



## The Effect of *Rosmarinus officinalis* L. Aqueous Extract on Gastric Acid Secretion in Isolated Rats Stomach

Volkan GELEN<sup>1</sup> Fikret ÇELEBİ<sup>2</sup> Emin ŞENGÜL<sup>2</sup> Ali ÇINAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology, Kars, Turkey

<sup>2</sup> Atatürk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology, Erzurum, Turkey

Received: 31.03.2017

Accepted: 06.07.2017

### SUMMARY

In this study, the *in vitro* effect of *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) aqueous extract on rat gastric acid secretion was investigated. 24 male Sprague Dawley male rats were used in the study. Rats were euthanized by cervical dislocation in the presence of ketamine hydrochloride (Ketalar: 75 mg / kg) and xylazine (Rompun: 15 mg / kg) anesthesia. The isolated stomachs were left in the isolated organ bath for 1 hour for the incubation period. At the end of this period, the pH of the mucosal fluid obtained from the stomachs was evaluated as the basal pH. Histamine was then applied to the bath environment to induce stomach acid secretion and the pH values of the stomach contents were measured. Four different doses of Rosemary extract (150, 300, 600 and 1200 µg / ml) were applied to the bath separately and the pH of the stomach contents was recorded. In addition, Rosemary Extract's four separate doses were applied to the individual baths with Histamine and the pH values of the stomach contents were determined. The resulting pH values were compared to the basal pH and the ΔPH values were calculated. In conclusion, the effect of 150 µg / ml dose of Rosemary extract on gastric acid secretion was not statistically significant and doses of 300, 600 and 1200 µg / ml increased stomach acid secretion statistically significantly.

**Key Words:** Rosemary, Histamine, Rat, Gastric acid secretion

### ÖZET

## *Rosmarinus officinalis* L. Sulu Ekstraktının İzole Edilmiş Rat Midesinde Mide Asit Salgısı Üzerine Etkisi

Bu çalışmada *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) sulu ekstraktının rat mide asit salgısı üzerine *in vitro* etkisi araştırıldı. Araştırmada 24 adet Sprague Dawley cinsi ergin erkek rat kullanıldı. Ratlar ketamine hydrochloride (Ketalar: 75 mg/kg) ve xylazine (Rompun: 15 mg/kg) anestezisi eşliğinde servikal dislokasyon metodu ile ötenazi edilerek mideleri izole edildi. İzole edilen mideler izole organ banyosunda 1 saat inkubasyon periyoduna bırakıldılar. Bu periyodun sonunda, midelerden elde edilen mukozal sıvının pH'sı bazal pH olarak değerlendirildi. Daha sonra banyo ortamına Histamin uygulanarak mide asit salgısı indüklendi ve mide içeriğinin pH değerleri ölçüldü. Rosemary ekstraktının dört farklı dozu (150, 300, 600 ve 1200 µg/ml) banyoya ayrı ayrı uygulandı ve mide içeriklerinin pH'sı kaydedildi. Ayrıca Rosemary ekstraktının dört farklı dozu tek tek banyoya Histaminle ile birlikte uygulandı ve mide içeriklerinin pH değerleri belirlendi. Elde edilen pH değerleri, bazal pH ile karşılaştırıldı ve ΔpH değerleri hesaplandı. Sonuç olarak, Rosemary ekstraktının 150 µg/ml dozunun mide asit salgısı üzerine etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ve 300, 600 ve 1200 µg/ml dozlarının mide asit salgısını istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Rosemary, Histamin, Rat, Mide Asit Salgısı

### GİRİŞ

*Rosmarinus officinalis* (Rosemary), Labitae ailesine ait (Haloui ve ark. 2000), Akdeniz kökenli (González-Trujano ve ark. 2007), dünyanın birçok bölgesinde yaygın olarak yetişen çok yıllık bir bitki türüdür (Al-Sereiti ve ark. 1999). Yapısında rosmarinik asit, karnosik asit, karnosol ve luteolin gibi birçok önemli bileşik bulunan Rosemary (Bai ve ark. 2010), alternatif tıpta yaygın olarak

kullanılmaktadır. Rosmarinik asit, deri ve gastrointestinal kanaldan iyi derecede emilmektedir (Al-Sereiti ve ark. 1999). Karnosik asidin, adipogenezisi inhibe ederek preadipozitlerin adipozitlere farklılaşmasını engellemesiyle farelerde kilo kaybına, iç organların yağlanması azalmaya, serum trigliserit ve kolesterol seviyesinde azalmaya yol açtığı rapor edilmiştir (Wang ve ark. 2011). Rosemary ekstraktı hepatoprotektif (Sotelo-

Félix ve ark. 2002), antitrombik (Yamamoto ve ark. 2005), antiülserojenik (Dias ve ark. 2000), anti-diabetik, antioksidan (Ho ve ark. 2000; Bakirel ve ark. 2008), antinösesitif (González-Trujano ve ark. 2007) ve antiinflatuvar (Altinier ve ark. 2007) gibi birçok etkiye sahiptir. Yapılan çalışmalarda, Rosemary'nin etanol ekstraktının formaldehit ile oluşturulan inflamasyonda antiinflatuvar etkili olduğu belirlenmiştir (Mengoni ve ark. 2011). Rosemary vücutta çeşitli düz kaslar üzerine spazmolitik etkiye sahiptir (Aqel 1991; Sagorchev ve ark. 2010; Ventura-Martínez ve ark. 2011). Yaprakları kaynatılarak yapılan çayının, hazımsızlık gibi sindirimin problemlerinde ve mide ağrısının dindirilmesinde kullanıldığı ifade edilmektedir (Romo de Vivar 1985; Martínez 1989; Argueta ve ark. 1994). Ham hidroalkolik ekstraktının ratlarda rezepin, etanol ve indometazin ile oluşturulan ülseratif mide lezyonlarını antioksidan etkinliğiyle azalttığı belirlenmiştir (Dias ve ark. 2000). Sunulan bu çalışmada, birçok etkisinin yanı sıra mide ülseri üzerine olumlu yönde etkisi bulunan Rosemary ekstraktının ratlarda *in vitro* mide asit salgısı üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Genellikle gıdalara aroma vermek amacıyla kullanılan Rosemary'nin uçucu yağlarının, gıda patojenleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada tavuk etindeki mikroflora üzerine etkili olduğu belirlenmiştir (Harmankaya ve Vatanser 2017).

## MATERYAL ve METOT

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar No/Yıl/Sayı: 70/2012/7-649). Çalışmada, Sprague Dawley cinsi ortalama 200-250 gr ağırlığında 24 adet erkek rat kullanıldı. Ratlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Ratlar standart bakım ve beslenme şartlarına tabi tutularak,

deneysel 12 saat öncesinde midelerin boşalması amacıyla yem kısıtlaması yapıldı.

### Rosemary Ekstraksiyonu

Gölgede kurutulmuş Rosemary bitkisi öğütücüden geçirilerek toz haline getirildi. Toz haline getirilen Rosemary'den 25 gr alındı ve üzerine 500 ml saf su eklendi. Karışım kaynama sıcaklığında 15 dk manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Sonrasında oda sıcaklığında soğutuldu ve Whatman No. 1 kâğıdı ile filtre edildi. Filtrat donduruldu ve -50°C'de 5 µm-Hg basınçta liyofilize edildi ve cam şişeye konularak kullanılabilecek kadar -20 °C'de saklandı (Nadaroglu H ve ark. 2009). Hazırlanan ekstrakt DMSO'da çözdürülerek banyoda final konsantrasyonu 150, 300, 600 ve 1200 µg/ml olacak şekilde dört farklı dozu hazırlandı.

### Mide Preparatının Hazırlanması

Ratlara deneysel çalışmadan 12 saat önce yem kısıtlaması yapıldı ve ad libitum su verildi. Ratlar ketamine hydrochloride (Ketalar: 75 mg/kg) ve xylazine (Rompun: 15 mg/kg) anestezi eşliğinde servikal dislokasyon metodu ile ötenazi edildiler. Ötenazi edilen ratların karın boşluğu median hat boyunca açılarak mide izole edildi. İzole edilen mide, içerisinde serozal solüsyon (mM: NaCl 118, KCl 4.8, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.14, NaHPO<sub>4</sub> 15.9, CaCl<sub>2</sub> 0.65, glukoz 31.6, pH: 7) bulunan petri içerisine alınarak mide çevresinde bulunan bağ ve yağ doku temizliği yapıldı. Mide içerisi mokoza solüsyon (mM: NaCl 137, KCl 4.8, MgSO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 1.3, glukoz 30, pH: 5) ile yıkandı. Daha sonra 2 mm çapında 2 adet plastik kanül midenin kardiya ve pyloris kısmına bağlandı (Komasoka ve ark. 2002). Bu şekilde hazırlanan mide preparatı içerisinde 20 ml serozal solüsyon bulunan, sıcaklığı 37°C olan izole organ banyosuna yerleştirilip %95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> içeren gaz karışımı ile sürekli gazlandı. (Topal ve Çelebi 2011). Banyo ortamına yerleştirilen mide preparatı bir saatlik inkubasyon periyoduna tabi tutuldu. Bu süreçte 15 dk aralıklarla midenin serozal ve mukozal kısmı yıkandı.

**Tablo 1.** Deneysel protokol ve pH ölçülmesi

**Table 1.** Experimental protocol and measurement of pH

Zaman	Prosedür	Reaksiyon	Test Döngüsü	Siklus*
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa ile mideye verildi.		
10 dk	Maruziyet süresi			
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı	pH ölçülmesi	I
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5 dk)		
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa ile mideye verildi.		
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa Histamin (10 <sup>-4</sup> M) uygulandı		
10 dk	Maruziyet süresi			II
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı	pH ölçülmesi	
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5 dk)		
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa ile mideye verildi.		
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa Histamin (10 <sup>-4</sup> M)+150 µg/ml Rosemary ext. Uygulandı.		
10 dk	Maruziyet süresi			III
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı	pH ölçülmesi	
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5 dk)		
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa ile mideye verildi.		
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa 150 µg/ml Rosemary ext. Uygulandı		
10 dk	Maruziyet süresi			IV
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı	pH ölçülmesi	
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı (5 dk)		

\* Her bir protokol üç kez tekrar edildi

Yukarıdaki protokol sırasıyla Rosemary'nin 300 µg/ml, 600 µg/ml ve 1200 µg/ml dozları için de uygulandı.

### Mide Salgısının Elde Edilmesi

İnkubasyon periyodundan sonra mideye pH'sı 5 olan 2 ml mukozal solüsyon, 1ml/dk hızla infüzyon pompası (Kandol Kangroo TM 924) yardımıyla kardiya bölgesinden pylorise doğru olacak şekilde yerleştirilmiş olan kanüllerden infüze edilip 10 dk bekledi. Bu sürenin sonunda mide içeriği alınarak pH metre (HANNA insturumen pH 211 Microprocessorphmeter) aracılığıyla içeriğin pH'sı belirlendi ve bu değer bazal pH olarak kabul edildi. Ardından banyo ortamına final konsantrasyonu  $10^{-4}$  M Histamin uygulanıp 10 dk maruziyet sağlandıktan sonra mukozal solüsyon alınarak pH'sı belirlendi. Daha sonra serozal solüsyonun bulunduğu 20 ml'lik organ banyosuna, Rosemary'nin her bir dozu ortama final konsantrasyonları 150 µg/ml, 300 µg/ml, 600 µg/ml ve 1200 µg/ml olacak şekilde non-kümülatif olarak eklenip, her doz için 10 dk maruziyet sağlandı ve bu sürenin sonunda mide içeriklerinin pH sı belirlendi (Tablo 1). Ayrıca Histaminle birlikte Rosemary'nin mide asit salgısı üzerine etkisini belirlemek amacı ile serozal solüsyonun bulunduğu kısma Histamin ( $10^{-4}$  M)+Rosemary'nin her bir dozu ayrı ayrı uygulanarak 10 dk maruziyet sağlandı. Sonra mukozal sıvı alınıp numunenin pH'sı belirlendi ve  $\Delta$ pH'lar aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\Delta pH = \bar{x}_{pH1} - \bar{x}_{pH0}$$

$\bar{x}_{pH1}$  = deneylerden elde edilen ortalama pH değeri

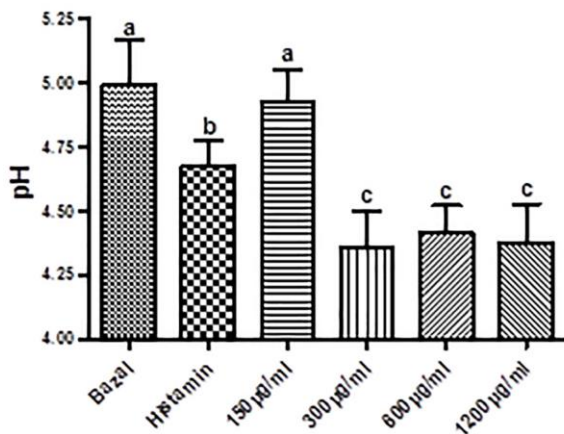
$\bar{x}_{pH0}$  = ortalama bazal pH değeri

### İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 20 programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar, One Way ANOVA'da Tukey testi kullanılarak değerlendirildi.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### BULGULAR

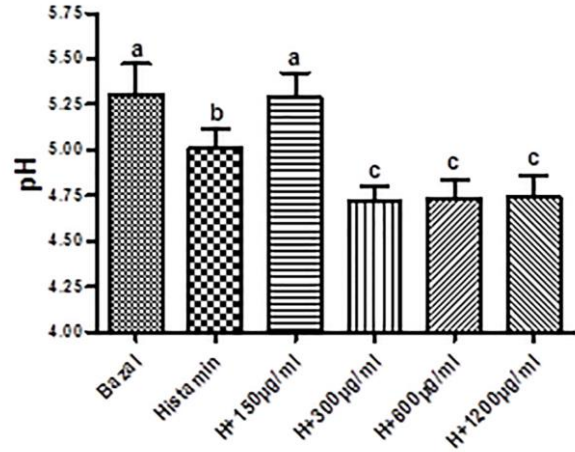
Rosemary ekstraktının 150, 300, 600 ve 1200 µg/ml dozlarının tek başına ve Histamin ( $10^{-4}$  M) ile birlikte *in vitro* mide asit sekresyonu üzerine etkileri belirlendi ve  $\Delta$ pH değerleri hesaplandı (Şekil 1, 2, 3 ve 4).



**Şekil 1.** *In vitro* mide asit salgısı üzerine Rosemary ekstraktının farklı dozlarının etkisi ( $n=12$ ,  $p < 0.05$ , Farklı harflerle gösterilen sütunlar istatistiksel olarak farklılık arz etmektedir).

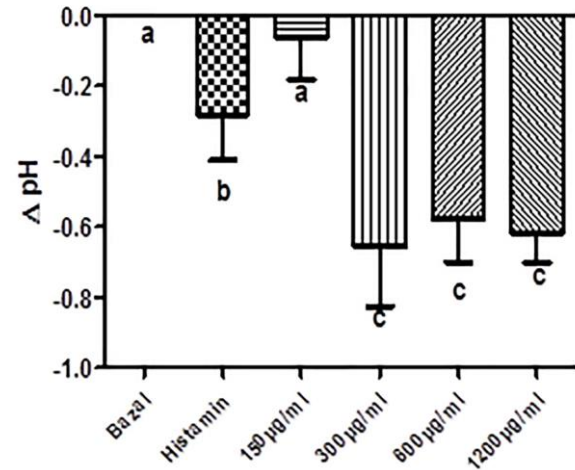
**Figure 1.** The effect of Rosemary's various doses on the *in vitro* gastric acid secretion ( $n=12$ ,  $p < 0.05$ , The columns marked with different letters are statistically different).

Rosemary'nin 150 µg/ml dozunun *in vitro* mide asit sekresyonu üzerine etkisinin istatistiksel olarak anlam ifade etmediği görüldü ( $p > 0.05$ , Şekil 1). Ekstraktın 300, 600 ve 1200 µg/ml dozlarının ise *in vitro* mide asit sekresyonunu anlamlı şekilde arttırdığı belirlendi ( $p < 0.05$ , Şekil 1). Banyo ortamına Rosemary'nin dozlarının Histaminle ( $10^{-4}$ M) birlikte uygulandığı zaman belirlenen pH değerlerinin, banyoya yalnız Rosemary'nin dozlarının uygulanması ile elde edilen pH değerlerinden farklılık arz etmediği gözlemlendi ( $P > 0.05$ , Şekil 1 ve 2).



**Şekil 2.** Mide asit salgısı üzerine Rosemary ekstraktının çeşitli dozlarının Histamin ( $10^{-4}$  M) ile birlikte *in vitro* mide asit salgısı üzerine etkisi ( $n=12$ ,  $p < 0.05$ , Farklı harflerle gösterilen sütunlar istatistiksel olarak farklılık arz etmektedir).

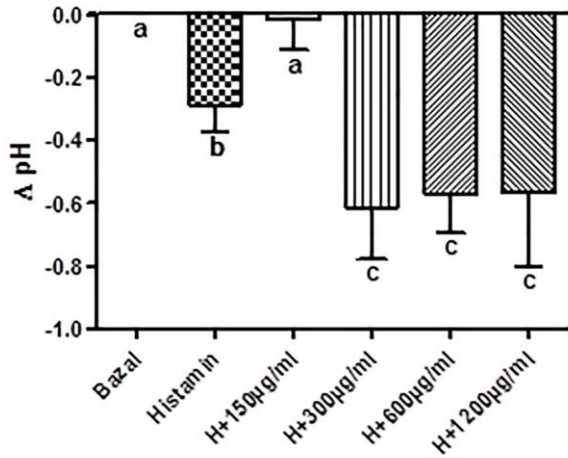
**Figure 2.** The effect of Rosemary's various doses as well as histamine ( $10^{-4}$  M) on the *in vitro* gastric acid secretion ( $n=12$ ,  $p < 0.05$ , The columns marked with different letters are statistically different).



**Şekil 3.** Rosemary ekstraktının farklı dozlarının uygulanmasıyla elde edilen *in vitro* mide asit salgısı  $\Delta$ pH değerleri ( $n=12$ ,  $p < 0.05$ , Farklı harflerle gösterilen sütunlar istatistiksel olarak farklılık arz etmektedir).

**Figure 3.** The gastric acid secretion  $\Delta$ pH values obtained by administration of different doses of Rosemary extract ( $10^{-4}$  M) ( $n=12$ ,  $p < 0.05$ , The columns marked with different letters are statistically different).





**Şekil 4.** Rosemary ekstraktının farklı dozlarının Histamin ( $10^{-4}$  M) ile birlikte uygulanmasıyla elde edilen  $\Delta$ pH değerleri ( $n=12$ ,  $p<0,05$ , Farklı harflerle gösterilen sütunlar istatistiksel olarak farklılık arz etmektedir).

**Figure 4.** The  $\Delta$ pH values obtained by co-administration of different doses of Rosemary extract with histamine ( $10^{-4}$  M) ( $n=12$ ,  $p<0,05$ , The columns marked with different letters are statistically different).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan Rosemary, organizmada birçok etkisinin yanı sıra güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkiye sahiptir. Ratlarda deneysel olarak oluşturulan inflamasyon ve ağrı modellerinde Rosemary esansiyel yağının antiinflamatuvar ve ağrı kesici etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Takaki ve ark. 2008). Rosemary'nin Azathioprine ile indüklenen hepatotoksistide karaciğeri koruyucu etkilerinin bulunduğu belirlenmiştir (Amin ve Hamza 2005) Bir başka çalışmada ise ratlarda karbontetraklorür ile indüklenen nefrotoksistide Rosemary sulu ekstraktının protektif etkinliğinin olduğu rapor edilmiştir (Sakr ve Lamfon 2012). Rosemary'den elde edilen fenolik bileşiklerin hiperkolesterolemik diyetle beslenen ratlarda plazma kolesterol düzeyini ve oksidatif stresi azalttığı görülmüştür (Afonso ve ark. 2013). Rosemary ekstraktının diyabetik ratlarda hepatoprotektif ve hipoglisemik etkilerinin olduğu da rapor edilmiştir (Ramadan ve ark. 2013). Rosemary'nin organizmada bu etkilerinin yanı sıra mide ülseri modellerinde antiülserojenik etkiye sahip olduğu farklı çalışmalar ile belirlenmiştir (Dias ve ark. 2000; Amaral ve ark. 2013). Gastrik ülserin patogenezinde önemli faktörlerden birisi de gastrik asit salgısının varlığıdır. Mide ortamındaki yüksek asidite ülserli mide mukozasının durumunu daha da kötüleştirebilmektedir (Savegnago ve ark. 2006). Bu çalışmada ülseratif mide lezyonları üzerine iyileştirici etkisinin varlığı bilinen Rosemary'nin *in vitro* mide asit salgısı üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı. Mide mukozasında bulunan parietal hücrelerin uyarılması ile salgılanan mide asit salgısı, üç farklı yoldan idare edilmektedir. Bu yollar; parakrin uyarılma olarak bilinen histamin yolağı, nöronal uyarılma denilen ACh yolağı ve hormonal uyarılma diye bilinen gastrin yolağıdır (Waldum ve ark. 2015; Waldum ve ark. 2016). Histamin midenin mukozal yüzeyinde bulunan enterokromafin (ECL) hücrelerinden salgılanır (Engelstoft ve ark. 2015) ve parietal hücreler üzerinde bulunan H<sub>2</sub> reseptörlerine bağlanarak bu hücrelerde adenilat siklazın aktivasyonuna neden olur (Abdul-Hussein ve ark. 2015). Adenilat siklaz enziminin aktivasyonu ile

siklik adenozin monofosfat (cAMP) oluşumu artar. Artan cAMP, parietal hücre ile kanalikuli arasında H<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> iyonlarının taşınımını sağlayan proton pompasının aktivasyonuna neden olur. Bu pompanın aktive olması ile parietal hücrelerden kanalikuliye yüksek konsantrasyonda salınan H<sup>+</sup> kanalikulide bulunan Cl<sup>-</sup> ile birleşir ve HCl oluşur (Phan ve ark. 2015; Panula ve ark. 2015; Jiang ve ark. 2015; Altamirano ve ark. 2016).

Çalışmamızda mide asit salgısını indükleyici ajan olarak Histamin kullanıldı ve banyo ortamına Histamin ( $10^{-4}$ M) uygulamasının mide asit salgısını önemli ölçüde artırdığı gözlemlendi. Histamin hem *in vitro* mide dokularının sağlıklı cevaplar verdiğini kontrol etmek hem de Rosemary ekstraktının *in vitro* mide asit salgısı üzerine etkileri ile mukayese amacıyla kullanıldı. Dias ve ark. pilorik ligasyon yöntemi ile Rosemary hidroalkolik ekstraktının mide asit salgısı üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, Rosemary'nin hidroalkolik ekstraktının mide içeriğinin pH'sını değiştirmediklerini belirlemişlerdir (Dias ve ark. 2000). Bizim çalışmamızda pilorik ligasyon yönteminden farklı olarak *in vitro* yöntem ile mide asit salgısı üzerine Rosemary ekstraktının farklı dozlarının etkileri araştırılmış olup, Rosemary ekstaktının 150 µg/ml dozunun *in vitro* mide asit salgısını istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırmadığı, 300, 600 ve 1200 µg/ml dozlarının ise *in vitro* mide asit salgısını bazal pH'ya kıyasla önemli düzeyde artırdığı gözlemlendi. Öte yandan Rosemary ekstraktının çeşitli dozlarının histamin ile birlikte banyo ortamına verildiğinde gastrik asit salgısını uyardığı ancak bu artışın ekstraktın dozlarının yalnız olarak banyo ortamına verildiğinde oluşan etki ile kıyaslandığında önemli bir farklılığın olmadığı görüldü.

Sonuç olarak bu çalışmada, Rosemary ekstraktının farklı dozlarının *in vitro* rat mide asit salgısını indüklediği belirlendi. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, daha önceki çalışmalarla antiülserojenik etkinliği belirlenen Rosemary'nin bu etkisini mide asit salgısını azaltarak gerçekleştirmediği, güçlü antiinflamatuvar ve antioksidan etkisi ile gerçekleştirmiş olabileceği düşünülmektedir. Rosemary ekstraktının *in vitro* mide asit salgısını indükleyici etkisinin hangi yollar aracılığıyla gerçekleştiği farklı çalışmalara konu olabilir.

## KAYNAKLAR

- Abdul-Hussein M, Freeman J, Castell D (2015). Concomitant administration of a histamine<sub>2</sub> receptor antagonist and proton pump inhibitor enhances gastric acid suppression. *Pharmacotherapy*, 35, 1124–1129.
- Afonso MS, de O Silva AM, Carvalho EB, Rivelli DP, Barros SB, Rogero MM, Lottenberg AM, Torres RP, Mancini-Filho J (2013). Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. *Nutr Metab (Lond)*, 10(1), 19.
- Altamirano M (2016). Backdiffusion of H<sup>+</sup> during gastric secretion. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 218, 1-6.
- Al-Sereiti MR, Abu-Amer KM, Sen P (1999). Pharmacology of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian J Exp Biol*, 37, 124-30.
- Altinier G, Sosa S, Aquino RP, Mencherini T, Della Loggia R, Tubaro A (2007). Characterization of topical antiinflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. *J Agric Food Chem*, 55(5), 1718-23.
- Amaral GP, de Carvalho NR, Barcelos RP, Dobrachinski F, Portella Rde L, da Silva MH, Lugokenski TH, Dias GR, da Luz SC, Boligon AA, Athayde ML, Villetti MA, Antunes Soares FA, Fachinetto R (2013). Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats. *Food Chem Toxicol*, 55, 48-55.
- Amin A, Hamza AA (2005). Hepatoprotective effects of Hibiscus, Rosmarinus and Salvia on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life Sci*, 77(3), 266-78.

- Aqel MB (1991).** Relaxant effect of the volatile oil of *Rosmarinus officinalis* on tracheal smooth muscle. *J Ethnopharmacol*, 33(1-2), 57-62.
- Argueta A, Cano L, Rodarte M (1994).** Atlas of Plants from Mexican traditional medicine. Indigenist National Institute, Mexico. 1786 pp.
- Bai N, He K, Roller M, Lai CS, Shao X, Pan MH, Ho CT (2010).** Flavonoids and phenolic compounds from *Rosmarinus officinalis*. *J Agric Food Chem*, 58(9), 5363-7.
- Bakirel T, Bakirel U, Keleş OU, Ulgen SG, Yardibi H (2008).** In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol*, 116(1), 64-73.
- Dias PC, Foglio MA, Possenti A, de Carvalho J (2000).** Antilcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. *J Ethnopharmacol*, 69(1), 57-62.
- Engelstoft MS, Lund ML, Grunddal KV (2015).** Research resource: a chromogranin A reporter for serotonin and histamine secreting enteroendocrine cells. *Mol Endocrinol*, 29, 1658-1671.
- González-Trujano ME, Peña EI, Martínez AL, Moreno J, Guevara-Fefer P, Déciga-Campos M, López-Muñoz FJ (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol*, 111(3), 476-82.
- Haloui M, Louedec L, Michel JB, Lyoussi B (2000).** Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaureum erythraea*. *J Ethnopharmacol*, 71(3), 465-72.
- Harmankaya S, Vatansver L (2017).** The Effect of Essential Oils of Rosemary and Clove on Shelf Life Chicken Meat. *Van Vet J*, 28 (1), 11-9
- Ho CT, Wang M, Wei GJ, Huang TC, Huang MT (2000).** Chemistry and antioxidative factors in Rosemary and sage. *Biofactor*, 13(1-4), 161-6.
- Jiang H, Wang W, Zhang Y (2015).** Cell polarity kinase MST4 cooperates with cAMP-dependent kinase to orchestrate histamine-stimulated acid secretion in gastric parietal cells. *J Biol Chem*, 282(22), 28272-28285.
- Komasaka M, Horie S, Watanabe K, Murayama T (2002).** Antisecretory effect of somatostatin on gastric acid via inhibition of histamine release in isolated mouse stomach. *Eur J Pharmacol*, 452(2), 235-43.
- Martínez M (1989).** Las plantas medicinales de Mexico, 6th ed. Botas, Mexico. 412-488.
- Mengoni ES, Vichera G, Rigano LA, Rodriguez-Puebla ML, Galliano SR, Cafferata EE, Pivetta OH, Moreno S, Vojnov AA (2011).** Suppression of COX-2, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  expression and leukocyte infiltration in inflamed skin by bioactive compounds from *Rosmarinus officinalis* L. *Fitoterapia*, 82(3), 414-21.
- Nadaroglu H, Nazan D, Yasar D (2009).** Antioxidant and radical scavenging activities of capsules of caper (*Capparis spinosa*). *Asian Journal of Chemistry*, 21, 5123-34.
- Panula P, Chazot PL, Cowart M (2015).** International union of basic and clinical pharmacology. XCVIII. Histamine receptors. *Pharmacol Rev*, 67, 601-655.
- Phan J, Benhammou JN, Pisegna JR (2015).** Gastric hypersecretory states: investigation and management. *Curr Treat Options Gastroenterol*, 13(4), 386-397.
- Ramadan KS, Khalil OA, Danial EN, Alnahdi HS, Ayaz NO (2013).** Hypoglycemic and hepatoprotective activity of *Rosmarinus officinalis* extract in diabetic rats. *J Physiol Biochem*, 69(4), 779-83.
- Romo de Vivar (1985).** Natural Products from Mexican Flora. Limusa, Mexico. 56 pp. (in Spanish)
- Sagorchev P, Lukanov J, Beer AM (2010).** Investigations into the specific effects of Rosemary oil at the receptor level. *Phytomedicine*, 17(8-9), 693-7.
- Sakr SA, Lamfon, HA (2012).** Protective effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves extract on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in albino rats. *Life Sci J*, 9(1), 779-85.
- Savegnago L, Trevisan M, Alves D, Rocha JBT, Nogueira CW, Zeni G (2006).** Antisecretory and antiulcer effects of diphenyl diselenide. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21, 86-92.
- Sotelo-Félix JL, Martínez-Fong D, Muriel P, Santillán RL, Castillo D, Yahuaca P (2002).** Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. *J Ethnopharmacol*, 81(2), 145-54.
- Takaki I, Bersani-Amado LE, Vendruscolo A, Sartoretto SM, Diniz SP, Bersani-Amado CA, Cuman RK (2008).** Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in experimental animal models. *J Med Food*, 11(4), 741-6
- Topal A, Çelebi F (2011).** Effects of *Nigella sativa* aqueous extracts on gastric acid secretion in isolated rat stomach. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17, 531-6.
- Ventura-Martínez R, Rivero-Osorno O, Gómez C, González-Trujano ME (2011).** Spasmolytic activity of *Rosmarinus officinalis* L. involves calcium channels in the guinea pig ileum. *J Ethnopharmacol*, 137(3), 1528-32.
- Waldum HL, Hauso Ø, Brenna E, Qvigstad G, Fossmark R (2016).** Does long-term profound inhibition of gastric acid secretion increase the risk of ECL cell-derived tumors in man? *Scand J Gastroenterol*, 51(7), 767-773.
- Waldum HL, Kleveland PM, Fossmark R (2015).** Upper gastrointestinal physiology and diseases. *Scand J Gastroenterol*, 50, 649-656.
- Wang T, Takikawa Y, Satoh T, Yoshioka Y, Kosaka K, Tatemichi Y, Suzuki K (2011).** Carnosic acid prevents obesity and hepatic steatosis in ob/ob mice. *Hepatol Res*, 41(1), 87-92.
- Yamamoto J, Yamada K, Naemura A, Yamashita T, Arai R (2005).** Testing various herbs for antithrombotic effect. *Nutrition*, 21(5), 580-7.
- Yang L, Wei-Ping W, Hong-Ying W, Chi-Hin C (2000).** Intragastric administration of heparin enhances gastric ulcer healing through a nitric oxide-dependent mechanism in rats. *Eur J of Pharmacol*, 399, 205-14.