recutita* (2,0 mg/ml). A curva correspondente ao extrato apresentou-se com desvio para a direita, sem guardar paralelismo com a curva controle. A  $\text{CE}_{50}$  no controle foi de 0,458 mM, enquanto que sob o efeito do extrato elevou-se para 0,599 mM, mostrando, assim, a capacidade do extrato etanólico antagonizar parcialmente os efeitos inotrópicos produzidos pelo  $\text{CaCl}_2$ . A eficácia relativa desse efeito foi de 30%. O aumento progressivo da força de contração atrial observada neste tipo de experimento se deve a uma progressiva elevação das correntes de entrada de cálcio nas células miocárdicas [20]. Esses resultados mostram que o extrato etanólico da *C. recutita* atua no miocárdio atrial da cobaia reduzindo o influxo de cálcio para as células desse tecido.

Para examinar se a *C. recutita* poderia estar reduzindo as correntes de entrada de cálcio como uma consequência secundária à abertura prematura de canais de potássio (evento que encurtaria os potenciais de ação) foram realizados experimentos com átrio isolado de cobaia nos quais se promoveu um bloqueio de canais de potássio. A análise do efeito da *C. recutita* sobre os canais de potássio nos cardiomiócitos atriais, demonstrada na figura 5, foi realizado através do protocolo em que foi utilizada uma droga bloqueadora inespecífica de canais de potássio (TEA 20 Mm). Em células cardíacas, as correntes de potássio são importantes para a manutenção do potencial de repouso e para o controle da duração do potencial de ação [21, 22]. A ativação de

canais de potássio no tecido cardíaco encurta a duração do potencial de ação, permitindo um tempo menor para que o influxo de cálcio ocorra nos cardiomiócitos. Assim, como a contração dessas células depende do nível intracelular de cálcio, a ativação de canais de potássio pode encurtar o potencial de ação, diminuir a quantidade de cálcio que entra na célula e, como consequência, reduzir a força de contração do músculo cardíaco [21, 22]. Na figura 5, o resultado indica que a *C. recutita* não tem ação estatisticamente significativa por essa via de sinalização.

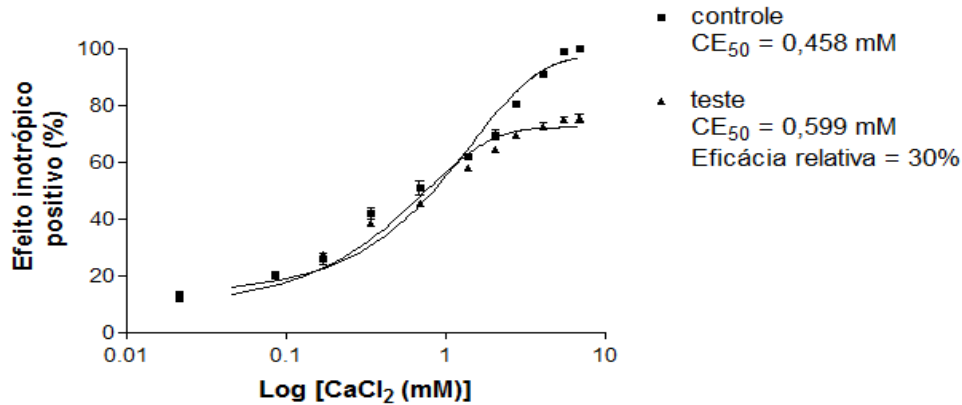


Figura 4: Efeito do extrato etanólico da *Chamomilla recutita* sobre as curva de  $\text{CaCl}_2$  em átrio esquerdo de cobaia ( $p > 0,05$ ;  $n=4$  átrios).

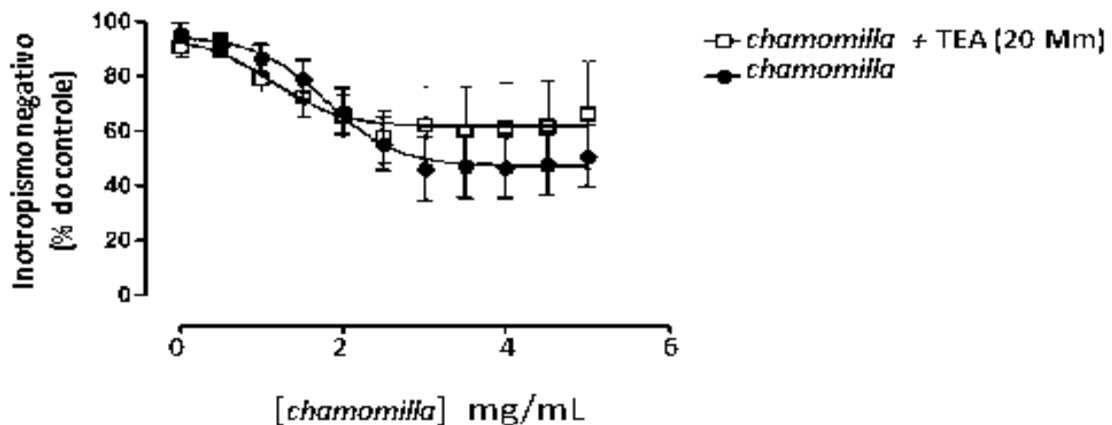


Figura 5: Curva concentração – efeito da ação inotrópica do extrato etanólico de *Chamomilla recutita* no controle, e na presença de um bloqueador inespecífico de canais de potássio (TEA).

Entretanto, como o extrato etanólico da *Chamomilla recutita* é uma mistura de várias substâncias, não se pode excluir que algum outro tipo de mecanismo possa ocorrer para favorecer uma resposta inotrópica negativa em cardiomiócito atrial de cobaia. Portanto, os resultados obtidos com o protocolo de efeito inotrópico mostrou que a *Chamomilla recutita* possui efeito depressor da força de contração atrial, no entanto em outros protocolos para elucidar a via de sinalização os resultados não foram estatisticamente significantes que pode indicar que talvez outros mecanismos atuem sobre a contratilidade do cardiomiócito atrial de cobaia.

#### 4. CONCLUSÃO

De acordo com os experimentos realizados em átrio esquerdo de cobaia, o extrato etanólico da *Chamomilla recutita* deprimiu a força isométrica de contração atrial em 60% de maneira concentração - dependente e reversível após lavagem (washout), com  $CE_{50}$  de 1,98mg/mL. Além disso, mostrou eficácia relativa de 30% em antagonizar parcialmente os efeitos inotrópicos produzidos pelo  $CaCl_2$ . Porém os resultados obtidos em relação as correntes de potássio e os receptores adrenérgicos e colinérgicos não foram estatisticamente significantes. Desse modo, pode-se concluir que esse extrato apresenta uma ação inotrópica negativa em cardiomiócitos de átrio esquerdo de cobaia, no entanto outros estudos tornam-se pertinentes para elucidar as vias de sinalização.

1. JK Srivastava, E Shankar, Gupta S. Camomila: A medicina herbal do passado com futuro brilhante. *Rev. Mol Med Report*, vol.3: 895-901,2010.
2. Seidler-Łożykowska, K. Determination of the ploidy level in chamomile (*Chamomilla recutita* (L.) Rausch.) strains rich in  $\alpha$ -bisabolol. *J. Appl. Gent.* 44(2), 2003, pp. 151-155.
3. Tubaro, A. Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato de camomila após aplicação tópica, *Planta Méd.* 1984; 51:359.16
4. Muller, T. e cols. Effects of some components of the essential oil chamomila of *Chamomilla recutita*, on histamine release from rat mast cells. *Planta Med.* 1996; 62(1):60-61.
5. Farmacopéia Brasileira, São Paulo: Atheneu. pp.13, 1996.
6. Ramadan, M.; Goeters, S.; Watzer, B.; Krause, E.; Lahmann, K. et al. Chamazulene carboxylic acid and matricin: a natural profen and its natural prodrug, identified through similarity to synthetic drug substances. *Journal of Natural Products*, 69(7): 1041-1045, 2006.
7. Sing, M.V; Dias, L.O; Baldini, N.L.F; Silveira,D; Zago, R. Desenvolvimento farmacotécnico e avaliação da estabilidade de gel com extrato aquoso de camomila para uso bucal. *Rev. Bras. Farm.* 89(2): 134-138, 2008.
8. Pinto SA,Bohland E,Coelho Cde P,Morgulis MS,Bonamin LV. An animal model for the study of *Chamomilla* in stress and depression: pilot study. *Homeopathy*, 97(3): 141-4, 2008.
9. Heidari MR,Dadollahi Z,Mehrabani M,Mehrabi H,Pourzadeh-Hosseini M,Behravan E,Etemad L. Study of antiseizure effects of *Matricaria recutita* extract in mice. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1171, 300-4, 2009.
10. Achterath-Tuckermann, U.; Kunde, R.; Flaskamp, E., Isaac; O. and Thiemer, K, Pharmacological investigations with compounds of chamomile. V. Investigations on the spasmolytic effect of compounds of chamomile and Kamillosan on the isolated guinea pig ileum. *Planta Medica*, 39, 38-50, 1980.
11. Larzelere, M. M. and Wiseman, P, Anxiety, depression, and insomnia. *Primary Care*, 29, 339-360, 2002.
12. Svehlikova, V.; Bennett, R.N.; Mellon, F.A.; Needs, P.W.; Piacente, S. et al. Isolation, identification and stability of acylated derivatives of apigenin 7-Oglucoside from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert). *Phytochemistry*, 65(16): 2323-2332, 2004.
13. Petroianu, G.; Szoke, E.; Kalász, H.; Szegi, P.; Laufer,R.; Benko, B.; Darvas, F.; Tekes, K. Monitoring by HPLC of Chamomile Flavonoids Exposed to Rat Liver Microsomal Metabolism. *The Open Medicinal Chemistry Journal*, 2009, 3, 1-7.
14. Chandrashekhkar VM,Halagali KS,Nidavani RB,Shalavadi MH,Biradar BS,Biswas D,Muchchandi IS. Anti-allergic activity of German chamomile (*Matricaria recutita* L.) in mast cell mediated allergy model. *Journal of ethnopharmacology*, 2011.
15. Niederhofer H. Observational study: *Matricaria chamomilla* may improve some symptoms of attention-deficit hyperactivity disorder. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 16 Edição, 284-6, 2009.
16. Hernández-Ceruelos A, E Santillán-Madrigal, Morales González-JA, G-ChamorroCevallos, Cassani-M Galindo, Bujaidar-Madrigal. Antigenotoxic Effect of 17
17. Ghonime M, Eldomany R, Abdelaziz A, Soliman H. Evaluation of immunomodulatory effect of three herbal plants growing in Egypt. *Immunopharmacol Imunotoxicol*,2010.
18. Martins MD, Marques MM, Bussadori SK, Martins MA, Pavesi VC, Mesquita-Ferrari RA, Fernandes KP. Comparative analysis between *Chamomilla recutita* and corticosteroids on wound healing. An in vitro and in vivo study. *Phytother Res*, 23(2):274-8, 2009.



19. Fonseca CM, Quirino MR, Patrocínio MC, Anbinder AL. Effects of *Chamomilla recutita* (L.) on oral wound healing in rats. *Rev. Medicina oral, patologia oral y cirugía bucal*. 2011.
20. Dorigo, P. et al., Comparison between the cardiac effects induced by muzolimine and furosemide in guinea-pig atria. *Cardiovasc. Drugs and Ther.*, 4: 1477-1486, 1990.
21. Berne RM, Levy MN. *Physiology*. 3<sup>rd</sup> edition. St. Louis. USA: Mosby Year Book, 2001.
22. Gardner NM, Kenneth JB. Resistance to antagonism of atrial P1 purinoceptor responses in the presence of K<sup>+</sup> channel blockage. *Eur. J. Pharmacol.*, 383: 143-153, 1999.