

بررسی اثر عصاره آبی-الکلی ریزوم گیاه شیرین بیان (Glycyrrhiza Glabra) بر انقباضات کولون ایزوله موش صحرائی نر

ناهید قائدی^۱، امین الله بهاءالدینی^۲، سید اسماعیل خوشنام^{۳*}، فیروزه غلامپور^۴، احمدرضا خسروی^۵، محمودرضا معین^۶

چکیده

مقدمه: ریزوم گیاه شیرین بیان (Licorice) در طب سنتی برای درمان اختلالات گوارشی نظیر زخم معده و رفع گرفتگی روده مورد استفاده فراوانی قرار گرفته است. در تحقیق حاضر تأثیر عصاره آبی و الکلی ریزوم شیرین بیان بر حرکات کولون ایزوله موش صحرائی نر مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش بررسی: موش‌های صحرائی نر بالغ ابتدا توسط اتیل اتر بی‌هوش شدند، بافت کولون آن‌ها جدا و به قطعات ۱ سانتی‌متری تقسیم شدند. قطعات به ترانس‌دیوسر نیرو به صورت طولی آویزان و به درون حمام‌های بافتی محتوی محلول تیروید اکسیژنه ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH=۷/۴ فرو برده شد. فعالیت مکانیکی قطعات توسط دستگاه پاورلب در حالت پایه، در پاسخ به داروی L-NAME (۱۰^{-۴} مولار)، استیل کولین (۴×۱۰^{-۵} مولار) و آتروپین (۱۰^{-۵} مولار) در حضور و عدم حضور عصاره ریزوم شیرین بیان (۰/۰۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ثبت گردید. همچنین فعالیت مکانیکی قطعات گروه کنترل در شرایط مشابه با حلال عصاره (اتانول ۷۰ درصد) ثبت شد.

نتایج: در حضور عصاره آبی الکلی ریزوم شیرین بیان، فعالیت مکانیکی بافت در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت (P≤ ۰/۰۵). 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 و همچنین عصاره و L-NAME بین دو گروه کنترل و آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که عصاره آبی-الکلی ریزوم شیرین بیان دارای اثر تعدیل‌کنندگی بر حرکات کولون است که احتمالاً این اثر مستقل از سیستم‌های نیتزرژیک و کولینرژیک است.

واژه‌های کلیدی: شیرین بیان، کولون، نیتریک اکساید، کولینرژیک

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شیراز

۲- دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شیراز

۳- دانشجوی دکتری فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز

۴- استادیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شیراز

۵- استاد بیوسیستماتیک گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شیراز

۶- دانشیار فارماکونوزی، گروه فارماکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۷۱۴۹۱۷۲۹، پست الکترونیکی: esmaeil.khosnam1392@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۲۱

مقدمه

گياهان دارويى حاوى تركيبات طبيعى با خواص دارويى بوده كه اسانس و عصاره اين گياهان از زمان‌هاى قديم براى درمان بيمارى‌هاى مختلف مورد استفاده قرار مى‌گرفتند. به طوري كه اين تركيبات سيستم پزشكى جوامع را متحول نمودند (۱). در ايران گياهان دارويى عمدتاً براى درمان بيمارى‌هاى عمومي مثل سرماخوردگى، سرفه، سردرد، درد عضلانى و برخى مشكلات گوارشى استفاده مى‌شود. گياه شيرين بيان با نام علمى *Glycyrrhiza glabra L.* گياهى علفى چند ساله از خانواده بقولات (Fabaceae) است. *glycyrrhiza* يك نام يونانى بوده و از دو واژه *glycys* به معنى شيرين و *rhiza* به معنى ريشه مشتق شده است (۲،۳). ريشه شيرين بيان داراى تركيبات متفاوتى نظير فلاونويدها، استرولها، اسيدهاى آمينه، نشاسته، اسانس‌هاى روغنى و ساپونين‌ها است. عمده‌ترين ساپونين آن اسيد گليسريزيك يا گليسريزين است (۴،۵). علاوه بر تركيبات فوق‌الذكر ريشه شيرين بيان حاوى ساير تركيبات نظير اسيد-۲-بتا-گلوکورونوزيل-گلوکورونيك، اسيد گليسيريستيك، آسپاراژين، گلوکز، ساكارز، رزين‌ها، روغن‌هاى فرار، تركيبات فلاونويدى مانند گليسريزين، گليسيريستيك اسيد، گلابريدن، ايزوليکورتى‌جينين، ليکورتى‌جينين، ليکوپالكون و همچنين تركيبات کوماريني است (۶،۷).

از شناخته‌ترين خواص درمانى ريزوم شيرين بيان استفاده از آن در درمان زخم معده بوده (۸) و فلاونويدهاى آن ضد هليكوباکتر پيلورى هستند (۹). مشتقات شيرين بيان موجب افزايش غلظت پروستاگلاندين‌ها، مهار ترشح گاسترين و افزايش طول عمر سلول‌هاى اپيتليوم معده شده و به اين ترتيب موجب التيام زخم معده مى‌شود (۱۰). از جمله تركيبات شيرين بيان ليکورتى‌جينين مى‌باشد كه موجب دفع اسپاسم عضلانى مى‌شود، همچنين در ريزوم شيرين بيان تركيبى به اسم گليسريزين وجود دارد كه داراى خواص ضد آلرژى است (۸). برخى مطالعات حاكى از تأثير برخى تركيبات عصاره شيرين بيان بر دستگاه گوارش مى‌باشند. از جمله بررسى اثر ايزوليکورتى جينين (*Isoliquiritigenine*)، از تركيبات

فلاونويدى شيرين بيان، بر ژوژنوم كه مشخص شده داراى اثر ضد اسپاسم در ژوژنوم ايزوله خرگوش و ايلئوم خوكچه هندى است (۱۱). همچنين كوئرتستين، از تركيبات شيرين بيان، موجب رفع اسپاسم ناشى از اثر استيل كولين بر كولون ايزوله در خوك هندى مى‌شود (۱۲).

نيتريك اكسايد يك ماده مهم درون‌زاد است كه با اثرات شل‌كنندگى خود، نقش مهمى در حرركات روده‌اى دارد (۱۳). لذا جهت مشخص شدن مكانيسم دقيق اثرات عصاره شيرين بيان بر كولون ايزوله، بررسى تداخل اثر عصاره ريزوم شيرين بيان با سيستم نيتريژيك ضرورى است. در برخى تحقيقات تداخل اثر عصاره گياهان دارويى نظير عصاره الكلى ريزوم زنجبيل با سيستم نيتريژيك بيان‌كننده بى‌اثر بودن سيستم نيتريژيك در اثرات تعديل‌كنندگى عصاره ريزوم زنجبيل بر حرركات ژوژنوم موش صحرايى بوده است (۱۴).

استيل كولين نوروترانسميتر اصلى در دستگاه گوارش است كه از طريق گيرنده‌هاى موسكاريني موجب انقباض عضله صاف روده مى‌شود (۱۵،۱۶). ايزوليکورتى‌جينين در تنظيم حرركات دستگاه گوارش با هر دو فعاليت اسپاسموژنيك و اسپاسموليتيك مؤثر بوده كه اثر اسپاسموژنيك بر اثر فعاليت رسپتورهاى موسكاريني بوده در حالى كه اثر اسپاسموليتيك به‌طور غالب بر اثر مهار شدن كانال‌هاى كلسمي بوده است (۱۷).

با توجه به ارزش روز افزون و جايگاه ويژه گياهان دارويى مانند شيرين بيان در صنايع دارويى جديد و با در نظر گرفتن رويکرد جوامع به سمت استفاده از گياهان دارويى و مشتقات آن‌ها كه اثرات جانبى كمتر داشته و طيف درمانى گسترده‌اى دارند (۱۸). لذا در مطالعه حاضر به بررسى اثر عصاره آبى-الكلى ريزوم شيرين بيان بر انقباضات كولون موش صحرايى نر و تداخل اثر آن با سيستم‌هاى نيتريژيك و كولينريژيك مى‌پردازيم.

روش بررسى

جهت فرايند عصاره‌گيرى، ريزوم شيرين بيان از زمين‌هاى دانشكده كشاورزى دانشگاه شيراز جمع‌آورى و پس از شناسايى

تیروید (۳۷ درجه سانتی‌گراد) منتقل گردید و به قطعات ۱ سانتی‌متری تقسیم گردید، برای تجویز هر دارو قطعه مجزا بکار می‌رفت. جهت تهیه ۱ لیتر محلول تیروید از مواد: NaCl (۸ گرم)، CaCl₂ (۰/۲ گرم)، KCl (۰/۲ گرم)، MgCl₂ (۰/۱ گرم)، NaH₂PO₄ (۰/۰۵ گرم)، NaHCO₃ (۱ گرم)، گلوکز (۱ گرم) استفاده شد. pH محلول تیروید در تمام طول آزمایش توسط pH متر اندازه‌گیری می‌شد تا در حد خنثی (۷/۴) باشد (۲۱). بافت ایلئوم موش‌های صحرایی بعد از جداسازی به دو گروه آزمایش و کنترل تقسیم شدند که هر گروه شامل ۷ قطعه بافتی بوده است.

دو قطعه کولون به طور هم‌زمان به دو حمام بافتی حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محلول تیروید منتقل شده و هر قطعه کولون به‌صورت طولی توسط دو قلاب در محلول تیروید 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 نرم افزار chart-5 کالیبره شده و به این ترتیب تغییرات مکانیکی انقباض بافت به سیگنال‌های الکتریکی تبدیل شده و توسط مانیتور کامپیوتر قابل مشاهده و ارزیابی بود. در حالی که بافت در محلول تیروید 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 تانسین پایه بافت‌ها تحت کشش یک گرم ثبت گردید (۲۲). این آزمایش موازی و هم‌زمان با یکدیگر بر روی ۲ قطعه بافت ایلئوم یک حیوان و با طول مشابه و در دو حمام بافتی صورت گرفت. ابتدا برای حصول اطمینان از سلامت بافت‌ها، استیل کولین با دوز ۱۰^{-۵} مولار به هر دو بافت اضافه

علمی توسط متخصص گیاه شناسی، تحت نظر متخصص فارماکولوژی دانشکده داروسازی به روش پرکولاتور عصاره گیری انجام شد، به این صورت که ریزوم‌های تهیه شده در سایه خشک گردید 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 اندازه‌ایبه پودر اضافه شد تا فضای بین پودر شیرین بیان را پر کرده و به‌طور کامل روی سطح پودر را بپوشاند. پس از گذشت نیم ساعت از نفوذ حلال در پودر شیرین بیان، اتانول ۷۰ درصد مجدداً 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 شیرین بیان در ظرف گردید. با استفاده از دستگاه روتاری عصاره تغلیظ سازی شد (غلظت اولیه عصاره ۳۷ درصد بود). زمان تغلیظ بسته به نوع گیاه، متفاوت است (۱۹).

حیوانات:

تعداد ۷ 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 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 (۲۰). بافت به پتری‌دیش حاوی محلول

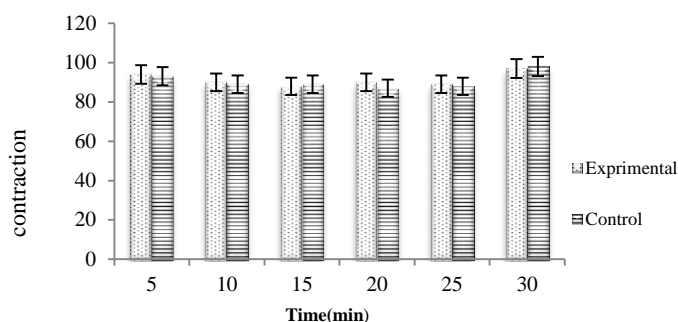
گردید و فعالیت مکانیکی بافت‌ها ثبت شد و پس از گذشت ۵ دقیقه بافت‌ها شستشو داده شد و بعد از بازگشت بافت‌ها به حالت پایه و ثبت تانسین پایه به صورت تصادفی به یکی از بافت‌ها عصاره ریزوم شیرین بیان با دوز مؤثر ۰/۰۳۶ میلی گرم بر میلی لیتر (معادل ۴۳ میکروگرم بر میلی لیتر) و به بافت دیگر حلال هم حجم عصاره (اتانول 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 گردید. بافت دریافت کننده عصاره شیرین بیان به عنوان گروه آزمایش و بافت دریافت کننده حلال عصاره به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. سپس با استفاده از داروی آگونیست سیستم کولینرژیک و مهارکننده سیستم نیتزرژیک چگونگی اثرگذاری عصاره مورد بررسی قرار گرفت.

برای مطالعه سیستم کولینرژیک از استیل کولین به عنوان آگونیست گیرنده‌های موسکارینی استفاده شد. بعد از ثبت تانسین پایه بافت‌ها در هر دو گروه، به دو حمام بافتی استیل کولین (تهیه شده از شرکت سیگما-آلدریج آلمان) به عنوان داروی آگونیست این سیستم با دوز 4×10^{-5} مولار اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه فعالیت مکانیکی دو قطعه کولون ایزوله در هر دو حمام بافتی ثبت گردید پس از آن بافت‌ها شستشو داده شده تا حضور استیل کولین از محیط کاملاً حذف گردد و سپس به بافت‌ها اجازه داده شد تا به حالت استراحت برگردند و تانسین پایه ثبت گردید. پس از آن به گروه آزمایش عصاره با دوز مؤثر ۰/۰۳۶ میلی گرم بر میلی لیتر (معادل ۴۳ میکروگرم بر میلی لیتر) اضافه گردید و به گروه کنترل به همین میزان حلال عصاره (الکل ۷۰٪) اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه فعالیت مکانیکی قطعات ایلئوم ثبت گردید پس از این مدت که اثر شل کنندگی عصاره نیز ظاهر شده بود مجدداً به هر دو حمام استیل کولین با همان دوز ذکر شده اضافه شد تا در این مرحله

تأثیر توأم استیل کولین و عصاره بر فعالیت مکانیکی بافت مشخص شود. در ادامه آزمایش جهت بررسی اثر آنتاگونیست سیستم کولینرژیک از داروی آتروپین (تهیه شده از شرکت سیگما-آلدریج 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^{-5} مولار به حمام بافتی گروه کنترل (حلال عصاره+استیل کولین) و آزمایش (عصاره+استیل کولین) اضافه شده و فعالیت مکانیکی قطعات کولون ثبت گردید. در ادامه آزمایش برای مطالعه تداخل اثر عصاره با سیستم نیتزرژیک، به هردو بافت داروی L-NAME (تهیه شده از شرکت سیگما-آلدریج آلمان) با دوز 10^{-4} مولار اضافه شد و به مدت ۹۰ دقیقه فعالیت مکانیکی بافت بررسی شد. پس از آن به گروه آزمایش دوز مؤثر عصاره و به گروه کنترل حلال عصاره اضافه شد و تداخل اثر سیستم نیتزرژیک و عصاره مورد ارزیابی قرار گرفت. شایان ذکر است که بعد از پدیدار شدن اثر هر دارو در مرحله اول آزمایش یعنی قبل از تجویز عصاره، چندین بار عمل شستشوی هر دو حمام را با محلول تیروید 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 داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون تی مستقل (Independent-Samples T Test) و با در نظر گرفتن سطح معنی‌داری $p \leq 0/05$ اعداد حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

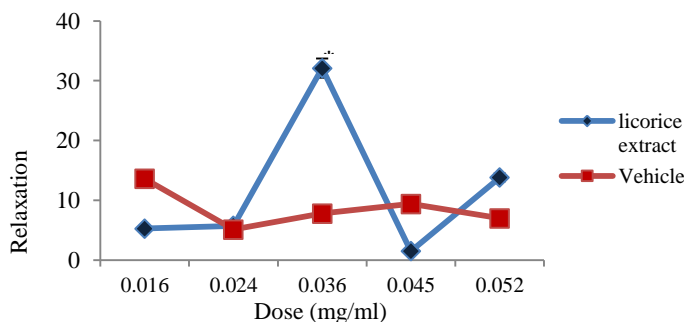
با توجه به نمودار ۱ تغییرات تانسین پایه بافت کولون ایزوله در دو گروه آزمایش و کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت.



نمودار ۱: فعالیت مکانیکی بافت ایلئوم ایزوله در شرایط پایه در دو گروه آزمایش (عصاره شیرین بیان) و کنترل (حلال عصاره) exp: گروه آزمایش con: گروه کنترل

در دوز ۰/۰۳۶ میلی گرم بر میلی لیتر دارای بیشترین درصد شل شدگی بافت ($P < 0/05$) در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل بوده است.

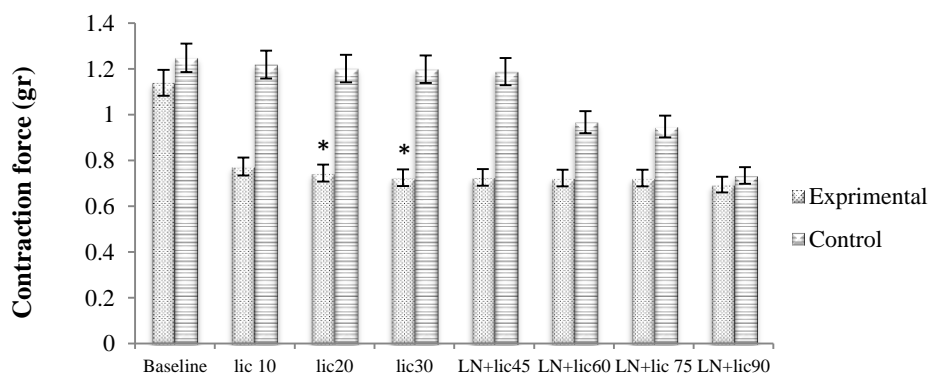
همان طور که در نمودار ۲ مشاهده می شود، تأثیر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی ریزوم شیرین بیان بر بافت ایلئوم ایزوله نشان داده شده که مشخص می شود عصاره شیرین بیان



نمودار ۲: مقایسه درصد شل شدگی کولون ایزوله در حضور دوزهای مختلف عصاره شیرین بیان (گروه آزمایش) و حلال هم حجم آن (گروه کنترل) در موش های صحرایی نر، * $P < 0/05$ دارای تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل (اتانول ۷۰ درصد)

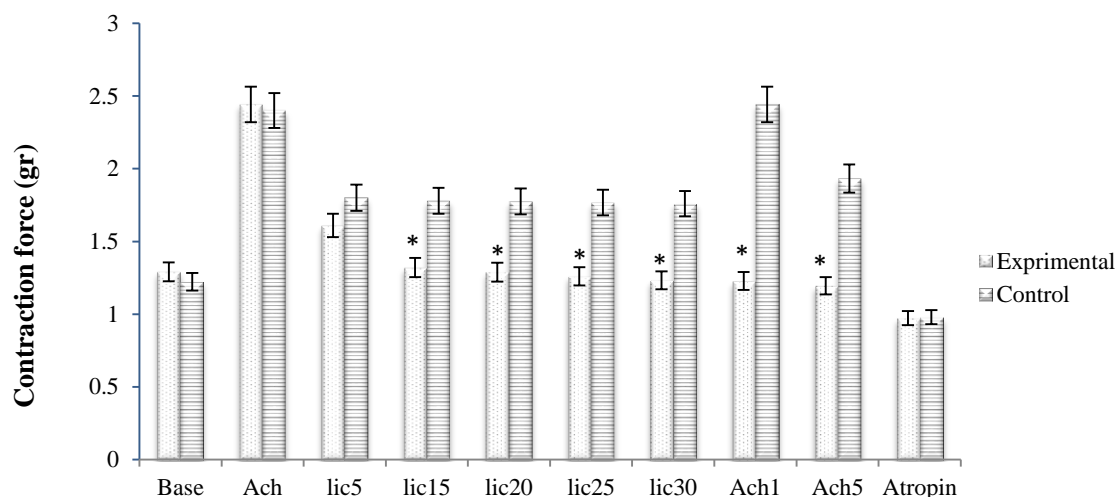
(مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز) در دو گروه آزمایش و کنترل تفاوت معنی داری نشان نمی دهد.

با توجه به نمودار ۳، فعالیت انقباضی کولون در حضور و عدم حضور عصاره نسبت به غلظت 10^{-4} مولار L-NAME



نمودار ۳: مقایسه میزان فعالیت انقباضی ایلئوم ایزوله در پاسخ به دوز مؤثر عصاره ریزوم شیرین بیان در حضور L-NAME با دوز 10^{-4} مولار در بین دو گروه آزمایش و کنترل base: تانسین پایه در شروع آزمایش، lic (در دقایق مختلف): وضعیت فعالیت مکانیکی بافت با افزودن عصاره ریزوم ذکر شده در دقایق مختلف، LN+lic: افزودن داروی Lname به بافت و وضعیت فعالیت مکانیکی در حضور عصاره و دارو در دقایق مختلف (بازه زمانی ۹۰ دقیقه)

کنترل (حلال عصاره) نشان می‌دهد. پس از مشاهده اثر شل‌کنندگی عصاره، با تجویز استیل‌کولین در دقایق ۱ و ۵ تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) در فعالیت انقباضی بافت در حضور عصاره نسبت به حلال در دو گروه آزمایش و کنترل مشاهده گردید. در حالی که با تجویز داروی آتروپین تفاوت معنی‌داری در گروه کنترل و آزمایش مشاهده نشد.



نمودار ۴: مقایسه میزان فعالیت انقباضی ایلنوم ایزوله در پاسخ به دوز مؤثر عصاره ریزوم شیرین بیان در حضور استیل‌کولین (ach) 4×10^{-5} مولار و آتروپین 10^{-5} مولار در بین دو گروه آزمایش و کنترل
 base: تانسین پایه در شروع آزمایش، lic (در دقایق مختلف): وضعیت فعالیت مکانیکی بافت با افزودن عصاره ریزوم ذکر شده در دقایق مختلف، Ach: افزودن داروی استیل‌کولین 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

فلاوون موجب کاهش حرکات روده کوچک و روده بزرگ می‌شود (۲۳). همچنین مطالعات ساتو (Sato) و همکاران بیانگر اثرات ضد اسپاسمی ایزولیکورتی‌جنین، فلاونوئید موجود در ریزوم شیرین بیان، در رکتوم حیوان بوده است (۲۴). بر اساس نتایج تحقیق حاضر و سایر تحقیقات انجام شده، می‌توان گفت عصاره ریزوم شیرین بیان دارای ترکیبات مهمی از جمله فلاونوئیدها است که احتمالاً اثرات شل‌کنندگی عصاره ناشی از این ترکیبات بوده است.

در این تحقیق برای بررسی تداخل اثر عصاره با سیستم نیتروزیک از L-NAME به عنوان مهارکننده سنتز نیتریک

نتایج حاصل از مطالعه حاضر بیانگر کاهش قابل توجه فعالیت مکانیکی بافت کولون ایزوله در حضور عصاره ریزوم شیرین بیان بوده است. این کاهش فعالیت مکانیکی بیان‌کننده حضور ترکیباتی در عصاره است که اثرات شل‌کنندگی بر عضله صاف کولون دارند. نتایج سایر محققین با تحقیق حاضر همخوانی دارد از جمله تحقیقات چن (Chen) و همکاران در خرگوش و خوکیه بیانگر اثر ضد اسپاسمی ایزولیکورتی‌جنین در ژوژنوم ایزوله خرگوش و ایلنوم خوکیه است (۱۱). مطالعات دی کارلو (Di Carlo) و همکاران نشان داد که تزریق درون پریتونئوم برخی فلاونوئیدها مانند آپی‌جنین، کامپفرول و

شیرین بیان، موجب رفع اسپاسم ناشی از اثر استیل کولین بر کولون ایزوله در خوک هندی می‌شود که با تحقیق حاضر مطابقت دارد (۱۲).

برخی مکانیسم‌هایی که ممکن است در اثرات شل‌کنندگی عصاره ریزوم شیرین بیان بر کولون ایزوله نقش داشته باشند ما را متوجه کانال‌های کلسیمی و پتاسیمی و نقش آن‌ها در انقباضات عضلات صاف می‌کند. بر این اساس مطالعات چن (Chen) و همکاران بر روی اثرات ضد اسپاسمی ایزولیکورتی‌جین در ژوژنوم خرگوش و ایلئوم خوکچه، بیان‌کننده نقش کانال‌های در مشاهده این اثرات است (۱۱). همچنین مطالعات ناگی (Nagai) و همکاران بیان‌کننده نقش مهار کانال‌های کلسیمی در اثرات ضد اسپاسمی ایزولیکورتی‌جین در ایلئوم خوک و ژوژنوم خرگوش بوده است (۲۷). همچنین غریب ناصری و همکاران در بررسی اثرات ضد اسپاسمی عصاره برگ شیرین بیان در ایلئوم موش صحرایی به نقش کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP و تداخل با کانال‌های کلسیمی اذعان کرده‌اند (۲۵).

به طور کلی، با توجه به نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که عصاره آبی-الکلی ریزوم شیرین بیان موجب کاهش انقباضات کولون ایزوله شده و دارای اثرات ضد اسپاسمی در کولون موش صحرایی نر است. این اثرات مهاری عصاره ریزوم شیرین بیان بر کولون ایزوله ممکن است به صورت مستقل از سیستم‌های نیتروزیک و کولینرژیک رخ داده باشد؛ بنابراین برای مشخص شدن مکانیسم دقیق اثرات عصاره ریزوم شیرین بیان بر کولون ایزوله و بررسی احتمال تداخل اثر عصاره با کانال‌های پتاسیمی و کلسیمی موجود در کولون موش صحرایی، تحقیقات بیشتری لازم است.

سپاسگزاری

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 گردید، قدردانی می‌شود.

اکساید استفاده شد؛ که تجویز این دارو موجب افزایش تانسین پایه کولون شد ولی تجویز L-NAME در حضور عصاره، اثرات شل‌کنندگی ناشی از عصاره را تحت تأثیر قرار نداد؛ بنابراین اثرات شل‌کنندگی عصاره بر ایلئوم ایزوله ناشی از تولید نیتریک اکساید و بنابراین ناشی از فعالیت سیستم نیتروزیک نبوده است. نتایج سایر محققین نیز تایید کننده این نتایج است، از جمله غریب ناصری و همکاران اثرات ضد اسپاسمی عصاره برگ شیرین بیان بر ایلئوم ایزوله را مستقل از سیستم نیتروزیک دانسته‌اند (۲۵). چن (Chen) و همکاران گزارش دادند که ایزولیکورتی‌جین، فلاونوئید ریشه شیرین بیان، موجب کاهش انقباضات ژوژنوم خرگوش و ایلئوم خوکچه شد که ناشی از مهار کانال‌های پتاسیمی و به صورت مستقل از سیستم نیتروزیک بوده است؛ زیرا استفاده از داروی L-NAME اثری روی شل‌شدگی ایلئوم و کولون نداشته است (۱۱). لیو (Liu) و همکاران مشاهده کردند که ایزولیکورتی‌جین به صورت مستقل از سیستم نیتروزیک موجب شل شدن عضلات صاف نای می‌شود (۲۶).

با توجه به قسمتی دیگر از نتایج مشاهده شد که داروی استیل کولین به عنوان آگونیست سیستم کولینرژیک موجب افزایش معنی‌دار تانسین پایه بافت کولون ایزوله شد که بیانگر دست نخورده بودن و زنده بودن بافت کولون در دو گروه کنترل و آزمایش بوده است. تجویز عصاره متعاقب تجویز داروی استیل کولین موجب کاهش انقباضات القا شده توسط استیل کولین شد. اگرچه عدم تأثیر داروی آتروپین، آنتاگونیست گیرنده‌های استیل کولینی، در اثرات شل‌کنندگی عصاره اثری نداشت بیان‌کننده عدم مشارکت گیرنده‌های استیل کولینی در اثرات عصاره بر کولون ایزوله بوده است؛ بنابراین سیستم کولینرژیک در اثرات شل‌کنندگی عصاره ریزوم شیرین بیان بر کولون ایزوله نقش نداشته است. این یافته‌ها با نتایج خوش‌نظر و همکاران مطابقت دارد که نشان دادند عصاره شیرین بیان به صورت مستقل از سیستم کولینرژیک موجب کاهش تانسین پایه در دئودنوم موش صحرایی می‌شود (۲۰). همچنین نتایج Huang و همکاران نشان داده که کوئرستین، از ترکیبات

References:

- 1- Koehn FE, Carter GT. *The evolving role of natural products in drug discovery*. Nature reviews Drug discovery 2005; 4(3): 206-20.
- 2- Khoshnam SE, Farzaneh M, valipour M, Bahaoddini A, valipour A. *Review of the phytochemical, pharmacological and physiological properties of Licorice (Glycyrrhizaglabra)*. J Clinic Excellence 2015; 4(1): 71-56.
- 3- Khoshnam SE, Bahaoddini A, Vatanparast J, Golampour F, Khosravi A. *The Effect of Hydro-alcoholic Extract of Glycyrrhizaglabra on Electrocardiogram and Its Interaction with Cholinergic System of Male Wistar Rats*. Armaghanedanesh 2015; 20 (4): 287-297.
- 4- Khayyal MT, El-Ghazaly MA, Kenawy SA, Seif-El-Nasr M, Mahran LG, Kafafi Y, et al. *Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination*. Arzneimittel-forschung 2000; 51(7): 545-53.
- 5- Amani M, Hosein RS-GNM, Kashani AM. *Optimal Extraction of Glycyrrhetic Acid From Licorice Root*. J Food Tech 2005; 3(4): 576-80.
- 6- Saxena S. *Glycyrrhiza glabra: medicine over the millennium*. Nat Prod Rad 2005; 4(5): 358-67.
- 7- Li W, Asada Y, Yoshikawa T. *Flavonoid constituents from Glycyrrhiza glabra hairy root cultures*. Phytochemist 2000; 55(5): 447-56.
- 8- Khayyal MT, El-Ghazaly MA, Kenawy SA, Seif-El-Nasr M, Mahran LG, Kafafi Y, et al. *Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination*. Arzneimittel-forschung. 2000; 51(7): 545-53.
- 9- Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S, Nomura T. *Anti-Helicobacter pylori flavonoids from licorice extract*. Life Sci 2002; 71(12): 1449-63.
- 10- Aly AM, Al-Alousi L, Salem HA. *Licorice: a possible anti-inflammatory and anti-ulcer drug*. AAPS Pharm Sci Tech. 2005; 6(1): 74-82.
- 11- Chen G, Zhu L, Liu Y, Zhou Q, Chen H, 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.
- 12- Huang W-F, Ouyang S, Li S-Y, Lin Y-F, Ouyang H, Zhang H, 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:[Acta physiologica Sinica] 2009; 61(6): 567-76.
- 13- Yamaguchi T, Kamada K, Dayton C, Gaskin FS, Yusof M, Yoshikawa T, et al. *Role of eNOS-derived NO in the postischemic anti-inflammatory effects of antecedent ethanol ingestion in murine small intestine*. Am J Physiol-Heart Circulatory Physiol 2007; 292(3): 1435-42.

- 14- Sigurjonsdottir H, Franzson L, Manhem K, Ragnarsson J, Sigurdsson G, Wallerstedt S. *Liquorice-induced rise in blood pressure: a linear dose-response relationship*. J Human Hypertension 2001; 15(8): 549-52.
- 15- Matsui M, Motomura D, Fujikawa T, Jiang J, Takahashi S-i, Manabe T, et al. *Mice lacking M2 and M3 muscarinic acetylcholine receptors are devoid of cholinergic smooth muscle contractions but still viable*. The J Neuroscience 2002; 22(24): 10627-32.
- 16- Iino S, Nojyo Y. *Muscarinic M 2 acetylcholine receptor distribution in the guinea-pig gastrointestinal tract*. Neuroscience 2006; 138(2): 549-59.
- 17- Chen G, Zhu L, Liu Y, Zhou Q, Chen H, Yang J. *Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, plays a dual role in regulating gastrointestinal motility in vitro and in vivo*. Phytotherapy Res 2009; 23: 498-506.
- 18- Thomford NE, Dzobo K, Chopera D, Wonkam A, Skelton M, Blackhurst D, et al. *Pharmacogenomics implications of using herbal medicinal plants on african populations in health transition*. Pharmaceuticals 2015; 8(3): 637-63.
- 19- Khoshnam SE, Bahaoddini A. *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*. Physiol Pharmacol 2013; 17(3): 349-58.
- 20- Khoshnazar SM, 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.
- 21- Gharib S, Bahaoddini A, Vatanparast J, Moein M. *Effect of alcoholic extract of ginger (Zingiber Officinale Roscoe) on mechanical activity of isolated jejunum of male rat*. Physiol Pharmacol 2014; 18(4): 406-15.
- 22- Bahaoddini A, Ketabi MA, Gholampour F, 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 Pharmacol 2011; 12(3): 55-63.
- 23- Di Carlo G, Autore G, Izzo A. A, Maiolino P, Mascolo N, Viola p, Diurno M. V, Capasso F. (1993). *Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationship*. J Pharm Pharmacol 1993, 45: 1054-1059.
- 24- Sato Y, He J-X, Nagai H, Tani T, Akao T. *Isoliquiritigenin, one of the antispasmodic principles of Glycyrrhiza ularensis roots, acts in the lower part of intestine*. Biologic Pharmaceutic Bulletin 2007; 30(1): 145-9.
- 25- mohamad kazem Gharib-Naseri mA, zahra Gharib-Naseri. *Antispasmodic Effect of hydroalcoholic leaf extract of licorice ileum contraction in rat*. Shahrekord J Med Sci 2008; 9(3): 1-9.

- 26- Liu B, Yang J, Wen Q, Ying Li. *Isoliquirtigenin: a flavonoid from licorice, relaxes guinea-pig tracheal smooth muscle invitro and invivo: Role of cGMP/PKG pathway*. Eur J Pharmacol 2008; 587: 257-266.
- 27- Nagai H, Yamamoto Y, Sato Y, Akao T, Tani T. *Pharmaceutical evaluation of cultivated Glycyrrhiza uralensis roots in comparison of their antispasmodic activity and glycycomarin contents with those of licorice*. Biologic Pharmaceutic Bulletin 2006; 29 (12): 2442-45.

Evaluation the effect of hydro-alcoholic extract of GlycyrrhizaGlabra rhizome on the isolated colon contractions of male rats

**Nahid Ghayedi (PhD Student)¹, Aminallah Bahaoddini (PhD)², Seyed Esmaeil Khoshnam (PhD Student)^{*3}
Firoozeh Gholampour(PhD)⁴, Ahmad Reza Khosravi(PhD)⁵, Mahmood Reza Moein(PhD)⁶**

^{1,2,4,5} Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran.

³ Department of Physiology, Medical School, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

⁶ Department Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

Received: 12 Aug 2015

Accepted: 2 Jun 2016

Abstract

Introduction:The licorice (Glycyrrhizaglabra) rhizome has been widely used in traditional medicine for treatment of gastrointestinal diseases such as gastric ulcer and relieve intestinal spasms. In the present study, the effect of hydro-alcoholic extract of licoricerhizome on mechanical activity of isolated colon of male rats has been studied.

Methods: Adult male rats were anesthetized by ethyl ether, their abdomen opened, and colon tissues were removed and divided into 1 cm segments. The segments were connected to a force transducer longitudinally and inserted to an organ bathe contained oxygenated Tyrode solution (37 °C, pH=7.4). Their mechanical activity of ileum was recorded by power lab AD instrument in basal condition, and after administration of L-NAME (10⁻⁴M), acetylcholine (4×10⁻⁵M) and Atropine (10⁻⁵M) drugs in the presence and absence of licorice rhizome extract were recorded (0.036mg/ml). Also, the mechanical activity of control group segments were recorded at the same condition with extract solvent (ethanol %70).

Results: A significant decrease in mechanical activity of the isolated colon occurred after administration of hydro-alcoholic extract of licorice rhizome compared to the control group (p≤0.05). Also, a significant decrease was seen in mechanical activity occurred in the co-administration of extract and acetylcholine compared to the control group. The mechanical activity of tissue was not significantly changed in the presence of Atropine and extract between experimental and control groups. The mechanical activity of ileum tissue was not significantly changed in the co-administration of L-NAME and extract between experimental and control groups.

Conclusion: We can conclude that hydro-alcoholic extract of licorice has modifying effect on colon motility, and this activity may be occurred independently in the nitrenergic and cholinergic systems.

Keywords: GlycyrrhizaGlabra; Colon; Nitric Oxide; Cholinergic

This paper should be cited as:

Nahid Ghayedi, Amin allah Bahaoddini, Seyed Esmaeil Khoshnam, Firoozeh Gholampour, Ahmad Reza Khosravi, Mahmood Reza Moein. ***Evaluation the effect of hydro-alcoholic extract of glycyrrhizaglabra rhizome on the isolated colon contractions of male rats.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 24(7): 576-86.

***Corresponding author: Tel: 09171491729, email: esmaeil.khoshnam1392@gmail.com**