اثر عصاره آبی - الکلی ریزوم گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) بر فعالیت مکانیکی کولون ایزوله موش صحرایی نر و تداخل اثر آن با سیستم کولینرژیک

ناهید قایدی[1]، امین‌الله بهاءالدینی[1]، سیداسماعیل خوشنام[2]*

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۲- گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، دانشکده پزشکی، اهواز، ایران
* آدرس مکاتبه: گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران
تلفن: ۰۹۱۷۱۴۹۱۷۲۹، نمابر: ۳۷۳۸۲۴۸ (۰۶۱۱)
پست الکترونیک: esmaeil.khoshnam1392@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۱۹ **تاریخ تصویب:** ۹۵/۴/۶

چکیده

مقدمه: گیاه شیرین‌بیان **(Licorice)** از گیاهان دارویی بومی ایران است که در طب سنتی برای درمان زخم معده و رفع گرفتگی روده مورد استفاده بوده است.

هدف: در تحقیق حاضر تأثیر عصاره آبی و الکلی ریزوم شیرین‌بیان بر حرکات کولون ایزوله موش صحرایی نر به روش زیر مطالعه شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، بافت کولون تعداد ۱۰ سر موش صحرایی نر بالغ جدا و به دو گروه آزمایش و کنترل تقسیم شدند که هر گروه شامل ۱۰ قطعه بافت بوده است. قطعات به ترانسدیوسر نیرو به صورت طولی آویزان شده و به درون حمام‌های بافتی محتوی محلول تیرود اکسیژنه ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH= ۷/۴ فرو برده شدند. فعالیت مکانیکی قطعات توسط دستگاه پاورلب در حالت پایه، در پاسخ به استیل کولین (۴×۱۰^{-۶} مولار) و آتروپین ($۱۰^{-۶}$ مولار) در حضور و عدم حضور عصاره ریزوم شیرین‌بیان (۰/۰۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ثبت شد. همچنین فعالیت مکانیکی قطعات گروه کنترل در شرایط مشابه با حلال عصاره (اتانول ۷۰ درصد) ثبت شد.

نتایج: در حضور عصاره آبی الکلی شیرین‌بیان، فعالیت مکانیکی بافت در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. همچنین کاهش معنی‌داری در فعالیت مکانیکی بافت در گروه آزمایش در حضور توأم عصاره و استیل کولین در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. در حالی که فعالیت مکانیکی بافت در حضور توأم عصاره و آتروپین بین دو گروه کنترل و آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشته است.

نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه گرفت که عصاره آبی- الکلی ریزوم شیرین‌بیان دارای اثر تعدیل‌کنندگی بر حرکات کولون می‌باشد که احتمالاً این اثر به صورت مستقل از سیستم کولینرژیک است.

گل‌واژگان: شیرین‌بیان، فعالیت مکانیکی، کولون، کولینرژیک

www.SID.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر تقاضا و مصرف گیاهان دارویی به طور چشمگیری افزایش داشته است و این گیاهان برای قرن‌ها در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده بوده‌اند [۱]. شیرین‌بیان یکی از گیاهان سنتی دارویی است که بومی مناطق مدیترانه بوده و در ایران بیشتر در شیراز، کرمانشاه و کردستان می‌روید. این گیاه علفی و چندساله از تیره نخودیان (Fabaceae) و با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L. می‌باشد. نام یونانی glycyrrhiza از دو واژه glycys به معنی شیرین و rhiza به معنی ریشه مشتق شده است. ترکیبات مهمی در ریشه و ساقه‌های زیرزمینی این گیاه جهت مصارف دارویی وجود دارد [۲]. ترکیبات اصلی شیرین بیان شامل ساپونین‌ها، فلاونوئیدها - نظیر لیکوریتین و ایزولیکوریتین، ایزوفلاون‌ها، لیکورتی جنین چالکون، گلیسریزین، کومارین‌ها و استیل بنوئیدها می‌باشد [۳]. از جمله ترکیبات شیرین‌بیان لیکورتی جنین می‌باشد که موجب دفع اسپاسم عضلانی می‌شود، همچنین در ریزوم شیرین‌بیان ترکیبی به اسم گلیسریزین وجود دارد که دارای خواص ضد آلرژی می‌باشد [۴]. مهم‌ترین ویژگی ریزوم شیرین‌بیان، اثر آن بر سیستم گوارش بوده است. این گیاه در درمان التهاب معده مفید است [۵]. برخی مطالعات حاکی از تأثیر برخی ترکیبات عصاره شیرین‌بیان بر دستگاه گوارش می‌باشند. از جمله بررسی اثر ایزولیکورتی جنین (Isoliquiritigenine)، از تریکبات فلاونوئیدی شیرین‌بیان، بر ژوژنوم که مشخص شده دارای اثر ضد اسپاسم در ژوژنوم ایزوله خرگوش و ایلئوم خوکچه هندی می‌باشد [۶]. ریشه شیرین‌بیان برای ویژگی تسکین‌دهندگی و خلط‌آوری استفاده می‌شده است [۷]. همچنین، در طب سنتی ریزوم شیرین‌بیان برای درمان گرفتگی عضلات، روماتیسم، آسم، عفونت‌های قفسه سینه، افزایش صفرا، هپاتیت، بیماری‌های پوستی و تنفسی، تب، سرفه، آسم، نقرس، ورم لوزه، نفخ شکم، یرقان، سکسکه، آنمی، زخم گلو و خونریزی، داروی ملین (ضد یبوست)، داروی مدر و جلوگیری‌کننده از آبستنی مورد استفاده بوده است [۹، ۸]. شیرین‌بیان در طب سنتی آسیا و اروپا برای درمان گاستریت، عفونت‌های تنفسی و زخم‌های پپتیک استفاده می‌شده است [۱۰]. در طب سنتی چین نیز در درمان هپاتیت، جلوگیری از رشد تومور و بیماری‌های قلبی کاربرد داشته است [۱۱]. در طب سنتی ایران نیز به عنوان درمان ورم معده و ضدسرفه مورد استفاده بوده است [۱۲]. امروزه عصاره شیرین‌بیان در شربت سرفه استفاده می‌شود [۱۳].

استیل کولین نوروترانسمیتر اصلی در دستگاه گوارش است که از طریق گیرنده‌های موسکارینی موجب انقباض عضله صاف روده می‌شود [۱۵، ۱۴]. پنج نوع گیرنده موسکارینی (M1-M5) در غشاء عضله صاف و نورون‌های کولینرژیک سیستم گوارش مشخص شده است [۱۶]. نیتریک اکساید یک ماده مهم درون‌زاد می‌باشد که با اثرات شل‌کنندگی خود، نقش مهمی در حرکات روده‌ای دارد [۱۷].

از آنجایی که گیاه شیرین‌بیان در طب سنتی استفاده فراوانی داشته و اثرات درمانی وسیعی بر بیماری‌هایی مانند زخم معده، آترواسکلروزیس و بیماری‌های پیچیده نظیر سرطان داشته است [۱۸]، و با توجه به گزارش‌ها و ابهامات موجود در زمینه تأثیر مشتقات شیرین‌بیان بر دستگاه گوارش، در تحقیق حاضر تأثیر عصاره آبی - الکلی ریزوم شیرین‌بیان بر حرکات روده بزرگ و تداخل اثر آن با سیستم‌های کولینرژیک و نیتررژیک مورد بررسی قرار گرفت.

با توجه به استفاده روز افزون از گیاه دارویی شیرین‌بیان در طب سنتی و طب امروزی، بررسی اثرات این گیاه بر فعالیت مکانیکی عضلات صاف قسمت‌های مختلف سیستم گوارش حائز اهمیت می‌باشد. مطالعه حاضر نیز با هدف بررسی اثرات عصاره ریزوم شیرین‌بیان بر فعالیت مکانیکی کولون (روده بزرگ) ایزوله صورت گرفته که در صورت مشخص شدن اثر مثبت ریزوم این گیاه بر فعالیت مکانیکی روده بزرگ، استفاده از آن برای درمان اسهال و اسپاسم روده بزرگ می‌تواند مفید واقع شود، زیرا یکی از اهداف محققین یافتن گیاهان و یا ترکیبات با تأثیر کاهنده بر حرکات روده می‌باشد که افزایش آن از علل بروز اسهال است [۱].

برای مشخص شدن مکانیسم و اثر عصاره این گیاه دارویی، در تحقیق حاضر تأثیر عصاره آبی- الکلی ریزوم شیرین‌بیان بر

Archive of SID
www.SID.ir

حرکات روده بزرگ و تداخل اثر آن با سیستم کولینرژیک مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری

جهت فرایند عصاره گیری، ریزوم شیرین‌بیان از زمین‌های دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز جمع‌آوری و پس از شناسایی علمی توسط متخصص گیاه‌شناسی، تحت نظر متخصص فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی به روش پرکولاتور عصاره‌گیری انجام شد، به این صورت که ریزوم‌های تهیه شده در سایه خشک شد و پس از پودر کردن آن وزن خشک پودر یادداشت شد (۶ کیلوگرم). سپس پودر به دست آمده در دستگاه پرکولاتور قرار داده شد. اتانول ۷۰ درصد (۷۳ میلی‌لیتر اتانول و ۲۷ میلی‌لیتر آب مقطر) به اندازه‌ای (به پودر اضافه شد تا فضای بین پودر شیرین‌بیان را پر کرده و به طور کامل روی سطح پودر را بپوشاند. پس از گذشت نیم ساعت از نفوذ حلال در پودر شیرین‌بیان، اتانول ۷۰ درصد مجددا اضافه شد (مقدار الکل مصرفی در طی فرایند عصاره‌گیری تقریباً ۲ برابر مقدار پودر بود). طی ۲۴ ساعت فشار ناشی از دستگاه پرکولاتور موجب جمع شدن قطرات عصاره هیدروالکلی پودر گیاه شیرین‌بیان در ظرف شد. با استفاده از دستگاه روتاری عصاره تغلیظ‌سازی شد (غلظت اولیه عصاره ۳۷ درصد بود). زمان تغلیظ بسته به نوع گیاه، متفاوت است [۲۰].

حیوانات

تعداد ۱۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزن ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم به طور تصادفی انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در شرایط کنترل شده نور (سیکل ۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی) و دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و دسترسی به آب و غذای کافی نگهداری شده در حالی که ۱۲ ساعت قبل از بیهوش کردن حیوانات غذای آنها قطع می‌شد و فقط به آب دسترسی داشتند. پس از ۱۲ ساعت حیوانات توسط اتر بیهوش و تحت عمل جراحی قرار می‌گرفتند. مسائل اخلاقی در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی نظیر بیهوشی و جراحی، تحت نظر کمیته اخلاق زیستی بخش زیست‌شناسی با کد اخلاق SU۹۰۰۷۸۶ انجام شد.

روش انجام آزمایش

بعد از یک هفته و حصول اطمینان از سلامت حیوان، با اتر بیهوش شده سپس شکم حیوان باز شده و پس از شناسایی کولون، از بخش انتهایی آن (کولون دیستال) برش تهیه شد. برش مورد نظر بدون آنکه آسیبی به اپیتلیوم و عضله آن وارد شود، فراهم شد [۱۶]. بافت به پتری‌دیش حاوی محلول تیرود (۳۷ درجه سانتی‌گراد) منتقل شد و به قطعات ۱ سانتی‌متری تقسیم شد، برای تجویز هر دارو قطعه مجزا به کار می‌رفت. جهت تهیه ۱ لیتر محلول تیرود از مواد: NaCl (۸ گرم)، $CaCl_2$ (۰/۲ گرم)، KCl (۰/۲ گرم)، $MgCl_2$ (۰/۱ گرم)، NaH_2PO_4 (۰/۰۵ گرم)، $NaHCO_3$ (۱ گرم)، گلوکز (۱ گرم) استفاده شد. pH محلول تیرود در تمام طول آزمایش توسط pH متر اندازه‌گیری می‌شد تا در حد خنثی (۷/۴) باشد [۲۱]. بافت کولون موش‌های صحرایی بعد از جداسازی به دو گروه آزمایش و کنترل تقسیم شدند که هر گروه شامل ۱۰ قطعه بافتی بوده است.

- بافت‌های گروه آزمایش به ترتیب عصاره شیرین‌بیان، داروی استیل کولین، داروی آتروپین، تجویز توأم عصاره و استیل کولین، تجویز توأم عصاره و آتروپین دریافت می‌کردند.
- بافت‌های گروه کنترل تجویز توأم حلال عصاره شیرین‌بیان (اتانول ۷۰ درصد) و داروی استیل کولین، همچنین تجویز توأم حلال عصاره و داروی آتروپین را دریافت می‌کردند.

لازم به ذکر است که داروی آتروپین و استیل کولین جهت بررسی تداخل اثر عصاره شیرین‌بیان با سیستم کولینرژیک استفاده شد.

دو قطعه کولون به طور همزمان به دو حمام بافتی حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محلول تیرود منتقل شده و هر قطعه

Archive of SID
www.SID.ir

کولون به صورت طولی توسط دو قلاب در محلول تیرود قرار می‌گرفت، یک قلاب کولون را در حمام بافتی ثابت نگه داشته و قلاب دیگر بافت را به ترانسدیوسر نیرو از نوع ایزوتونیک متصل می‌کرد. تغییرات انقباضی عضله کولون به ترانسدیوسر نیرو منتقل شده و ترانسدیوسر نیز به دستگاه بریج آمپلی‌فایر و سیستم power lab A-to-D متصل بوده و توسط نرم‌افزار chart-5 کالیبره شده و به این ترتیب تغییرات مکانیکی بافت به سیگنال‌های الکتریکی تبدیل شده و توسط مانیتور کامپیوتر قابل مشاهده و ارزیابی بود. در حالی که بافت در محلول تیرود غوطه‌ور بود، توسط دستگاه water circulator و ترموستات مربوطه دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برقرار بود و به طور دائم با ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد دی‌اکسید کربن هوادهی می‌شد، پس از نصب بافت‌ها و بعد از گذشت مدت زمان لازم و به تعادل رسیدن بافت‌ها با محیط در ابتدا تانسیون پایه بافت‌ها تحت کشش یک گرم ثبت شد [۲۲].

آزمایش موازی و همزمان با یکدیگر بر روی ۲ قطعه بافت ایلئوم یک حیوان و با طول مشابه و در دو حمام بافتی صورت می‌گرفت. ابتدا برای حصول اطمینان از سلامت بافت‌ها، استیل کولین با دوز 10^{-5} مولار به هر دو بافت اضافه و فعالیت مکانیکی بافت‌ها ثبت شد و پس از گذشت ۵ دقیقه بافت‌ها شستشو داده شد و بعد از بازگشت بافت‌ها به حالت پایه و ثبت تانسیون پایه به صورت تصادفی به یکی از بافت‌ها عصاره ریزوم شیرین‌بیان با دوز مؤثر ۰/۰۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر [۱۶] و به بافت دیگر حلال هم حجم عصاره (اتانول ۷۰ درصد) اضافه شد و بعد از ۶۰ دقیقه و به تعادل رسیدن بافت با شرایط محیط، به مدت ۳۰ دقیقه فعالیت مکانیکی بافت ثبت شد. بافت دریافت‌کننده عصاره شیرین‌بیان بعنوان گروه آزمایش و بافت دریافت کننده حلال عصاره بعنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. سپس با استفاده از داروهای آگونیست و آنتاگونیست سیستم کولینرژیک و مهارکننده سیستم نیتررژیک چگونگی اثرگذاری عصاره مورد بررسی قرار گرفت.

برای مطالعه سیستم کولینرژیک از استیل کولین به عنوان آگونیست گیرنده‌های موسکارینی استفاده شد. بعد از ثبت تانسیون پایه بافت‌ها به حمام بافتی هر دو گروه کنترل و آزمایش داروی استیل کولین (تهیه شده از شرکت سیگما- آلدریچ آلمان) به عنوان داروی آگونیست این سیستم با دوز 4×10^{-6} مولار اضافه و مدت ۵ دقیقه فعالیت مکانیکی بافت کولون ثبت شد. پس از آن بافت‌ها شستشو داده شده تا حضور استیل کولین از محیط کاملاً حذف شود و سپس به بافت‌ها اجازه داده شد تا به حالت استراحت برگردند و تانسیون پایه ثبت شد. پس از آن به گروه آزمایش عصاره با دوز مؤثر ۰/۰۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (معادل ۴۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد و به گروه کنترل به همین میزان حلال عصاره (الکل ۷۰ درصد) اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه فعالیت مکانیکی قطعات ایلئوم ثبت شد پس از این مدت که اثر شل‌کنندگی عصاره نیز ظاهر شده بود مجدداً به هر دو حمام استیل کولین با همان دوز ذکر شده، اضافه شد تا در این مرحله تأثیر توام استیل کولین و عصاره بر فعالیت مکانیکی بافت مشخص شود. در ادامه‌ی آزمایش جهت بررسی اثر آنتاگونیست سیستم کولینرژیک از داروی آتروپین (تهیه شده از شرکت سیگما- آلدریچ آلمان) استفاده شد که برای این منظور، قطعات جدید کولون به مانند روند مرحله قبل (سیستم کولینرژیک) تهیه شده، بعد از اضافه نمودن عصاره داروی استیل کولین اضافه شده و بعد از مشاهده اثر داروی استیل کولین در گروه کنترل و آزمایش، داروی آتروپین با دوز 10^{-6} مولار به حمام بافتی گروه کنترل (حلال عصاره + استیل کولین) و آزمایش (عصاره + استیل کولین) اضافه شده و فعالیت مکانیکی قطعات کولون ثبت شد. شایان ذکر است که بعد از پدیدار شدن اثر هر دارو در مرحله اول آزمایش یعنی قبل از تجویز

Archive of SID
www.SID.ir

عصاره، چندین بار عمل شستشوی هر دو حمام را با محلول تیرود انجام می‌شد تا اثر داروها کاملاً حذف شود، سپس به بافت اجازه داده شد تا به حالت اولیه برسد و بعد از آن دوز مؤثر عصاره افزوده می‌شد.

در نهایت داده‌های حاصل از این مطالعه توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ تجزیه و تحلیل شدند. داده‌ها به کمک شاخص‌های آماری به صورت فراوانی و انحراف معیار ± میانگین و در قالب نمودار بیان شد. ابتدا به منظور ارزیابی نرمالیتی داده‌ها در گروه‌های مورد مطالعه از آزمون کلموگروف- اسمینرو استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون Independent samples T test استفاده شد. همچنین سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

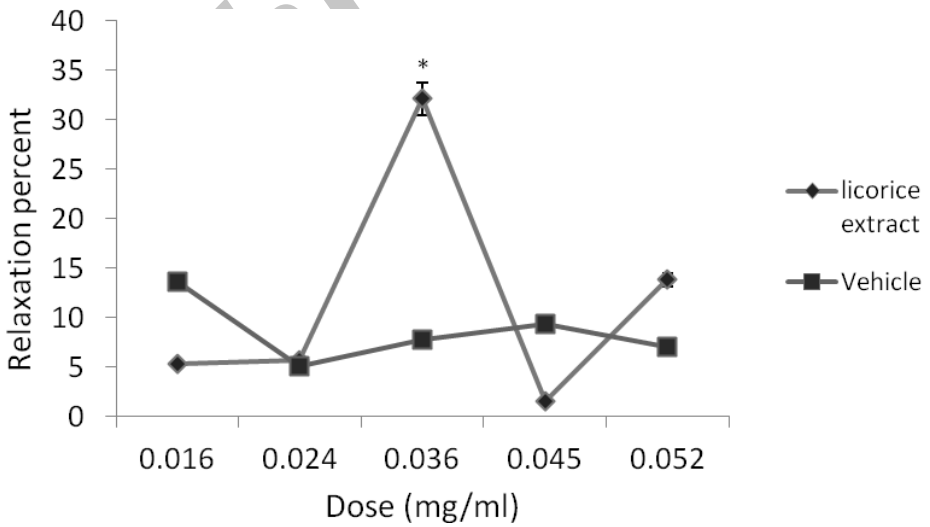
نتایج

همانطور که در شکل شماره ۱ مشاهده می‌شود، تأثیر دوزهای مختلف عصاره آبی- الکلی ریزوم شیرین‌بیان بر بافت کولون ایزوله نشان داده شده که مشخص می‌شود عصاره شیرین‌بیان در دوز ۰/۰۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (معادل ۴۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر) دارای بیشترین درصد شل شدگی بافت ($P< ۰/۰۵$) در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل بوده است.

با توجه به شکل شماره ۲ تغییرات تانسیون پایه بافت کولون ایزوله در دو گروه آزمایش و کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت.

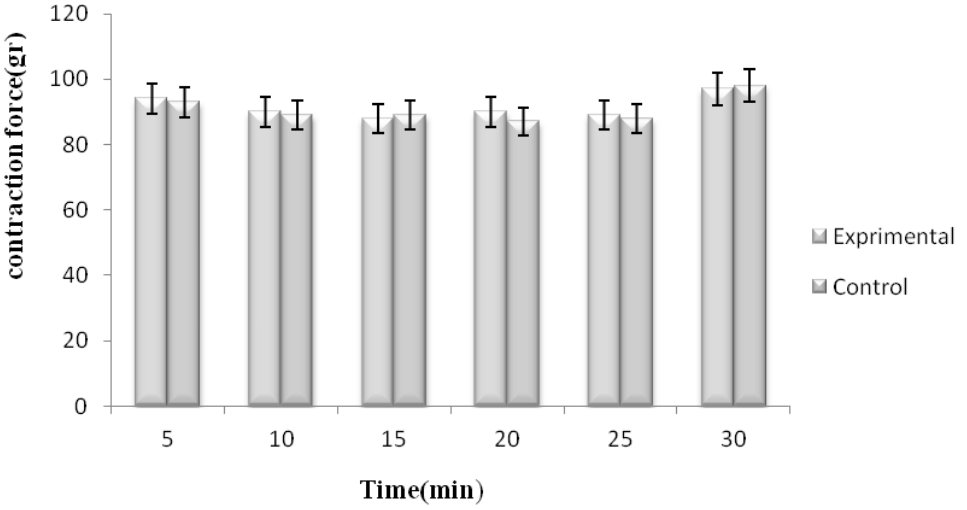
همانطور که در شکل شماره ۳ مشاهده می‌شود، فعالیت انقباضی کولون در پاسخ به تجویز استیل کولین به ترتیب در دو گروه آزمایش و کنترل بدون حضور عصاره و حلال عصاره تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد و فعالیت مکانیکی کولون در پاسخ به تجویز عصاره شیرین‌بیان در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل در نمودار شماره ۳ بیانگر کاهش معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) فعالیت مکانیکی بافت طی دقایق ۱۵ تا ۳۰ می‌باشد. با تجویز استیل کولین پس از مشاهده اثر شل کنندگی عصاره، در دقایق ۱ و ۵ تفاوت معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) در فعالیت انقباضی بافت در حضور عصاره نسبت به حلال در دو گروه آزمایش و کنترل مشاهده شد.

نتایج حاصل از شکل شماره ۴ نشان می‌دهد که فعالیت مکانیکی بافت در پاسخ به تجویز توام آتروپین و عصاره ریزوم شیرین‌بیان در دو گروه کنترل و آزمایش تغییرات معنی‌داری نداشته است.

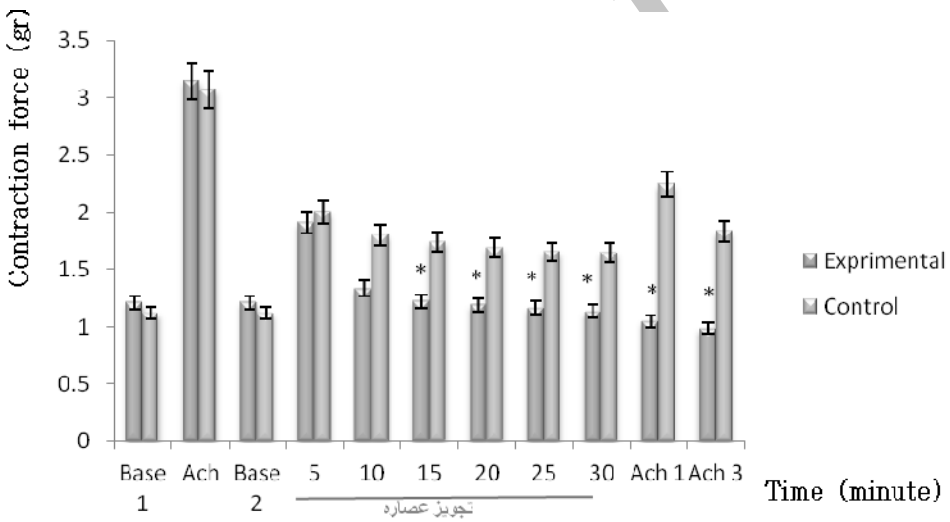


شکل شماره ۱- مقایسه درصد شل شدگی کولون ایزوله در حضور دوزهای مختلف عصاره شیرین‌بیان (گروه آزمایش) و حلال هم حجم آن (گروه کنترل) در موش‌های صحرایی نر، $^{*}P< ۰/۰۵$ دارای تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (اتانول ۷۰ درصد)

www.SID.ir



شکل شماره ۲– فعالیت مکانیکی بافت کولون ایزوله در شرایط پایه در دو گروه آزمایش (عصاره شیرین‌بیان) و کنترل (حلال عصاره)، **exp:** گروه آزمایش، **con**: گروه کنترل

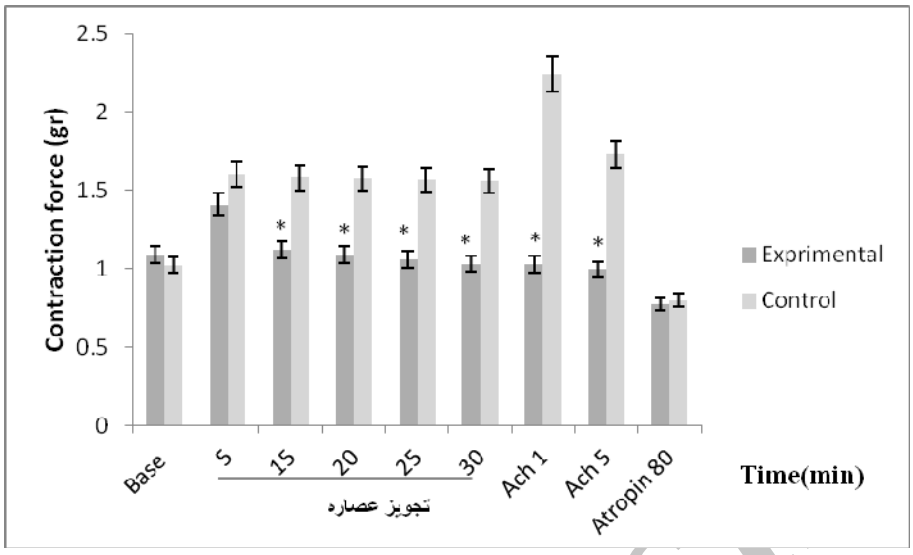


شکل شماره ۳– مقایسه میزان فعالیت انقباضی کولون ایزوله در پاسخ به دوز مؤثر عصاره ریزوم شیرین‌بیان در حضور استیل کولین **(ach)** ۴×۱۰^{-۶} مولار در بین دو گروه آزمایش و کنترل

base 1: تانسیون پایه در شروع آزمایش، **base 2**: تانسون پایه قبل از افزودن عصاره،

ach: پاسخ بافت شل شده به استیل کولین به ترتیب در دقایق مختلف، *: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (**P<0.05**)

www.SID.ir



شکل شماره ۴- مقایسه میزان فعالیت انقباضی **کولون ایزوله** در پاسخ به دوز مؤثر عصاره ریزوم شیرین‌بیان در حضور آتروپین (Atropin) 10^{-6} مولار در بین دو گروه آزمایش و کنترل

base: تانسیون پایه در شروع آزمایش، lic (در دقایق مختلف): وضعیت فعالیت مکانیکی بافت با افزودن عصاره ریزوم ذکر شده در دقایق مختلف، Ach: افزودن داروی استیل کولین به بافت و وضعیت فعالیت مکانیکی در حضور عصاره و دارو در دقایق مختلف، Atropin: افزودن داروی آتروپین به بافت

*: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل ($P<0.05$)

بحث

از آنجایی که گیاه شیرین‌بیان در طب سنتی استفاده فراوانی داشته و گزارش‌هایی مبنی بر اثرات ضد اسپاسمی عصاره ریزوم شیرین‌بیان بر عضلات صاف از جمله روده باریک وجود دارد [۲۴، ۲۳]، لذا در تحقیق حاضر تأثیر عصاره آبی- الکلی ریزوم شیرین‌بیان بر حرکات روده بزرگ و تداخل اثر آن با سیستم کولینرژیک مورد بررسی قرار گرفته است.

در مطالعه حاضر مشاهده شد که در حضور عصاره ریزوم شیرین‌بیان فعالیت مکانیکی کولون ایزوله در موش‌های صحرایی نر کاهش معنی‌داری داشت، این کاهش فعالیت مکانیکی بیان‌کننده حضور ترکیباتی در عصاره شیرین‌بیان است که اثرات شل‌کنندگی بر عضله صاف کولون دارند. نتایج سایر محققین با تحقیق حاضر همخوانی دارد، از جمله ساتو (Sato) و همکاران نشان دادند که ایزولیکورتی جنین، فلاونوئید موجود در ریزوم شیرین‌بیان، اثرات ضد اسپاسمی در رکتوم دارد [۲۵]. همچنین تحقیقات چِن (Chen) و همکاران در خرگوش و خوکچه بیانگر اثر ضد اسپاسمی ایزولیکورتی جنین در ژوژنوم ایزوله خرگوش و ایلئوم خوکچه می‌باشد [۶]. تحقیقات فرخی‌پور و همکاران نشان‌دهنده اثرات شل‌کنندگی عصاره ریزوم شیرین‌بیان بر ایلئوم ایزوله بوده است [۲۶]. برخی مطالعات نیز بیانگر اثرات شل‌کنندگی عصاره بر عضله صاف عروق و نای ایزوله می‌باشند [۲۸، ۲۷]. بر اساس نتایج تحقیق حاضر و سایر تحقیقات انجام شده، می‌توان گفت عصاره ریزوم شیرین‌بیان دارای ترکیبات مهمی از جمله فلاونوئیدها می‌باشد که احتمالاً اثرات شل‌کنندگی عصاره ناشی از این ترکیبات بوده است [۳۰، ۲۹].

جهت بررسی تداخل اثر عصاره با سیستم کولینرژیک از داروهای آگونیست و آنتاگونیست سیستم کولینرژیک استفاده شد، همانطور که در بخش نتایج مشاهده شد میزان فعالیت مکانیکی کولون ایزوله موش صحرایی نر در حضور عصاره شیرین‌بیان در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان داد که این اثرات در حضور استیل کولین

Archive of SID
www.SID.ir

به عنوان آگونیست سیستم کولینرژیک تغییر نکرده است. از آنجایی که اضافه نمودن استیل کولین در شرایط عادی بافت موجب افزایش انقباضات و فعالیت مکانیکی کولون ایزوله شده ولی در حضور عصاره چنین تغییراتی را در پی نداشته است، ممکن است که بین اثر عصاره آبی- الکلی ریزوم شیرین‌بیان و سیستم کولینرژیک ارتباطی وجود داشته باشد. با توجه به قسمت نتایج بعد از اینکه اثرات شل‌کنندگی عصاره شیرین‌بیان در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل مشاهده شد، با اعمال آتروپین به عنوان آنتاگونیست سیستم کولینرژیک تغییری در اثرات عصاره بر بافت کولون مشاهده نشد. از آنجایی که اضافه نمودن آتروپین در شرایط عادی بافت با مهار سیستم کولینرژیک موجب کاهش انقباضات و فعالیت مکانیکی کولون ایزوله می‌شود بنابراین در صورتی که اثرات شل‌کنندگی عصاره ناشی از مهار سیستم کولینرژیک باشد، می‌بایست در حضور توام عصاره و آتروپین اثرات شل‌کنندگی عصاره مشاهده نمی‌شد ولی با اعمال آتروپین تغییری در اثرات عصاره مشاهده نشد بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ممکن است عصاره شیرین‌بیان به صورت مستقل از سیستم کولینرژیک موجب بروز اثرات شل‌کنندگی بر کولون ایزوله شده است. این یافته‌ها با نتایج خوشنظر و همکاران مطابقت دارد که نشان دادند عصاره شیرین‌بیان به صورت مستقل از سیستم کولینرژیک موجب کاهش تانسیون پایه در دئودنوم موش صحرایی می‌شود [۱۶]. همچنین نتایج هوانگ (Huang) و همکاران نشان داده که کوئرستین، از ترکیبات شیرین‌بیان، موجب رفع اسپاسم ناشی از اثر استیل کولین بر کولون ایزوله در خوک هندی می‌شود که با تحقیق حاضر مطابقت دارد [۳۱].

پیلیجا (Pilija) و همکاران با تحقیق خود اعلام کردند عصاره گیاه *Ginkgo biloba* به دلیل حضور فلاونوئیدها به صورت وابسته به دوز سبب کاهش انقباضات خود بخودی ایلئوم و کولون خرگوش می‌شود. همچنین عصاره در ایلئوم، غالباً از طریق مسیر کولینرژیکی توسط آنتاگونیزه کردن گیرنده‌های موسکارینی موجب کاهش انقباضات ناشی از استیل کولین شده است [۳۲]. از آنجایی که ریزوم شیرین‌بیان حاوی ترکیبات فلاونوئیدی زیادی می‌باشد و با توجه به تحقیق ذکر شده، می‌توان اثرات عصاره بر سیستم کولینرژیک را به این ترکیبات فلاونوئیدی نسبت داد [۳۵ - ۳۳].

برای بررسی مکانیسم‌های فرضی اثر شل‌کنندگی عصاره ریزوم شیرین‌بیان بر کولون ایزوله باید به نقش کانال‌های کلسیمی و پتاسیمی توجه داشت زیرا این کانال‌ها در انقباض عضله صاف نقش مهمی دارند. در مطالعه‌ای که توسط Chen و همکاران انجام شد، نشان دادند که اثر ضد اسپاسمی ایزولیکورتی جنین، از فلاونوئیدهای ریزوم شیرین‌بیان، در ژوژنوم خرگوش و ایلئوم خوکچه ناشی از مهار کانال‌های پتاسیمی بوده است [۶]. همچنین ناگای (Nagai) و همکاران اثرات ضد اسپاسمی ایزولیکورتی‌جنین در ایلئوم خوک و ژوژنوم خرگوش را ناشی از مهار کانال‌های کلسیمی دانسته‌اند [۳۶]. قریب ناصری و همکاران اثرات ضد اسپاسمی عصاره برگ شیرین‌بیان در ایلئوم را ناشی از کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP و تداخل با کانال‌های کلسیمی دانسته‌اند [۱۹]. بنابراین ممکن است اثرات ضد اسپاسمی شیرین‌بیان در کولون ناشی از فعال شدن کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP و مهار کانال‌های کلسیمی بوده است. برای پاسخ به این سؤال که عصاره آبی- الکلی ریزوم شیرین‌بیان از طریق کدام گیرنده‌ها موجب بروز اثرات شل‌کنندگی بر ایلئوم ایزوله شده است و این اثرات توسط کدام ترکیب یا فلاونوئید موجود در گیاه شیرین‌بیان به وجود آمده‌اند، نیاز به تحقیقات بیشتر در آینده دارد. همچنین پیشنهاد می‌شود، مواد مؤثره ریزوم شیرین‌بیان جهت تعیین مکانیسم‌های دقیق سلولی اثر عصاره بر ایلئوم، جداسازی شده و تداخل اثر عصاره با سایر سیستم‌های دخیل در کنترل عضلات صاف مورد بررسی دقیق قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که عصاره آبی- الکلی ریزوم شیرین‌بیان اثر مهاری بر فعالیت مکانیکی بافت کولون ایزوله داشته که این اثر به صورت مستقل از سیستم کولینرژیک بوده است. بنابراین توصیه به مصرف ریزوم شیرین‌بیان جهت درمان اسهال نیازمند

Archive of SID
www.SID.ir

انجام تحقیقات وسیع‌تر می‌باشد از طرف دیگر وجود خاصیت ضد انقباضی ریزوم شیرین‌بیان این نکته را روشن می‌سازد که سایر خواص فارماکولوژیک ریزوم شیرین‌بیان ارزش مطالعه دقیق را داشته باشد.

تشکر و قدردانی

از بخش زیست‌شناسی دانشگاه شیراز که با حمایت‌های مالی خود ما را در انجام این تحقیق (در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد) یاری نمودند و از کمیته اخلاق زیستی بخش زیست‌شناسی که این تحقیق تحت نظر و با رعایت اصول اخلاقی آنها انجام شد، قدردانی می‌شود.

منابع

1. Kartal M. Intellectual property protection in the natural product drug discovery, traditional herbal medicine and herbal medicinal products. *Phytotherapy Res.* 2007; 21 (2): 113 - 9.

2. Asl MN and Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. *Phytotherapy Res.* 2008; 22 (6): 709 - 24.

3. Saxena S. *Glycyrrhiza glabra*: medicine over the millennium. *Nat. Prod. Rad.* 2005; 4 (5): 358 - 67.

4. Khayyal MT, El-Ghazaly MA, Kenawy SA, Seif-El-Nasr M, Mahran LG, Kafafi Y and et al. Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination. *Arzneimittel-forschung* 2000; 51 (7): 545 - 53.

5. Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S and Nomura T. Anti-Helicobacter pylori flavonoids from licorice extract. *Life Sciences* 2002; 71 (12): 1449 - 63.

6. Chen G, Zhu L, Liu Y, Zhou Q, Chen H and Yang J. Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, plays a dual role in regulating gastrointestinal motility in vitro and in vivo. *Phytotherapy Res.* 2009; 23 (4): 498 - 506.

7. Vispute S and Khopade A. *Glycyrrhiza glabra* Linn.--" klitaka": A review. *Biog Ind. Med.* 2011; 32 (2): 83 - 91.

8. Spinks E and Fenwick G. The determination of glycyrrhizin in selected UK liquorice products. *Food Additives & Contaminants* 1990; 7 (6): 769 - 78.

9. Ibsen K. Liquorice consumption and its influence on blood pressure in Danish school-children. *Danish Medical Bulletin* 1981; 28 (3): 124 - 6.

10. Lehtihet M and Nygren A. Licorice--an old drug and currently a candy with metabolic effects. *Läkartidningen* 2000; 97 (36): 3892.

11. Arase Y, Ikeda K, Murashima N, Chayama K, Tsubota A, Koida I and et al. The long term efficacy of glycyrrhizin in chronic hepatitis C patients. *Cancer* 1997; 79 (8): 1494 - 500.

12. Khanahmadi MM, Naghdi Badi H, Akhondzadeh S, Khalighi – Sigaroodi F, Mehrafarin A, Shahriari S and et al. A Review on Medicinal Plant of *Glycyrrhiza glabra* L. *Journal of Medicinal Plants* 2013; 2 (46): 1 - 12.

13. Krausse R, Bielenberg J, Blaschek W and Ullmann U. In vitro anti-Helicobacter pylori activity of Extractum liquiritiae, glycyrrhizin and its metabolites. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2004; 54 (1): 243 - 6.

14. Matsui M, Motomura D, Fujikawa T, Jiang J, Takahashi S-i, Manabe T and et al. Mice lacking M2 and M3 muscarinic acetylcholine receptors are devoid of cholinergic smooth muscle contractions but still viable. *The Journal of Neuroscience* 2002; 22 (24): 10627 - 32.

Archive of SID
www.SID.ir

15. Iino S and Nojyo Y. Muscarinic M 2 acetylcholine receptor distribution in the guinea-pig gastrointestinal tract. *Neuroscience* 2006; 138 (2): 549 -59.

16. Khoshnazar SM and Bahaoddini HN. Effect of Alcoholic Extract of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) Rhizome on Isolated Duodenum Motility in Male Rats and its Interference with Cholinergic, Nitrergic, and Adrenergic Systems. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.* 2013; 2 (12): 173 - 7.

17. Yamaguchi T, Kamada K, Dayton C, Gaskin FS, Yusof M, Yoshikawa T and et al. Role of eNOS-derived NO in the postischemic anti-inflammatory effects of antecedent ethanol ingestion in murine small intestine. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2007; 292 (3): 1435 - 42.

18. Sigurjonsdottir H, Franzson L, Manhem K, Ragnarsson J, Sigurdsson G and Wallerstedt S. Liquorice-induced rise in blood pressure: a linear dose-response relationship. *Journal of Human Hypertension* 2001; 15 (8): 549 - 52.

19. Gharib Naseri MK, Arabian M and Gharib Naseri Z. Antispasmodic Effect of hydroalcoholic leaf extract of licorice ileum contraction in rat. *Shahrekord Journal of Medical Sciences* 2008; 9 (3): 1 - 9.

20. Khoshnam SE and Bahaoddini AA. The effect of hydro-alcoholic extract of *Glycyrrhiza glabra* on the cardiovascular system of male rats with normal blood pressure and its interaction with cholinergic and adrenergic systems. *Physiology and Pharmacol*. 2013; 17 (3): 349 - 58.

21. Gharib S, Bahaoddini A, Vatanparast J and Moein M. Effect of alcoholic extract of ginger (*Zingiber Officinale* Roscoe) on mechanical activity of isolated jejunum of male rat. *Physiology and Pharmacol*. 2014; 18 (4): 406 - 15.

22. Bahaoddini A, Ketabi MA, Gholampour F and Mirkhanni H. Effect of prolonged exposure to low-frequency electromagnetic fields on the interaction of nitrergic and cholinergic systems in the isolated rat trachea. *Physiology and Pharmacol* 2011; 15: 385 - 94.

23. Khayyal MT, El-Ghazaly MA, Kenawy SA, Seif-El-Nasr M, Mahran LG, Kafafi Y and et al. Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination. *Arzneimittel-forschung* 2000; 51 (7): 545 - 53.

24. Chen G, Zhu L, Liu Y, Zhou Q, Chen H and Yang J. Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, plays a dual role in regulating gastrointestinal motility in vitro and in vivo. *Phytotherapy Res.* 2009; 23 (4): 498 - 506.

25. Sato Y, He J-X, Nagai H, Tani T and Akao T. Isoliquiritigenin, one of the antispasmodic principles of Glycyrrhiza ularensis roots, acts in the lower part of intestine. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 2007; 30 (1): 145 - 9.

26. Farokhipour M, Bahaoddini AA, Khoshnam SE. The Effect of Hydro-alcoholic Extract of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) Rhizome on the Isolated Ileum of Male Rats and its Interaction with Nitrergic System. *Journal of Medical Plants* 2016; 4 (60): 39 - 46.

27. Kao C-H, Chu Y-H and Wang H-W. Effects of lidocaine on rat's isolated tracheal smooth muscle. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2010; 267 (5): 817 - 20.

28. Sarkaki A FH, Mansouri SMT and et al. Gallic acid improve cognitive hipocampal long term potentiation deficits and brain damage induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats. *Parkin J. Bio. Scie.* 2014; 17 (8): 978 - 990.

29. Ghayedi N, Khoshnam SE and Bahaoddini AA. The effect of Hydro-alcoholic Extract of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) Rhizome on the Mechanical Activity of the Colon of Male Rats and its Interaction with Adrenergic System. *Armaghane Danesh* 2016; 21 (3): 225 - 37.

30. Ghayedi N, Bahaoddini AA, Khoshnam SE, Gholampour F, Khosravi AR and Moein MR. Evaluation the effect of hydro-alcoholic extract of *Glycyrrhiza glabra* rhizome on the isolated colon

Archive of SID
www.SID.ir

contractions of male rats. *J. Shahid Sadoughi Univ. Med. Sci.* 2016; 24 (7): 576 - 86.

31. Huang W-F, Ouyang S, Li S-Y, Lin Y-F, Ouyang H, Zhang H and et al. Effect of quercetin on colon contractility and L-type Ca (2+) channels in colon smooth muscle of guinea-pig. *Sheng Li Xue Bao* 2009; 61 (6): 567 - 76.

32. Pilija V, Mirjana R, Brenesel MD, Popovic M, Ivetic V and Trivic S. Inhibitory effect of *Ginkgo biloba* extract on the tonus of the small intestine and the colon of rabbits. *Molecules* 2010; 15 (4): 2079 - 86.

33. Duarte J, Vizcaíno FP, Utrilla P, Jiménez J, Tamargo J and Zarzuelo A. Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure-activity relationships. *General Pharmacology: The Vascular System* 1993; 24 (4): 857 - 62.

34. Kim YH, Shin EK, Kim DH, Lee HH, Park JHY and Kim J-K. Antiangiogenic effect of licochalcone A. *Biochemical Pharmacology* 2010; 80 (8): 1152 - 9.

35. Morello S, Vellecco V, Alfieri A, Mascolo N and Cicala C. Vasorelaxant effect of the flavonoid galangin on isolated rat thoracic aorta. *Life Sciences* 2006; 78 (8): 825 - 30.

36. Nagai H, Yamamoto Y, Sato Y, Akao T and Tani T. Pharmaceutical evaluation of cultivated Glycyrrhiza uralensis roots in comparison of their antispasmodic activity and glycycoumarin contents with those of licorice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 2006; 29 (12): 2442 - 5.

Archive of SID

www.SID.ir