

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

ناهید قائدی^۱، امین الله بهاء الدینی^۲، سید اسماعیل خوشنم^{*}^۳، فیروزه غلامپور^۴، احمد رضا خسروی^۵، محمود رضا 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 صحرایی نر مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش بررسی: موش‌های صحرایی نر بالغ ابتدا توسط اتیل اتر بی‌هوش شدند، بافت کولون آن‌ها جدا و به قطعات ۱ سانتی‌متری تقسیم شدند. قطعات به ترانسیدیوسر نیرو به صورت طولی آویزان و به درون حمام‌های بافتی محتوى محلول تیروド اکسیژنه ۳۷ درجه سانتی‌گراد pH=۷/۴ فرو برد. فعالیت مکانیکی قطعات توسط دستگاه پاورلب در حالت پایه، در پاسخ به داروی L-NAME (۱۰ مولار)، استیل کولین (۱۰^{-۴} 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 حلal 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 ($P \leq 0/05$). 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 تعديل کنندگی بر حرکات کولون است که احتماً این اثر مستقل از سیستم‌های نیتررژیک 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 فارماکوگنوژی، گروه فارماکوگنوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
- * (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۷۱۴۹۱۷۲۹، پست الکترونیکی: esmaeil.khoshnam1392@gmail.com
- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۱۳
- تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۲۱

مقدمه

فلاؤنوتئیدی شیرین بیان، بر ژوژنوم که مشخص شده دارای اثر ضد اسپاسم در ژوژنوم ایزوله خرگوش و ایلئوم خوکچه هندی است^(۱۱). همچنین کوئرستین، از ترکیبات شیرین بیان، موجب رفع اسپاسم ناشی از اثر استیل کولین بر کولون ایزوله در خوک هندی می‌شود^(۱۲).

نیتریک اکساید یک ماده مهم درون‌زاد است که با اثرات شل کنندگی خود، نقش مهمی در حرکات روده‌ای دارد^(۱۳). لذا جهت مشخص شدن مکانیسم دقیق اثرات عصاره شیرین بیان بر کولون ایزوله، بررسی تداخل اثر عصاره ریزوم شیرین بیان با سیستم نیتررژیک ضروری است. در برخی تحقیقات تداخل اثر عصاره گیاهان دارویی نظیر عصاره الکلی ریزوم زنجبل در سیستم نیتررژیک بیان کننده بی‌اثر بودن سیستم نیتررژیک در اثرات تعديل کنندگی عصاره ریزوم زنجبل بر حرکات ژنوم موش صحرایی بوده است^(۱۴).

استیل کولین نوروترانسミتر اصلی در دستگاه گوارش است که از طریق گیرندهای موسکارینی موجب انقباض عضله صاف روده می‌شود^(۱۵, ۱۶). ایزولیکورتیجنین در تنظیم حرکات دستگاه گوارش با هر دو فعالیت اسپاسموژنیک و اسپاسمولتیک مؤثر بوده که اثر اسپاسموژنیک بر اثر فعالیت رسپتورهای موسکارینی بوده در حالی که اثر اسپاسمولتیک به‌طور غالب بر اثر مهار شدن کانال‌های کلسیمی بوده است^(۱۷).

با توجه به ارزش روز افزون و جایگاه ویژه گیاهان دارویی مانند شیرین بیان در صنایع دارویی جدید و با در نظر گرفتن رویکرد جوامع به سمت استفاده از گیاهان دارویی و مشتقان آن‌ها که اثرات جانبی کمتر داشته و طیف درمانی گسترده‌ای دارند^(۱۸). لذا در مطالعه حاضر به بررسی اثر عصاره آبی-الکلی ریزوم شیرین بیان بر انقباضات کولون موش صحرایی نر و تداخل اثر آن با سیستم‌های نیتررژیک و کولینرژیک می‌پردازیم.

روش بررسی

جهت فرایند عصاره‌گیری، ریزوم شیرین بیان از زمین‌های دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز جمع‌آوری و پس از شناسایی

گیاهان دارویی حاوی ترکیبات طبیعی با خواص دارویی بوده که انسانس و عصاره این گیاهان از زمان‌های قدیم برای درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گرفتند. به طوری که این ترکیبات سیستم پزشکی جوامع را متتحول نمودند^(۱). در ایران گیاهان دارویی عمدتاً برای درمان بیماری‌های عمومی مثل سرماخوردگی، سرفه، سردرد، درد عضلانی و برخی مشکلات گوارشی استفاده می‌شود. گیاه شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L. خانواده بقولات^(Fabaceae) است. *Glycyrrhiza* یک نام یونانی بوده و از دو واژه *glycys* به معنی شیرین و *rhiza* به معنی ریشه مشتق شده است^(۲, ۳). ریشه شیرین بیان دارای ترکیبات متغّری نظیر فلاؤنوتئیدها، استرول‌ها، اسیدهای آمینه، نشاسته، اسانس‌های روغنی و ساپونین‌ها است. عمدتۀ ترین ساپونین آن اسید گلیسریزین یا گلیسریزین است^(۴, ۵). علاوه بر ترکیبات فوق‌الذکر ریشه شیرین بیان حاوی سایر ترکیبات نظیر اسید-۲- بتا-گلوکورونوزیل-گلوکورونیک، اسید گلیسریتیک، آسپاراژین، گلوکز، ساکارز، رزین‌ها، روغن‌های فرار، ترکیبات فلاؤنوتئیدی مانند گلیسریزین، گلیسریتیک اسید، گلابریدین، ایزولیکورتیجنین، لیکورتیجنین، لیکوچالکون و همچنین ترکیبات کومارینی است^(۶, ۷).

از شناخته‌ترین خواص درمانی ریزوم شیرین بیان استفاده از آن در درمان زخم معده بوده^(۸) و فلاؤنوتئیدهای آن ضد هلیکوبکتر پیلوری هستند^(۹). مشتقان شیرین بیان موجب افزایش غلظت پروستاگلاندین‌ها، مهار ترشح گاسترین و افزایش طول عمر سلول‌های اپیتلیوم معده شده و به این ترتیب موجب التیام زخم معده می‌شود^(۱۰). از جمله ترکیبات شیرین بیان لیکورتیجنین می‌باشد که موجب دفع اسپاسم عضلانی می‌شود، همچنین در ریزوم شیرین بیان ترکیبی به اسم گلیسریزین وجود دارد که دارای خواص ضد آرثی است^(۸). برخی مطالعات حاکی از تأثیر برخی ترکیبات عصاره شیرین بیان بر دستگاه گوارش می‌باشند. از جمله بررسی اثر ایزولیکورتیجنین (Isoliquiritigenine)، از ترکیبات

تیروود(۳۷ درجه سانتی گراد) منتقل گردید و به قطعات ۱ سانتی متری تقسیم گردید، برای تجویز هر دارو قطعه مجزا بکار می رفت. جهت تهیه ۱ لیتر محلول تیروود از مواد: NaCl (۸ گرم)، CaCl₂ (۰/۲ گرم)، KCl (۰/۲ گرم)، MgCl₂ (۰/۱ گرم)، NaHCO₃ (۱ گرم)، گلوکز(۱ گرم) استفاده شد. pH محلول تیروود در تمام طول آزمایش توسط pH متر اندازه گیری می شد تا در حد خنثی(۷/۴) باشد(۲۱).

بافت ایلئوم موش های 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 میلی لیتر محلول تیروود منتقل شده و هر قطعه کولون به صورت طولی توسط دو قلاب در محلول تیروود قرار می گرفت، یک قلاب کولون را در حمام بافتی ثابت نگه داشته و قلاب دیگر بافت را به ترانسدیوسر نیرو از نوع ایزوتونیک متصل می کرد. تغییرات انقباضی عضله کولون به ترانسدیوسر نیرو منتقل شده و ترانسدیوسر نیز به دستگاه برجام آمپلی فایر 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 سیگنال های الکتریکی تبدیل شده و توسط مانیتور کامپیوتر قابل مشاهده و ارزیابی بود. در حالی که بافت در محلول تیروود غوطه ور بود، توسط دستگاه water circulator و ترمومترات مربوطه دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برقرار بود و به طور دائم با ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد دی اکسید کربن هواده می شد، پس از نصب بافت ها و بعد از گذشت مدت زمان لازم و به تعادل رسیدن بافت ها با محیط در ابتدا تانسیون پایه بافت ها 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 بافت ها، استیل کولین با دوز ^۵ ۱۰ مولار به هر دو بافت اضافه

علمی توسط متخصص گیاه شناسی، تحت نظر متخصص فارماکو گنوzi دانشکده داروسازی به روش پر کولاتور عصاره گیری انجام شد، به این صورت که ریزوم های تهیه شده در سایه خشک گردید و پس از پودر کردن آن وزن خشک پودر یادداشت شد(۶ کیلو گرم). سپس پودر به دست آمده در دستگاه پر کولاتور قرار داده شد. اتانول ۷۰ درصد(۷۳ میلی لیتر اتانول و ۲۷ میلی لیتر آب مقطار) به اندازه ای به پودر اضافه شد تا فضای بین پودر شیرین بیان را پر کرده و به طور کامل روی سطح پودر را پوشاند. پس از گذشت نیم ساعت از نفوذ حلال در پودر شیرین بیان، اتانول ۷۰ درصد مجدد اضافه شد(مقدار الكل مصرفی در طی فرایند عصاره گیری تقریباً ۲ برابر مقدار پودر بود). طی ۲۴ ساعت فشار ناشی از دستگاه پر کولاتور موجب جمع شدن قطرات عصاره هیدرولالکلی پودر گیاه شیرین بیان در ظرف گردید. با استفاده از دستگاه روتاری عصاره تغليظ سازی شد(غلظت اولیه عصاره ۳۷ درصد بود). زمان تغليظ 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. موش های صحرایی در شرایط کنترل شده نور(سیکل ۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی) و دمای 22 ± 2 درجه سانتی گراد و دسترسی به آب و غذای کافی نگهداری شده در حالی که ۱۲ ساعت قبل از بیهوش کردن حیوانات غذای آنها قطع می شد و فقط به آب دسترسی داشتند. پس از ۱۲ ساعت حیوانات توسط اتر بیهوش و تحت عمل جراحی قرار می گرفتند. مسائل اخلاقی در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی نظیر بیهوشی و جراحی، تحت نظر کمیته اخلاق زیستی بخش زیست شناسی 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 آکه آسیبی به اپیتلیوم و عضله آن وارد شود فراهم شد(۲۰). بافت به پتری دیش حاوی محلول

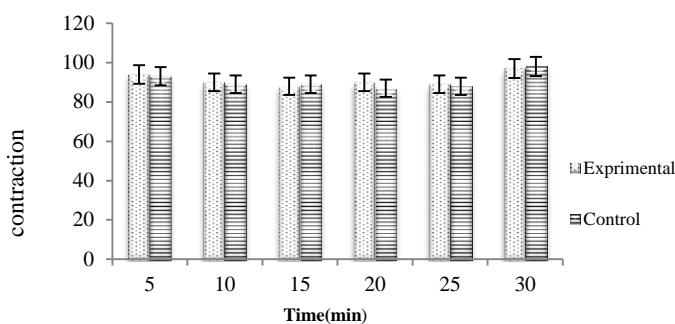
تأثیر توأم استیل کولین و عصاره بر فعالیت مکانیکی بافت مشخص شود. در ادامه آزمایش جهت بررسی اثر آنتاگونیست سیستم کولینرژیک از داروی آتروپین (تهیه شده از شرکت سیگما-آلدریج آلمان) استفاده شد که برای این منظور، قطعات جدید کولون به مانند روند مرحله قبل (سیستم کولینرژیک) تهیه شده، بعد از اضافه نمودن عصاره داروی 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 نیتررژیک، 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 نیتررژیک 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 تیروود 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. درنهایت داده‌ها با استفاده از نرمافزار SPSS و آزمون تی مستقل (Independent-Samples T Test) $p \leq 0.05$ اعداد حاصل مورد گرفتن سطح معنی‌داری قرار گرفتند.

نتایج

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

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 تانسیون پایه به صورت تصادفی به یکی از بافت‌ها عصاره ریزوم شیرین بیان با دوز مؤثر 0.036 میلی گرم بر میلی لیتر (معادل 43 میکروگرم بر میلی لیتر) و به بافت دیگر حلال هم حجم عصاره (اتانول 70 درصد) اضافه شد و بعد از 60 دقیقه و به تعادل رسیدن بافت با شرایط محیط، به مدت 30 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 نیتررژیک چگونگی اثرگذاری عصاره مورد بررسی قرار گرفت.

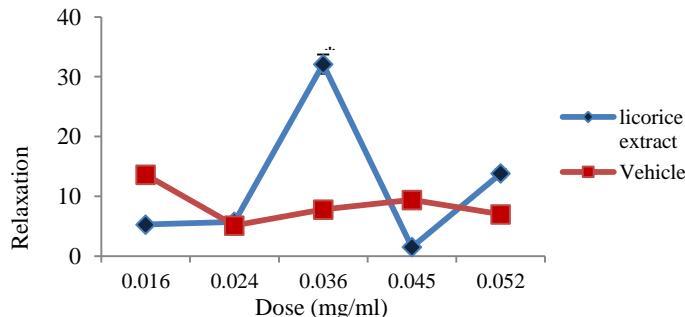
برای مطالعه سیستم کولینرژیک از استیل کولین به عنوان آگونیست گیرنده‌های موسکارینی استفاده شد. بعد از ثبت تانسیون پایه بافت‌ها در هر دو گروه، به دو حمام بافتی استیل کولین (تهیه شده از شرکت سیگما-آلدریج آلمان) به عنوان داروی آگونیست این سیستم با دوز 4×10^{-5} مولار اضافه گردید و به مدت 5 دقیقه فعالیت مکانیکی 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 تانسیون پایه ثبت گردید. پس از آن به گروه آزمایش عصاره با دوز مؤثر 0.036 میلی گرم بر میلی لیتر (معادل 43 میکروگرم بر میلی لیتر) اضافه گردید و به گروه کنترل به همین میزان حلال عصاره (الکل 70%) اضافه گردید و به مدت 30 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



نمودار ۱: فعالیت مکانیکی بافت ایلنوم ایزوله در شرایط پایه در دو گروه آزمایش (عصاره شیرین بیان) و کنترل (حلال عصاره)
همان طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، تأثیر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی ریزوم شیرین بیان بر بافت ایلنوم ایزوله نشان داده شده که مشخص می‌شود عصاره شیرین بیان

در دوز $0.036\text{ mg}/\text{ml}$ میلیگرم بر میلیلیتر دارای بیشترین درصد شل شدگی بافت ($P < 0.05$) در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل بوده است.

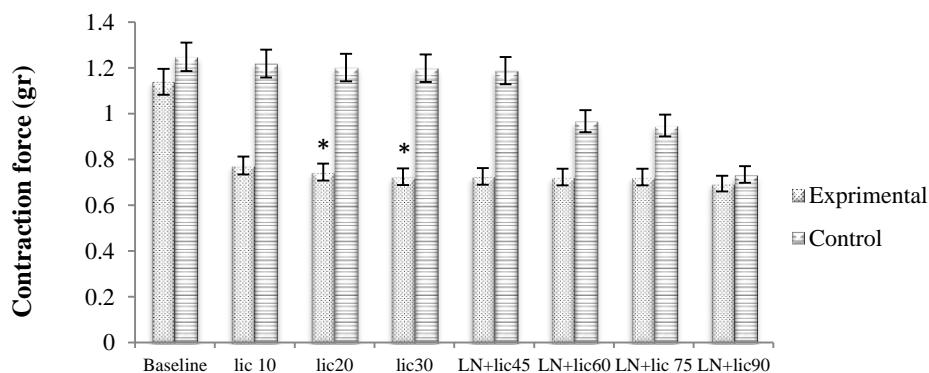
همان طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، تأثیر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی ریزوم شیرین بیان بر بافت ایلنوم ایزوله نشان داده شده که مشخص می‌شود عصاره شیرین بیان



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 موش‌های صحرایی نر، $p < 0.05$ دارای تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (اتانول ۷۰ درصد)

(مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز) در دو گروه آزمایش و کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد.

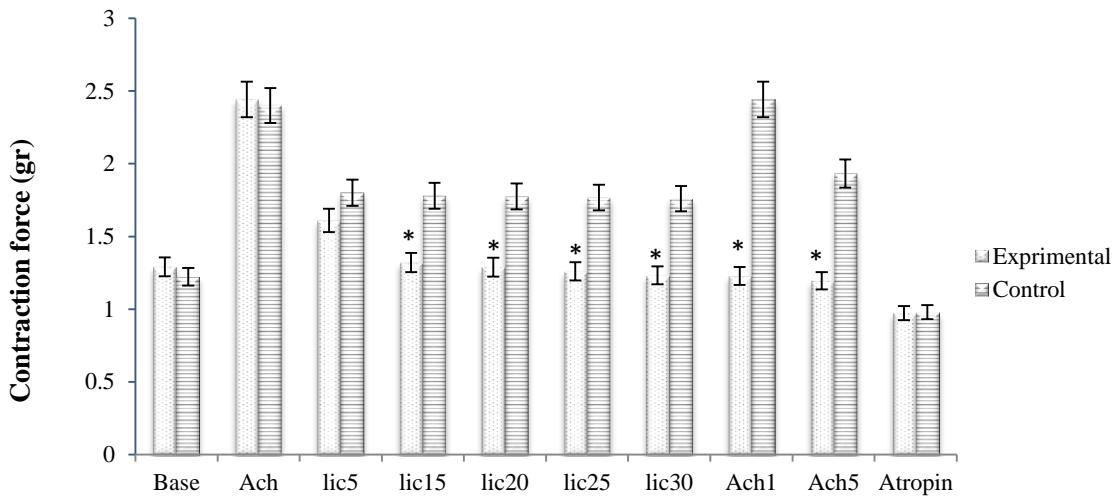
با توجه به نمودار ۳، فعالیت انقباضی کولون در حضور و عدم حضور عصاره نسبت به غلاظت 10^{-4} مولار L-NAME



نمودار ۳: مقایسه میزان فعالیت انقباضی ایلنوم 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: تاسیبون پایه در شروع آزمایش، lic (در دقایق مختلف): وضعیت فعالیت مکانیکی بافت با افزودن عصاره ریزوم ذکر شده در دقایق مختلف، lname: افزودن داروی LN+lic به بافت و وضعیت فعالیت مکانیکی در حضور عصاره و دارو در دقایق مختلف (باže زمانی ۹۰ دقیقه)

کنترل(حلال عصاره) نشان می‌دهد. پس از مشاهده اثر شل کنندگی عصاره، با تجویز استیل کولین 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.

همانطور که در نمودار ۴ 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. در حالی که میزان فعالیت انقباضی کولون ایزوله پس از تجویز عصاره شیرین بیان در گروه آزمایش کاهش معنی‌داری($p < 0.05$) نسبت به گروه



نمودار ۴: مقایسه میزان فعالیت انقباضی ایلئوم ایزوله در پاسخ به دوز مؤثر عصاره ریزوم شیرین بیان در حضور استیل کولین ($ach 4 \times 10^{-5}$ مولار) و آتروپین ۱۰ 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

فلاؤون موجب کاهش حرکات روده کوچک و روده بزرگ می‌شود(۲۳). همچنین مطالعات ساتو(Sato) و همکاران بیانگر اثرات ضد اسپاسمی ایزولیکورتی جنین، 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 شل کنندگی عصاره ناشی از این ترکیبات بوده است.

در این تحقیق برای بررسی تداخل اثر عصاره با سیستم نیتررژیک 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 بیان کننده حضور ترکیباتی در عصاره است که اثرات شل کنندگی بر عضله صاف کولون دارند. نتایج سایر محققین با تحقیق حاضر همخوانی دارد از جمله تحقیقات چن(Chen) و همکاران در خرگوش و خوکچه بیانگر اثر ضد اسپاسمی ایزولیکورتی جنین در ژوژنوم ایزوله خرگوش و ایلئوم خوکچه است(۱۱). مطالعات دی کارلو(Di Carlo) و همکاران نشان داد که تزریق درون پریتونوم برخی فلاونوئیدها مانند آپیجنین، کامپفرون 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 شل کنندگی 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 ایزولیکورتی‌جنین در ژوژنوم خرگوش و ایلئوم خوکچه، بیان کننده نقش کانال‌های در مشاهده این اثرات است(۱۱). همچنین مطالعات ناگای(Nagai) و همکاران بیان کننده نقش مهار کانال‌های کلسیمی در اثرات ضد اسپاسمی ایزولیکورتی‌جنین 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 نیتررژیک 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 تانسیون پایه کولون شد ولی تجویز L-NAMe در حضور عصاره، اثرات شل کنندگی ناشی از عصاره را تحت تأثیر قرار نداد؛ بنابراین اثرات شل کنندگی عصاره بر ایلئوم ایزوله ناشی از تولید نیتریک اکساید و بنابراین ناشی از فعالیت سیستم نیتررژیک 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 نیتررژیک دانسته‌اند(۲۵). چن(Chen) و همکاران گزارش دادند که ایزولیکورتی‌جنین، 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 نیتررژیک بوده است؛ زیرا استفاده از داروی L-NAMe اثری روی شل شدگی ایلئوم و کولون نداشته است(۱۱). لیو(Liu) و همکاران مشاهده کردند که ایزولیکورتی‌جنین به صورت مستقل از سیستم نیتررژیک 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 تانسیون 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 شل کنندگی عصاره اثری نداشت بیان کننده عدم مشارکت گیرنده‌های استیل کولینی در اثرات عصاره بر کولون ایزوله بوده است؛ بنابراین سیستم کولینرژیک در اثرات شل کنندگی 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 تانسیون پایه در دئونوم 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*. Armaghananesh 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 glycy coumarin 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 (*Glycyrrhiza glabra*) 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 licorice rhizome 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 bath 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 ($p \leq 0.05$). 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 nitrergic and cholinergic systems.

Keywords: GlycyrrhizaGlabra; Colon; Nitric Oxide; Cholinergic

This paper should be cited as:

Nahid Ghayedi, Aminallah 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