مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۱، شماره۳، خرداد ۱۳۹۵(شماره پی در پی۱۱۰)

اثر عصاره آبی ـ الکلی ریزوم گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza Glabra*) بر فعالیت مکانیکی کولون موش صحرایی نر و تداخل اثر آن با سیستم آدرنرژیک

ناهید قایدی[۱]، سید اسماعیل خوشنام[۲]، امین الله بهاءالدینی[۱*]

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران، [۲]گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۲/۱۷

چکیده:

زمینه و هدف: با توجه به این که شیرین بیان یکی از گیاهان دارویی بومی ایران بوده که ریزوم آن از زمان‌های گذشته برای درمان اسپاسم روده و اسهال استفاده می‌شده است، لذا در تحقیق حاضر تأثیر عصاره آبی و الکلی ریزوم شیرین بیان بر حرکات کولون ایزوله موش صحرایی نر بررسی 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. سپس فعالیت مکانیکی قطعات بافت گروه آزمایش به وسیله دستگاه پاورلب در حالت پایه، در پاسخ به فنیل افرین، اپی نفرین و پروپرانولول در حضور و عدم حضور عصاره ریزوم شیرین بیان(با دوز مؤثر ۰/۰۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ثبت شد. هم‌چنین فعالیت مکانیکی قطعات بافت گروه کنترل در شرایط مشابه در حضور حلال عصاره (اتانول ۷۰ درصد) ثبت شد. داده ها با استفاده از آزمون تی مستقل تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در حضور توأم عصاره و اپی‌نفرین فعالیت مکانیکی بافت در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری($p< ۰/۰۵$) داشته است. درحالی‌که فعالیت مکانیکی بافت در گروه آزمایش در حضور توأم عصاره و پروپرانولول در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار($p< ۰/۰۵$) داشته است، ولی فعالیت مکانیکی بافت در حضور توأم عصاره و فنیل افرین بین دو گروه کنترل و آزمایش تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

نتیجه‌گیری: با توجه به تحقیق حاضر میتوان نتیجه گرفت که ممکن است عصاره آبی ـ الکلی ریزوم شیرین بیان از طریق اثرات همسو با گیرنده‌های بتا آدرنرژیک موجب اثر تعدیل کنندگی بر حرکات کولون شده است که این اثر مستقل از گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک بوده است.

واژه‌های کلیدی: شیرین بیان، فعالیت مکانیکی، کولون، آدرنرژیک

[*]**نویسنده مسئول: امین الله بهالدینی**، شیراز، دانشگاه شیراز، گروه زیست شناسی

Email: bahaodini@shirazu.ac.ir

مقدمه

بخش مهمی از سلامت جوامع کشورهای درحال توسعه و توسعه یافته به طب سنتی برمی‌گیرد. امروزه بیشتر مردم به استفاده از فرآورده‌های طبیعی جهت درمان بیماری‌های مختلف از جمله اختلالات گوارشی روی آورده‌اند(۱).

شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L. از تیره نخودیان(Fabaceae) یکی از گیاهان دارویی است که ریزوم آن استفاده دارویی داشته و سابقه این مصرف به چند هزار سال قبل بر می‌گردد. این گیاه بومی مناطق مدیترانه بوده و در ایران بیشتر در شیراز، کرمانشاه و کردستان می‌روید(۲ و۱). ترکیب‌های اصلی شیرین بیان شامل؛ ساپونین‌ها، فلاونوئیدها- نظیر؛ لیکوریتین و ایزولیکوریتین، ایزوفلاون‌ها، لیکورتی جنین چالکون، گلیسریزین، کومارین‌ها و استیل بنوئیدها می‌باشد(۳). گلیسریزین به عنوان مهم‌ترین ماده مؤثره ریشه شیرین بیان حدود ۵۰ مرتبه از شکر شیرین‌تر است(۴).

در طب سنتی ایران گیاه شیرین بیان به عنوان درمان ورم معده و ضد سرفه استفاده می‌شود(۵). گلیسریزنیک اسید، از ترکیب‌های شیرین بیان، در درمان زخم معده، مشکلات مخاطی معده، و کاهش اسید معده مؤثر است(۶). از شناخته‌ترین خواص درمانی ریزوم شیرین بیان، استفاده از آن در درمان زخم معده بوده(۷) و فلاونوئیدهای آن ضد هلیکوباکتر پیلوری هستند(۸). لیکورتی جنین از جمله ترکیب‌های شیرین بیان می‌باشد که موجب دفع اسپاسم عضلانی می‌شود، هم‌چنین در ریزوم شیرین بیان ترکیبی به اسم گلیسریزین وجود دارد که دارای خواص ضد آلرژی می‌باشد(۷). ایزولیکورتی جنین (Isoliquiritigenine)، از ترکیب‌های فلاونوئیدی شیرین بیان، دارای اثر ضد اسپاسم در ژوژنوم ایزوله خرگوش و ایلئوم خوکچه هندی می‌باشد(۹). در طب سنتی ریزوم شیرین بیان برای درمان گرفتگی عضلات، روماتیسم، سرفه، آسم و عفونت‌های قفسه سینه و افزایش صفرا استفاده می‌شده است(۲).

سیستم سمپاتیک در کنترل فعالیت‌های حرکتی و ترشحی دستگاه گوارش نقش اساسی دارد. تحریک اعصاب سمپاتیک موجب تغییر غلظت کلسیم و به دنبال آن باز شدن کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم و انبساط عضلات صاف روده می‌شود و از این طریق فعالیت‌های حرکتی دستگاه گوارش کاهش پیدا می‌کند(۱۰).

با توجه به استفاده روز افزون از گیاه دارویی شیرین بیان در طب سنتی و طب امروزی، بررسی اثرات این گیاه بر فعالیت مکانیکی عضلات صاف قسمت‌های مختلف سیستم گوارش حایز اهمیت می‌باشد؛ لذا برخی مطالعه‌ها حاکی از کاهش فعالیت مکانیکی دئودنوم روده باریک در حضور عصاره ریزوم شیرین بیان بوده است(۱۱). مطالعه حاضر نیز با هدف بررسی اثرات عصاره ریزوم شیرین بیان 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 ترکیب‌ها با تأثیر کاهنده بر حرکات روده می‌باشد که افزایش آن از علل بروز اسهال است(۱۲).

برای مشخص شدن مکانیسم و اثر عصاره این گیاه دارویی، در تحقیق حاضر تأثیر عصاره آبی الکلی ریزوم شیرین بیان بر حرکات روده بزرگ و تداخل اثر آن با سیستم آدرنرژیک مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، تعداد ۱۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با میانگین وزن ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم به طور تصادفی انتخاب شدند. رت‌ها در شرایط کنترل شده نور (سیکل ۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی) و دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و آب و غذای کافی نگهداری شده در حالی که ۱۲ ساعت قبل از بی‌هوش کردن رت ها غذای آن ها قطع می‌شد و فقط به آب دسترسی داشتند. لازم به ذکر است که مسایل اخلاقی در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی نظیر بیهوشی و جراحی، تحت نظر کمیته اخلاق زیستی بخش زیست شناسی انجام شد.

بعد از یک هفته و حصول اطمینان از سلامت حیوان، با اتر بیهوش شده، سپس شکم حیوان باز شد و پس از شناسایی کولون، از بخش انتهایی آن (کولون دیستال) برش تهیه و بافت کولون جدا شد. برش مورد نظر بدون آن که آسیبی به اپیتلیوم و عضله آن وارد شود، فراهم شد(۱۱). بافت به پتری‌دیش حاوی محلول تیرود(۳۷ درجه سانتی گراد) منتقل شد و به قطعات ۱سانتی‌متری 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 به وسیله pH متر اندازه‌گیری می‌شد تا در حد خنثی(۷/۴) باشد(۱۳).

بافت کولون بعد از جداسازی به دو گروه آزمایش و کنترل تقسیم شد که هر گروه شامل ۱۰ قطعه بافت بوده است. بافت دریافت کننده عصاره شیرین بیان به عنوان گروه آزمایش و بافت دریافت کننده حلال عصاره شیرین بیان (اتانول ۷۰ درصد) به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. سپس جهت بررسی تداخل اثر عصاره شیرین بیان با سیستم آدرنرژیک، از داروهای مقلد سیستم آدرنرژیک با دوز مناسب (فنیل افرین با دوز ۲×۱۰^{-۵} مولار، اپی‌نفرین با دوز $۱۰^{-۶}$ مولار، پروپرانولول با دوز $۱۰^{-۴}$ مولار)استفاده شد(۱۱).

جهت فرآیند عصاره‌گیری، ریزوم شیرین بیان از زمین‌های دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز جمع‌آوری و پس از شناسایی علمی به وسیله متخصص گیاه شناسی بخش زیست شناسی دانشگاه شیراز، تحت نظر متخصص فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه شیراز به روش پرکولاتور

عصاره‌گیری 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 به‌دست 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 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 عصاره گیری 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 شد. با استفاده از دستگاه روتاری عصاره تغلیظ‌سازی شد (غلظت اولیه عصاره ۳۷ درصد بود). زمان تغلیظ بسته به نوع گیاه، متفاوت است(۱۴).

دو قطعه کولون به طور هم‌زمان به دو حمام بافتی حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محلول تیرود منتقل شده و هر قطعه کولون به‌صورت طولی به وسیله دو قلاب در محلول تیرود 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 می‌کرد. تغییرات انقباضی عضله کولون به ترانسدیوسر نیرو منتقل شده و ترانسدیوسر نیز به دستگاه بریج آمپلی‌فایر و سیستم power lab A-to-D (مدل ML825، ساخت استرالیا) متصل بوده و به وسیله نرم‌افزار chart-5 کالیبره شده و به این ترتیب تغییرات مکانیکی انقباض بافت به سیگنال‌های الکتریکی تبدیل شده و به وسیله مانیتور کامپیوتر قابل مشاهده و ارزیابی بود. در حالی که بافت در محلول تیرود غوطه‌ور بود، به وسیله دستگاه water-circulator و ترموستات مربوطه دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برقرار بود و به طور دایم با ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد دی‌اکسید کربن هوا دهی 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(۱۵).

بعد از ۶۰ دقیقه و به تعادل رسیدن بافت با شرایط محیط، ابتدا برای حصول اطمینان از سلامت بافت‌ها، استیل کولین با دوز $۱۰^{-۵}\times۱۰$مولار به هر دو بافت اضافه گردید و فعالیت مکانیکی بافت‌ها ثبت شد و پس از گذشت ۵ دقیقه بافت‌ها شستشو داده شد و فعالیت مکانیکی بافت کولون ایزوله در شرایط پایه در دو گروه آزمایش (عصاره شیرین بیان) و کنترل (اتانول ۷۰ درصد به عنوان حلال عصاره) ثبت شد. سپس دوزهای مختلف عصاره شیرین بیان و معادل هم حجم آن حلال عصاره (اتانول ۷۰ درصد) برای به دست آوردن دوز مؤثر تجویز شده که دوز ۰/۰۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین شل شدگی را در بافت کولون ایجاد کرده بنابراین به عنوان دوز مؤثر در نظر گرفته شد. به صورت تصادفی به یکی از بافت‌ها عصاره ریزوم شیرین بیان با دوز مؤثر ۰/۰۳۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (معادل ۴۳ میکروگرم بر

میلی‌لیتر) و بـه بافـت دیگـر حـلال هـم حجـم عصـاره (اتانول ۷۰ درصد) اضـافه شـد و بـه مـدت ۳۰ دقیقـه فعالیت مکانیکی بافت ثبت گردید. بعد از مدت ۶۰ دقیقه و مشاهده اثر شل‌کنندگی عصاره، به طور هم‌زمان در حمام بـافتی هـر دو بافـت، فنیـل افـرین(تهیـه شـده از شرکت سیگمـا ـ آلـدریچ آلمـان) بـه عنـوان آگونیسـت گیرنـده‌هـای آلفـا آدرنرژیـک بـا دوز ۲×۱۰^{-۵} مـولار اضافه و فعالیت مکانیکی بافت‌هـا ثبـت شـد. در ادامـه آزمایش جهت بررسی اثر داروی اپی‌نفرین (تهیه شـده از شـرکت سیگمـا ـ آلـدریچ آلمـان)، قطعـه‌هـای جدیـد کولون به مانند رونـد مرحلـه قبـل تهیـه شـده، بعـد از اضافه نمودن عصاره شیرین بیان و مشاهده اثر شـل کنندگی آن، اپی‌نفرین به عنوان آگونیست گیرنـده‌هـای بتا آدرنرژیک با دوز $۱۰^{-۶}$ مولار استفاده شد و فعالیت مکانیکی بافت ثبت شد. پس از گذشت این مـدت زمـان بدون شستشو و هم‌زمان به هر دو حمام بافتی داروی پروپرانولـول (تهیـه شـده از شـرکت سیگمـا ـ آلـدریچ آلمان) به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های بتا آدرنرژیک با دوز $۱۰^{-۴}$ مـولار اضـافه شـد و بـه مـدت ۴۰ دقیقـه فعالیت مکانیکی بافت ثبت گردید. شایان ذکر است کـه بعد از پدیدار شدن اثر هر دارو در مرحله اول آزمایش یعنـی قبـل از تجـویز عصـاره، چنـدین بـار عمـل شستشوی هر دو حمام با محلول تیرود انجام می‌شـد تا اثر داروها کاملاً حذف شود، سپس به بافت اجـازه داده شد تا به حالت اولیه برسد و بعد از آن دوز مؤثر عصاره افزوده می‌شد.

داده‌هـای جمـع‌آوری شـده بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار SPSS و آزمـون‌هـای آمـاری کلموگروف ـ اسمینروف و تی مستقل تجزیه و تحلیـل شدند.

یافته‌ها

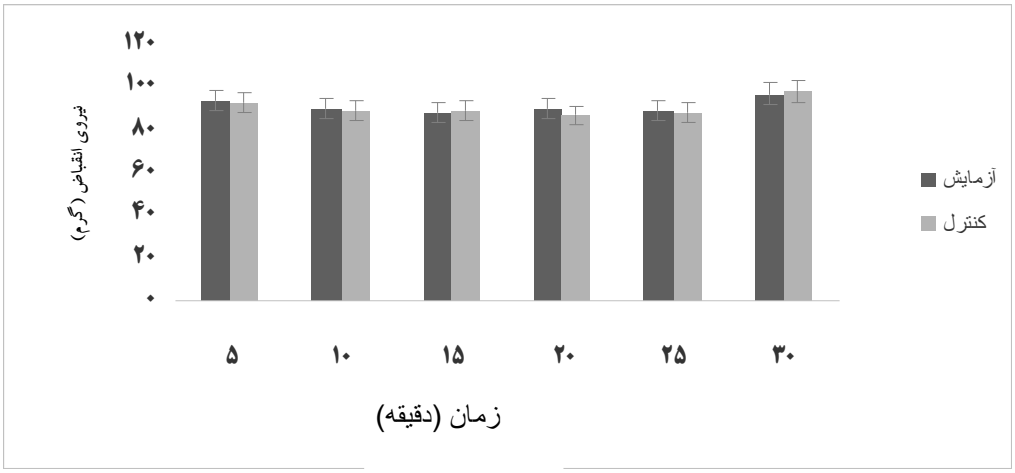
تغییرات تانسیون پایه بافت کولـون ایزولـه در دو گروه آزمایش و کنترل تفـاوت معنـی‌داری نداشـته است(نمـودار ۱). همـانطور کـه در نمـودار ۲ مشـاهده می‌شود، تأثیر دوزهای مختلـف عصـاره آبـی ـ الکلـی ریزوم شیرین بیان بر بافت کولـون ایزولـه مشـخص مـی‌شـود کـه عصـاره شـیرین بیـان در دوز ۰/۰۳۶ میلـی‌گـرم بـر میلـی‌لیتـر (معـادل ۴۳ میکروگـرم بـر میلی‌لیتر) دارای بیشـترین درصـد شـل شـدگی بافـت ($p< ۰/۰۵$) در گروه آزمـایش نسـبت بـه گـروه کنتـرل بوده است.

فعالیت مکـانیکی کولـون در پاسـخ بـه تجـویز عصاره شیرین‌بیان در گروه آزمایش نسبت بـه گـروه کنتـرل در نمـودار ۳ بیـانگر کـاهش معنـی‌داری ($p< ۰/۰۵$) فعالیت مکـانیکی بافـت طـی دقـایق ۲۰ و ۳۰ می‌باشد. در حالی که فعالیت مکانیکی بافت بـا تجـویز فنیل‌افرین در گروه آزمایش طی زمان‌های قبـل و بعـد از تجـویز عصـاره، نسـبت بـه گـروه کنتـرل تغییـر معنی‌داری نداشته است.

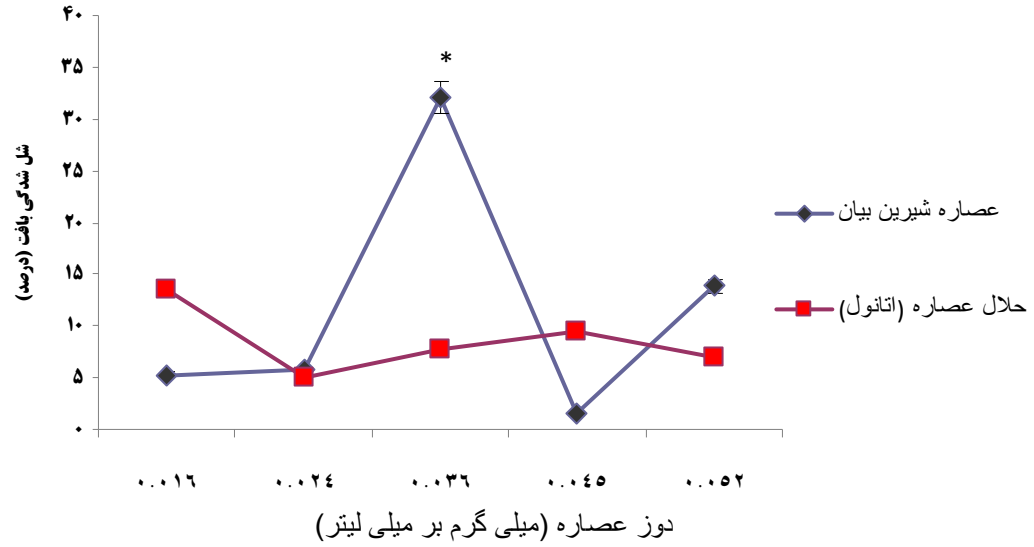
با توجه بـه نمـودار ۴، فعالیـت مکـانیکی بافـت کولون قبل از تجویز عصاره شـیرین بیـان، در گـروه آزمـایش طـی پاسـخ بـه تجـویز اپـی‌نفـرین تغییـر

معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشته است. در حالی که تجویز توأم داروی اپی‌نفرین و عصاره شیرین بیان موجب کاهش معنی‌دار($p<0/05$) فعالیت مکانیکی بافت در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل شده است.

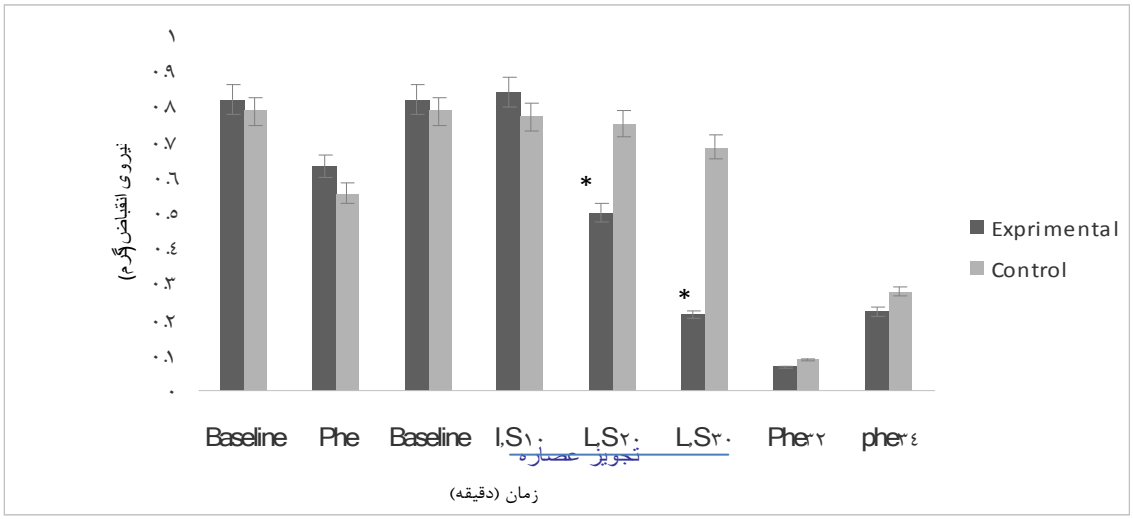
همان طور در نمودار ۵ مشاهده می‌شود، فعالیت انقباضی بافت در گروه آزمایش در پاسخ به تجویز توأم پروپرانولول و عصاره شیرین بیان در دقیقه ۷۰ افزایش معنی‌داری ($p< 0/05$) نسبت به گروه کنترل داشته است.



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

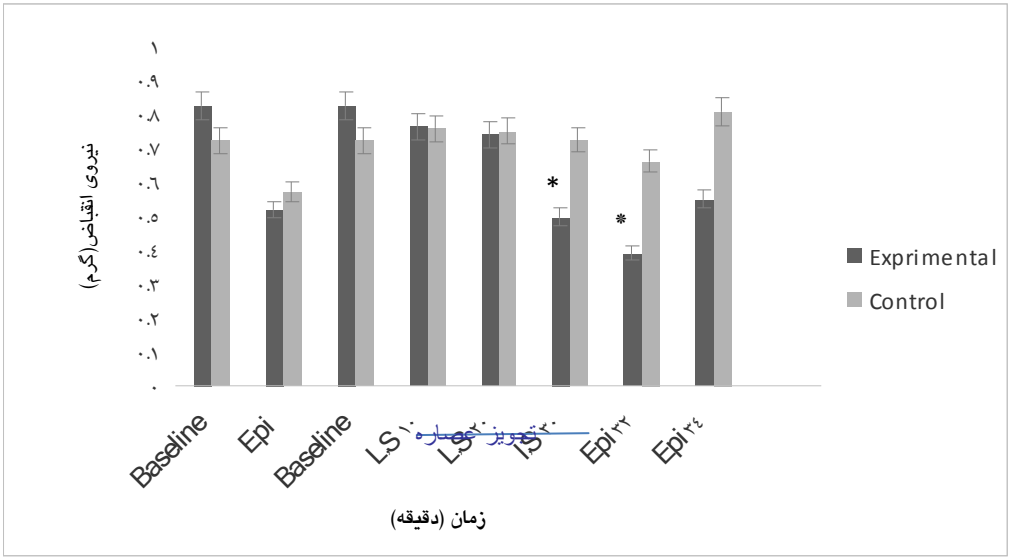


نمودار ۲: مقایسه درصد شل شدگی کولون ایزوله در حضور دوزهای مختلف عصاره شیرین بیان (گروه آزمایش) و حلال هم حجم آن (گروه کنترل) در موش‌های صحرایی نر ، $^{*}p< 0/05$ دارای تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل



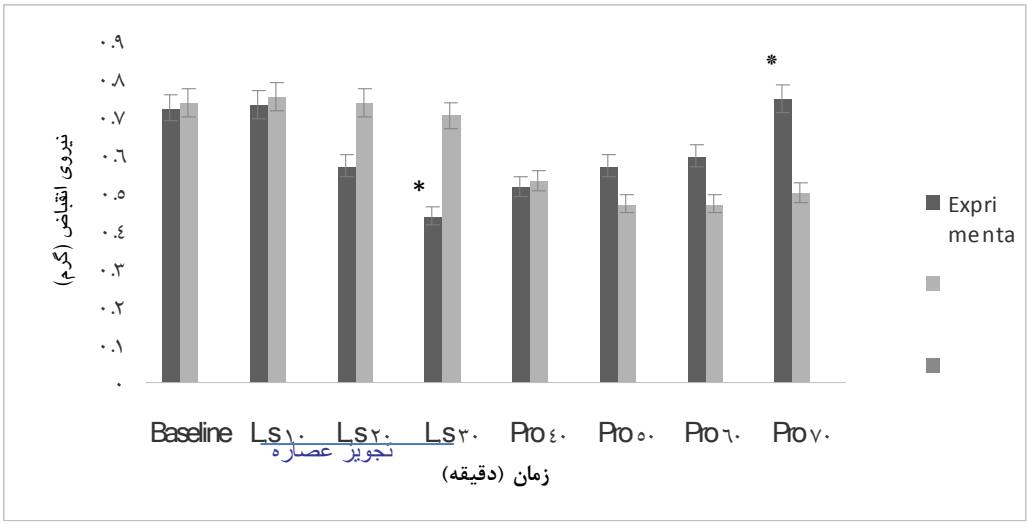
نمودار ۳: مقایسه میزان فعالیت انقباضی کولون ایزوله در پاسخ به دوز مؤثر عصاره ریزوم شیرین بیان در حضور فنیل‌افرین (Phe) 10^{-6} ۲×۱۰ مولار در گروه‌های آزمایش و کنترل

Base 1 : تانسیون پایه در شروع آزمایش ، Base 2: تانسیون پایه قبل از افزودن عصاره، Phe : پاسخ بافت به فنیل افرین در دقایق مختلف *: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل(p<۰/۰۵)



نمودار ۴. مقایسه میزان فعالیت انقباضی کولون ایزوله در پاسخ به دوز مؤثر عصاره ریزوم شیرین بیان در حضور اپی‌نفرین (Epi) 10^{-6}مولار در گروه‌های آزمایش و کنترل

Base 1 : تانسیون پایه در شروع آزمایش، Base 2: تانسیون پایه قبل از افزودن عصاره، Epi : پاسخ بافت به اپی‌نفرین در در دقایق مختلف *: تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل(p<۰/۰۵)



نمودار ۵: مقایسه میزان فعالیت انقباضی کولون ایزوله در پاسخ به دوز مؤثر عصاره ریزوم شیرین بیان در حضور پروپرانولول (Pro) $^{-۴}$ ۱۰مولار در گروه‌های آزمایش و کنترل در زمان‌های مختلف

Base: تانسیون پایه در شروع آزمایش ، *تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (p<۰/۰۵)

بحث

از آن جایی که گیاه شیرین بیان در طب سنتی استفاده فراوانی داشته و گزارشاتی مبنی بر اثرات ضد اسپاسمی عصاره ریزوم شیرین بیان بر عضلات صاف از جمله روده باریک وجود دارد(۹ و ۷)، لذا در تحقیق حاضر تأثیر عصاره آبی ـ الکلی ریزوم شیرین بیان بر حرکات روده بزرگ و تداخل اثر آن با سیستم آدرنرژیک مورد بررسی قرار گرفته است.

در مطالعه حاضر مشاهده شد که در حضور عصاره ریزوم شیرین بیان فعالیت مکانیکی کولون ایزوله در موش‌های صحرایی نر کاهش معنی‌داری داشت، 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 ساتو و همکاران نشان دادند که ایزولیکورتی جنین، فلاونوئید موجود در ریزوم شیرین بیان، اثرات ضد اسپاسمی در رکتوم دارد(۱۶). هم‌چنین تحقیق **چن** و همکاران در خرگوش و خوکچه بیانگر اثر ضد اسپاسمی ایزولیکورتی جنین در ژوژنوم ایزوله خرگوش و ایلئوم خوکچه می‌باشد(۹). برخی مطالعه‌ها نیز بیانگر اثرات شل کنندگی عصاره بر عضله صاف عروق و نای ایزوله می‌باشند(۱۷). بر اساس نتایج تحقیق حاضر و سایر تحقیق‌های انجام شده، می‌توان گفت عصاره ریزوم شیرین بیان دارای ترکیب‌های مهمی از جمله فلاونوئیدها می‌باشد که احتمالاً اثرات شل کنندگی عصاره ناشی از این ترکیب‌ها بوده است.

جهت بررسی تداخل اثر عصاره شیرین بیان با سیستم آدرنرژیک از داروهای آگونیست و آنتاگونیست سیستم آدرنرژیک استفاده شد. با توجه به نتایج، اثرات شل کنندگی عصاره شیرین بیان بر فعالیت مکانیکی کولون ایزوله، به وسیله فنیل افرین به عنوان آگونیست گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک تقویت نشد. در حالی که میزان فعالیت مکانیکی کولون ایزوله

در گروه آزمایش در حضور عصاره آبی-الکلی شیرین بیان و داروی اپی‌نفرین به عنوان آگونیست گیرنده‌های بتا آدرنرژیک نسبت به گروه کنترل در حضور حلال عصاره و اپی‌نفرین مورد بررسی قرار گرفت و همان‌گونه که در بخش نتایج مشاهده شد کاهش فعالیت مکانیکی کولون ایزوله در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد در حضور اپی‌نفرین تقویت شده است. با اعمال پروپرانولول به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های بتا آدرنرژیک در حضور عصاره در گروه آزمایش افزایش معنی‌دار در فعالیت مکانیکی بافت مشاهده شد. بنابراین می‌توان گفت که ممکن است بخشی از اثر شل کنندگی عصاره از طریق تحریک گیرنده‌های بتا آدرنرژیک در کولون بوده است.

این نتایج با برخی گزارش‌های محققین در این خصوص مطابقت دارد، از جمله رولتا و همکاران نشان داد که کوئرستین، از فلاونوئیدهای شیرین بیان، در عضله صاف رحم باعث مهار انقباض ایجاد شده به وسیله پتاسیم کلراید(Kcl)می شود و استفاده از پروپرانولول به طور معنی‌داری باعث کاهش این اثر کوئرستین شد. بنابراین کوئرستین با تحریک گیرنده‌های بتا آدرنرژیک باعث شل شدگی رحم شده است(۱۸). برخی از تحقیق‌ها در این زمینه با نتایج حاصل از این تحقیق متفاوت می باشد از جمله لیو و همکاران بیان کردند ایزو لیکورتیجنین، از فلاونوئیدهای شیرین بیان، دارای اثر مهاری بر انقباض‌های نای خوکچه هندی می‌باشد که تحت تأثیر پروپرانولول این اثر تغییر نکرد. بنابراین می‌توان گفت که رسپتورهای بتا آدرنرژیک در بروز اثرات مهاری این فلاونوئید نقشی ندارند(۱۹).

اودیا و همکاران طی تحقیق انجام شده بیان کردند عصاره متانولیک دانه‌های گارسینیاکولا به دلیل حضور فلاونوئیدها و ایزوفلاونوئیدها به طور وابسته به دوز دارای اثرات ضد اسپاسمی بر انقباض‌های دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم موش صحرایی می‌باشد و مهار اعصاب آدرنرژیک به وسیله داروی پرازوسین (آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا آدرنرژیک) و پروپرانولول (آنتاگونیست گیرنده‌های بتا آدرنرژیک) در اثرات مهاری عصاره بر انقباض‌های ناشی از استیل کولین، بی‌تأثیر است. بنابراین می‌توان گفت اثر مهارکنندگی عصاره بر انقباض‌های عضله صاف مستقل از سیستم آدرنرژیک بوده است(۲۰).

این تناقض‌ها را می‌توان چنین توجیه کرد که در این تحقیقات از اثر فلاونوئیدهای خالص شده استفاده شده است در حالی که در تحقیق حاضر اثر عصاره ریزوم شیرین بیان از طریق تداخل اثر فلاونوئیدهای متنوع موجود در آن اعمال شده است که ممکن است این فلاونوئیدها اثرات متفاوتی بر سیستم آدرنرژیک اعمال کرده‌اند. از آن جایی که ریزوم شیرین بیان حاوی ترکیب‌های فلاونوئیدی زیادی می‌باشد و با توجه به تحقیق ذکر شده، می‌توان اثرات عصاره بر سیستم آدرنرژیک را به این ترکیب‌های فلاونوئیدی نسبت داد(۲۲ و ۲۱).

برای بررسی مکانیسم‌های فرضی اثر شل کنندگی عصاره ریزوم شیرین بیان بر کولون ایزوله

باید بـه نقـش کانـال‌هـای کلسـیمی و پتاسـیمی توجـه داشت زیرا این کانال‌ها در انقباض عضله صاف نقـش مهمی دارند. در مطالعه‌ای که به وسیله چن و همکاران انجـام شـد، نشـان دادنـد کـه اثـر ضـد اسپاسـمی ایزولیکـورتی‌جنـین، از فلاونوئیـدهای ریـزوم شـیرین بیان، در ژوژنوم خرگوش و ایلئوم خوکچـه ناشـی از مهار کانال‌های پتاسیمی بوده است(۹). هم‌چنـین نـاگی و همکاران اثرات ضد اسپاسمی ایزولیکورتی‌جنـین در ایلئـوم خـوک و ژوژنـوم خرگـوش را ناشـی از مهـار کانال‌های کلسیمی دانسته‌اند(۲۳). ناصری و همکـاران اثرات ضد اسپاسمی عصاره شیرین بیان در ایلئـوم را ناشـی از کانـال‌هـای پتاسـیمی حسـاس بـه ATP (Adenosine Triphosphate) و تداخل با کانال‌های کلسـیمی دانسـته‌انـد(۱۲). بنـابراین ممکـن اسـت اثـرات ضـد اسپاسمی شیرین بیان در کولون علاوه بر اثـرات ایـن عصاره بر گیرنده‌های بتا آدرنرژیـک، ناشـی از فعـال شـدن کانـال‌هـای پتاسـیمی حسـاس بـه ATP و مهـار کانال‌های کلسیمی بوده است. برای پاسخ به این سؤال که عصاره آبی ـ الکلی ریزوم شـیرین بیـان از طریـق کدام گیرنده‌هـا موجـب بـروز اثـرات شـل‌کننـدگی بـر کولون ایزوله شده است و این اثرات بـه وسـیله کـدام ترکیب یا فلاونوئید موجود در گیـاه شـیرین بیـان بـه وجود آمده‌اند، نیـاز بـه تحقیـق‌هـای بیشـتر در آینـده دارد. از آنجایی که مصرف این عصاره در انسـان بـه صورت خـوراکی خواهـد بـود، پیشـنهاد مـی‌شـود در مطالعه‌های بعدی، عصاره به صورت خوراکی تجـویز شود. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود، مـواد مـؤثره ریـزوم شیرین بیان جهت تعیین مکانیسم‌های دقیق سلولی اثر عصاره بر کولون جداسازی شده و تداخل اثر عصاره با سایر سیستم های دخیل در کنترل عضـلات صـاف ماننـد سیسـتم کولینرژیـک و نیتریـک اکسـاید مـورد بررسی دقیق قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه بـه نتـایج بـه دسـت آمـده در تحقیـق حاضر می‌توان گفت که عصـاره آبـی ـ الکلـی ریـزوم شیرین بیان اثر مهاری بر فعالیت مکانیکی بافت کولون ایزوله داشته که ممکن است بخشی از اثر شل کننـدگی عصاره از طریق تحریک گیرنده‌های بتا آدرنرژیـک در کولون بوده است. بنابراین توصیه به مصرف ریـزوم شـیرین بیـان جهـت درمـان اسـهال نیازمنـد انجـام تحقیقـات وسـیع‌تـر مـی‌باشـد. از طـرف دیگـر وجـود خاصیت ضد انقباضی ریزوم شیرین بیان این نکتـه را روشن می‌سازد کـه سـایر خـواص فارماکولولوژیـک ریـزوم شـیرین بیـان ارزش مطالعـه دقیـق را داشـته باشد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشـد فیزیولوژی جـانوری مصـوب بخـش زیسـت شناسـی دانشکده علوم بوده است که با حمایـت مـالی دانشـگاه شیراز انجام شد.

REFERENCES

1.Kartal M. Intellectual property protection in the natural product drug discovery, traditional herbal medicine and herbal medicinal products. Phytotherapy research. 2007; 21(2): 113-9.
2.Nassiri Asl M, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. Phytotherapy Research 2008; 22(6): 709-24.
3.Saxena S. Glycyrrhiza glabra: medicine over the millennium. Nat Prod Rad 2005; 4(5): 358-67.
4.Khanahmadi MM, Naghdi Badi H, Akhondzadeh S, Khalighi –Sigaroodi F, Mehrafarin A, Shahriari S, et al. A Review on Medicinal Plant of Glycyrrhiza glabra L. Journal of Medicinal Plants 2013; 2(46): 1-12.
5.Li YJ, Chen J, Li Y, Li Q, Zheng YF, Fu Y, et al. Screeing and haracterization of natural antioxidants in four Glycyrrhiza species by liquid chromatography coupied with electrospary ionization quadrupole time of flight tanden mass spectrometry. J Chromatogr A 2011; 1218(45); 81 - 91.
6.Csuk R, Schwarz S, Kluge R. Synthesis and biological activity of some anti tumora active deraiveties from glycyrrhetic acid. European Journal of Medicinal Chem 2010; 45(57): 18-23.
7.Khayyal MT, Ghazaly MA, Kenawy SA, Seif E, Mahran LG, Kafafi YA, et al. Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination. Arzneimittel-Forschung 2000; 51(7): 545-53.
8.Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S, Nomura T. Anti-Helicobacter pylori flavonoids from licorice extract. Life Sciences 2002; 71(12): 1449-63.
9.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 Research 2009; 23(4): 498-506.
10.Straub RH, Wiest R, Strauch GU, Harle P. The role of the sympathetic nervous system in intestinal inflammation. Gut 2006; 55(11): 1640–49.
11.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.
12.Gharib Naseri MK, Arabian M, 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.
13.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. Physiology and Pharmacology 2014; 18(4): 406-15.
14.Khoshnam SE, Bahaoddini AA, Vatanparast J, Gholampour F, Khosravi AR. TheEffect of hydro-alcoholic extract of glycyrrhizaglabra on electrocardiogram and its interaction with cholinergic system of male wistar rats. YUMSJ 2015; 20(4): 287-97.
15.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 and Pharmacology 2011; 15(3): 385-94.
16.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. Biological and Pharmaceutical Bulletin 2007; 30(1): 145-9.
17.Kao CH, Chu YH, Wang HW. Effects of lidocaine on rat's isolated tracheal smooth muscle. European Archives of Oto Rhino Laryngology 2010; 267(5): 817-20.
18.Revuelta M, Hidalgo A, Cantabrana B. Involvement of cAMP and β-adrenoceptors in the relaxing effect elicited by flavonoids on rat uterine smooth muscle. Journal of Autonomic Pharmacology 1999; 19(6): 353-8.
19.Liu B, Yang J, Wen Q, Li Y. Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, relaxes guinea-pig tracheal smooth muscle in vitro and in vivo: role of cGMP/PKG pathway. European Journal of Pharmacology 2008; 587(1): 257-66.

20.Udia P, Braide V, Owu D. Antispasmodic and spasmolytic effects of methanolic extract from seeds of Garcinia kola on isolated rat small intestine. Nigerian Journal of Physiological Sciences 2009; 24(2): 11-6.
21.Morello S, Vellecco V, Alfieri A, Mascolo N, Cicala C. Vasorelaxant effect of the flavonoid galangin on isolated rat thoracic aorta. Life sciences 2006; 78(8): 825-30.
22.Kim YH, Shin EK, Kim DH, Lee HH, Park JHY, Kim JK. Antiangiogenic effect of licochalcone A. Biochemical Pharmacology 2010; 80(8): 1152-9.
23.Nagai H, Yamamoto Y, Sato Y, Akao T, 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.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

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

Ghayedi N[1], Khoshnam SE[2], Bahaoddini A[1*]

[1]Department of Biology, Shiraz University, Shiraz, Iran, [2]Physiology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Received: 9 Feb 2016 Accepted: 6 May 2016

Abstract:

Back ground & aim: *Glycyrrhiza glabra* (Licorice) is a native medicinal plant of Iran which its rhizome has been traditionally used for treatment of bowel spasm and diarrhea. Accordingly, the present study aimed to determine the effect of the hydro-alcoholic extract of licorice rhizome on mechanical activity of isolated colon of male rats.

Methods: In the present experimental study, the colon tissue of 10 adult male rats were dissected and divided into two groups: experimental and control. Each group consisted of 10 strips of tissue**.** Then, the mechanical activity of tissue strips were recorded by power lab A-D instrument in basal condition, and after administration of phenylephrine and epinephrine and propranolol in the presence and absence of licorice rhizome extract (with effective dose 0.036 mg/ml). Moreover, the mechanical activity of control group strips were recorded at the same condition with extract solvent (ethanol %70). Data were analyzed statistically with using the SPSS software version 19 using Independent-Samples t-test.

Result: The mechanical activity of tissue in presence of extract and epinephrine significantly decreased ($p \leq 0.05$) compared to the control group. While the mechanical activity in the presence of extract and propranolol significantly increased ($p \leq 0.05$) compared to the control group. However, no significant modification was observed in the mechanical activity of the tissue in the presence of phenylephrine and extract compared to the control group.

Conclusion: According to the present study, it could be concluded that hydro-alcoholic extract of licorice maybe has modifying effect on colon motility via synergist effect with beta adrenergic receptors and independent of the alpha adrenergic receptors.

Key words: Licorice, Mechanical activity, colon, Adrenergic

[*]**Corresponding author**: **Bahaoddini A,** Department of Biology, Shiraz University, Shiraz, Iran
Email: bahaodini@shirazu.ac.ir

Please cite this article as follows:
Ghayedi N, Khoshnam SE, Bahaoddini A. 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): 225-237.