

Original Article

Effect of Hydro-Alcoholic Extract of *Glycyrrhiza Glabra* on Experimental Diarrhea in Mice

Ghader Jalilzadeh-Amin^{1*}, Mostafa Mostafavi²

¹ Department of Internal Medicine and Clinical pathology, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

² School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 16 Jul, 2014 Accepted: 16 Sep, 2014

Abstract

Background & Objectives: Diarrhea, characterized by increased defecation of wet stool and abdominal pains, is of great importance in public health and is one of the most common causes of morbidity and mortality in children worldwide. In the present study, the effect of *Glycyrrhiza glabra* as a native medicinal plant on diarrhea was investigated.

Material and Methods: The effect of hydro-alcoholic extract of *G. glabra* (HEGG) on small intestinal transit was studied in overnight fasted mice (23-28 g). The antidiarrheal activity of extract was evaluated against castor oil induced diarrhea. Further, the effect of extract on castor oil-induced intestinal transit, and enteropooling at the different doses (50 - 200 mg/kg) were evaluated. Loperamide was used as the positive control.

Results: HEGG significantly ($p < 0.05$) and dose-dependently reduced small intestinal transit. The plant extracts significantly ($P < 0.05$) delayed the onset of diarrhea in mice. The extracts also showed significant ($P < 0.05$) inhibitor activity against severity of castor oil induced diarrhea and castor oil induced enteropooling in mice when tested at 200 mg/kg. The oral LD₅₀ values obtained were greater than 2240mg/kg in mice.

Conclusion: These findings suggest that the hydro-alcoholic extract of *G. glabra* roots may contain some biologically active ingredients possessing antidiarrhea properties due to inhibition of gastrointestinal propulsion and fluid secretion.

Keywords: Wet stool, *G. glabra*, Intestinal transit, Medicinal plant

*Corresponding author:

E-mail: g.jalilzadeh@urmia.ac.ir

مقاله پژوهشی

اثر عصاره هیدروالکلی شیرین بیان بر اسهال تجربی در موش سوری

قادر جلیل زاده امین^{۱*}، مصطفی مصطفوی^۲

^۱ گروه بیماریهای درونی دامهای بزرگ و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
^۲ دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

دریافت: ۹۳/۴/۲۵ پذیرش: ۹۳/۶/۲۵

چکیده

زمینه و اهداف: اسهال اهمیت زیادی در بهداشت عمومی دارد و با نشانه‌های افزایش دفع مدفوع آبکی و درد شکمی شناخته می‌شود. اسهال معمولترین علت مرگ و میر در بین کودکان در سراسر دنیا می‌باشد. در مطالعه حاضر تاثیر شیرین بیان به عنوان یک گیاه دارویی بومی علیه اسهال بررسی گردیده است.

مواد و روش‌ها: اثر عصاره هیدروالکلی شیرین بیان بر روی عبور روده‌ای در موش‌های سوری با محدوده وزنی ۲۸-۲۳ گرم که شبانه محرومیت غذایی داشتند مطالعه گردید. تاثیر ضد اسهالی عصاره در مقابل اسهال ایجاد شده با روغن کرچک ارزیابی شد. همچنین تاثیر اسانس در برابر عبور روده‌ای و تجمع مواد داخل لومنی القا شده با روغن کرچک در دوزهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. لوپرامید به عنوان داروی کنترل مثبت استفاده شد.

یافته‌ها: دوزهای مختلف عصاره شیرین بیان به شکل وابسته به دوز و معنی‌داری ($p < 0/05$) باعث مهار ترانزیت نرمال در روده‌ها می‌گردد. شیرین بیان بطور معنی‌داری باعث تاخیر در زمان شروع اسهال در حیوانات می‌گردد. عصاره اثر مهاری قابل توجهی را در برابر شدت اسهال و تجمع مواد داخل روده‌ای در دوز ۲۰۰ mg/kg نشان می‌دهد. مقدار در روش خوراکی و در موش سوری بیشتر از ۲۲۴۰ mg/kg بود.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی شیرین بیان حاوی مواد بیولوژیکی فعالی است که اثرات ضد اسهالی را از طریق مهار حرکات جلو برنده معدی-روده‌ای و نیز مهار ترشح نمایان می‌سازند.

کلید واژه‌ها: مدفوع آبکی، شیرین بیان، عبور روده‌ای، گیاهان دارویی

* ایمیل نویسنده رابط: g.jalilzadeh@urmia.ac.ir

مقدمه

مهم محسوب می‌گردند (۲) به طوریکه طبق اعلام سازمان بهداشت جهانی ۸۰ درصد مردم در سراسر دنیا به طریقی از گیاهان دارویی شناخته شده با اهداف بهداشتی و درمانی بهره‌مند می‌شوند (۳). امروزه یکی از علل مشهور مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه، سندرم اسهال در شیرخواران و کودکان است. به طوریکه علی‌رغم پیشرفت‌های زیاد در زمینه تشخیص سریع و درمان این بیماران، هنوز هم اسهال به

از سالیان دور مردم از فرآورده‌های طبیعی و به ویژه از گیاهان به عنوان غذا یا دارو در جهت درمان یا پیشگیری از بیماری‌ها استفاده می‌کردند و تقریباً منشا بیشتر داروهای صناعی امروزی همان مواد طبیعی موجود در گیاهان دارویی می‌باشد (۱). امروزه در کشورهای در حال توسعه طب سنتی نقش مهمی در حفظ سلامت مردم ایفا می‌کند و در این بین گیاهان منبع عمده تامین داروها در زمینه بسیاری از بیماریهای

گردید. با استفاده از حلال الکل اتیلیک ۷۰ درصد عصاره گیری انجام شد. عمل استخراج سه بار تکرار شد و عصاره های بدست آمده بعد از صاف کردن، توسط تقطیر در خلاء و در دمای ۴۰ درجه کاملاً خشک گردید. در طی بررسی برای تهیه غلظت های درمانی، عصاره در نرمال سالین حل می شد. در این مطالعه از موش سوری نژاد BALB/c از جنس نر با وزن بین ۲۳ تا ۲۸ گرم استفاده شد. حیوانات از بخش نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه ارومیه تهیه شدند. به مدت دو هفته جهت انطباق با شرایط جدید و آزمایشگاه در اتاق پرورش و نگهداری موش های سوری در کلینیک تخصصی دامپزشکی تحت شرایط استاندارد با درجه حرارت (۲۰ تا ۳۰ درجه سانتیگراد) چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعت (ساعت شروع روشنایی ۷ و ساعت شروع تاریکی ۱۹) در قفس های پلاستیکی با دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری شدند. کلیه آزمایشات این تحقیق مورد تأیید کمیته اخلاقی استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه بود. زغال فعال از شرکت ترنکا کشور اتریش، اتانول و روغن کرچک (کاستراویل) از شرکت مرک (Merck, Germany) تهیه گردید. آتروپین و لوپرامید به صورت خالص از نمایندگی شرکت سیگما (Sigma Chemical Co, USA) در ارومیه خریداری شد. در این بخش از مطالعه از ۶ گروه سه تایی از موش ها استفاده گردید. بر اساس روش لورک (۱۰) جهت تعیین دامنه دوز سمی برای عصاره هیدروالکلی شیرین بیان در مرحله اول دوزهای ۱۰ و ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان تجویز شد. در مرحله دوم دوزهای ۱۶۰۰، ۲۹۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن استفاده گردید. در هر گروه سه سر حیوان در نظر گرفته شده و سپس با توجه به تلفات مشاهده شده در مرحله دوم بررسی، میزان LD₅₀ محاسبه گردید. تغییرات رفتاری یا نشانه های بالینی و نیز مرگ و میر مشاهده شده ثبت گردید. حیوانات در این بررسی به مدت ۱۴ روز پیچی تحت مراقبت بودند. بر پایه نتایج به دست آمده از این بخش دوزهای درمانی محاسبه گردید. اسهال در موش های سوری با تجویز خوراکی روغن کرچک (کاستر اوپل) به میزان ۰/۲ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ایجاد گردید (۱۱). قبل از شروع آزمایش موش ها به مدت ۱۶ ساعت از غذا خوردن محروم شده بودند ولی در طی این مدت گرسنگی، دسترس آزاد به آب آشامیدنی برای آنها فراهم بود. حیوانات بطور تصادفی به هفت گروه (هر گروه شش سر موش) تقسیم بندی شدند. هر موش در یک قفس پلاستیکی با کف توری قرار گرفتند. در گروه یک، به عنوان گروه شاهد نرمال سالین (حامل عصاره و داروهای کنترل) به میزان ۱۰ ml/kg خوراندند. گروه های دوم تا پنجم به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ mg/kg از عصاره هیدروالکلی و گروه ششم داروی ضد اسهال استاندارد لوپرامید را با دوز ۳ mg/kg دریافت نمودند. در گروه هفتم جهت بررسی مکانیسم عصاره، ابتدا

عنوان یک معضل بزرگ بهداشتی خودنمایی می کند (۴). در ایران نیز اسهال دومین علت مرگ و میر کودکان بعد از عفونتهای تنفسی می باشد. اسهال طولانی مدت باعث دهیدراتاسون شدید می گردد که می تواند برای بچه ها و افراد مسن خیلی خطرناک جلوه کند و به منظور جلوگیری از مشکلات جدی تر باید سریعاً درمان شود. درمان آنتی بیوتیکی فقط علیه برخی از علل باکتریایی و انگلی مولد اسهال موثر است و درمان اصلی اسهال شامل جبران آب و الکترولیت های از دست رفته می باشد. در برخی از انواع اسهال ها افزایش میزان ترشحات و نیز حرکات روده ها به عنوان بخشی از اختلالات دستگاه گوارشی در روند بیماریزایی ایفای نقش می کنند (۵). مطالعات نشان داده است که تعداد زیادی از گیاهان دارویی حرکات روده را مهار کرده و ترشحات آن را کاهش می دهند (۶). شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) که بنام لیکوریک و یا چوب شیرین نیز شناخته شده است، یک گیاه دارویی بومی در نواحی جنوب اروپا، سواحل مدیترانه و نواحی از آسیا و به ویژه ایران به شمار می آید. این گیاه به تیره بقولات Leguminosae و خانواده پروانه آسا Fabaceae تعلق دارد. شیرین بیان یک گیاه پایا و با طعم شیرین است که عامل شیرین بودن ریشه گلیسیریزین Glycyrrhizin می باشد. این ماده حداقل ۵۰ برابر شیرین تر از قند می باشد. ریشه این گیاه علاوه بر گلیسیریزین حاوی فلوونوئیدها، آسپارژین، کولین، آمینواسیدها، گلوکز، سوکروز، نشاسته، پلی ساکاریدها، استروئولها و روغن های فرار است. رایج ترین استفاده این گیاه در درمان اختلالات قسمت فوقانی دستگاه تنفسی همچون رفع سرفه، گرفتگی و خشونت صدا، گلو درد و برونشیت است (۷-۸). شیرین بیان دارای اثرات فارماکولوژیکی بسیار متنوعی می باشد به طوریکه طبق مطالعات مختلف اثرات ضد باکتری، ضد قارچی، آنتی اکسیدانته، ضد سرفه، ضد زخم معده، تاثیرات ضد سرطانی و فعالیت ضد التهابی گزارش شده است (۹). اثر ضد اسهالی گیاهان در تحقیقات زیادی مورد توجه قرار گرفته است (۶)، ولی بر اساس مرور ما در بین منابع علمی موجود، تاکنون تاثیر گیاه شیرین بیان بر روی اسهال مورد بررسی قرار نگرفته است و این گزارش در نوع خود اولین پژوهش در زمینه ارزیابی اثرات ضد اسهالی این گیاه به شمار می آید.

مواد و روش ها

ریشه گیاه شیرین بیان در اواخر فصل بهار ۱۳۹۱ از زمینهای حاصلخیز اطراف ارومیه در استان آذربایجان غربی جمع آوری شد و سپس توسط متخصص گیاهشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه مورد شناسایی قرار گرفت. یک نمونه از گیاه تأیید شده (شماره ۶۰۷۵) در هرباریم نگهداری شد. بعد از شستشوی ریشه ها، آنها در دمای آزمایشگاه خشک گردیدند و سپس توسط دستگاه آسیاب برقی پودر گیاه تهیه

به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ mg/kg از عصاره هیدروالکلی و در گروه ششم داروی آتروپین با دوز ۵ mg/kg استفاده گردید. نیم ساعت بعد از انجام درمانها، به تمامی گروهها ۰/۲ mg/kg از خوراک ذغال (سوسپانسیون ذغال فعال ۱۰٪ با ۵٪ صمغ عربی) خوراندند. سی دقیقه بعد موشها با قطع نخاع گردنی آسان کشتی شدند. شکم موش باز شده کل دستگاه گوارشی بیرون آورده شد. مسیر طی شده توسط ذغال از پیلور تا سکوم اندازه گیری شده و به عنوان درصدی از کل طول روده ثبت گردید. درصد مهار ترانزیت روده ای توسط عصاره و لوپرامید در مقایسه با گروه شاهد با استفاده از فرمول اشاره شده در بالا محاسبه گردید. ابتدا نرمال بودن توزیع دادهها ارزیابی گردید. برای دادههای با توزیع نرمال آزمون آماری آنالیز واریانس (ANOVA) بکار گرفته شد. در صورت مشاهده تفاوت معنی دار در بین دو زوج مقایسه ای، تست دانت (Dunnet's test) برای مقایسه تفاوت بین گروه های با غلظت متفاوت عصاره و گروه شاهد بکار گرفته شد. نتایج آزمایشات به صورت (Mean ± SEM) گزارش گردید. مقدار $P < 0.05$ بین گروههای مورد آزمایش از نظر آماری معنی دار تلقی شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار (SPSS statistic ver.17.0 Inc, Chicago, IL) انجام گرفت.

یافته‌ها

بررسی تغییرات رفتاری، بالینی و نیز مرگ و میر مربوط به اثرات سمی عصاره در دوزهای ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰، ۱۶۰۰، ۲۹۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن انجام گرفت. تمامی موشهای مسموم شده با دوز ۵۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در فاصله زمانی ۳-۲ ساعت بعد از تجویز عصاره تلف شدند. تغییرات رفتاری در این دسته از حیوانات شامل عدم تعادل، کاهش فعالیت حرکتی، عدم تحرک، تنفس سطحی و سریع، زمین گیری جانبی که در نهایت با تشنج دنبال می شد. در موشهای مسموم شده با دوزهای ۱۶۰۰ و ۲۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ترتیب یک و دو مورد مرگ مشاهده گردید. در سایرین نشانههای بالینی همچون کاهش فعالیت، تنفس سطحی، و زمین گیری جانبی دیده شد که البته این نشانهها در همان چند ساعت اول خود به خود از بین رفتند. مقدار LD₅₀ با استفاده از روش لورک به میزان ۲۲۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن محاسبه گردید. بر همین اساس دوزهای درمانی به صورت ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن تعریف گردید. تأثیر عصاره شیرین بیان بر روی حرکات نرمال دستگاه گوارشی در موشهای سوری که ۱۸ ساعت محرومیت غذایی را تجربه کرده بودند، انجام گرفت. نتایج نشان داد که بطور کلی دوزهای مختلف (۲۰۰-۵۰ mg/kg) عصاره شیرین بیان به شکل وابسته به دوز، باعث مهار ترانزیت نرمال در رودهها می گردد (جدول ۳)؛ به طوری که اثر مهارتی مشاهده شده در بالاترین دوز (۲۰۰ mg/kg) در مقایسه گروه

لوپرامید و سپس دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره تجویز گردید. نیم ساعت بعد، هر کدام از موشها ۰/۲ ml/kg از روغن کرچک را به صورت خوراکی دریافت کردند. در ادامه فیلتر زیر قفس حیوانات از نظر وجود مدفوع اسهالی هر ساعت یکبار و به مدت چهار ساعت تحت نظر قرار گرفتند. تعداد مدفوع اسهالی برای هر گروه ثبت گردید. در طی چهار ساعت عدم وجود مدفوع اسهالی نشانه ای از محافظت در برابر اسهال القایی بود. زمان شروع اسهال برای هر کدام از گروهها ثبت شد و نمره اسهال بر اساس قوام مدفوع دفع شده (درجه یک: قوام طبیعی، درجه دو: کمی شل تر از قوام طبیعی (خمیری)، درجه سه: بدون قوام (اسهال شدید) بر اساس روش Dicarlo و همکاران (۱۲) مورد ارزیابی قرار گرفت. همانطور که در روش قبل ذکر گردید قبل از شروع آزمایش موشها به مدت ۱۶ ساعت از غذا خوردن محروم شده بودند ولی در طی این مدت گرسنگی، دسترسی آزاد به آب آشامیدنی داشتند. حیوانات بطور تصادفی به هفت گروه (هر گروه شش سر موش) تقسیم شدند. هر موش در یک قفس پلاستیکی با کف توری قرار گرفتند. در گروه یک، به عنوان گروه شاهد نرمال سالین (حامل عصاره و داروهای کنترل) به میزان ۱۰ ml/kg خوراندند. گروههای دوم تا پنجم به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ mg/kg از عصاره هیدروالکلی و گروه ششم داروی ضد اسهال استاندارد لوپرامید را با دوز ۳ mg/kg دریافت نمودند. در گروه هفتم جهت بررسی مکانیسم عصاره، ابتدا لوپرامید و سپس دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره تجویز گردید. بلافاصله هر کدام از موشها ۰/۲ ml/kg از روغن کرچک را به صورت خوراکی دریافت کردند. نیم ساعت بعد از انجام درمانها، به تمامی گروهها ۰/۲ mg/kg از سوسپانسیون ذغال فعال ۱۰٪ (حل شده در نرمال سالین) خوراندند. چهل دقیقه بعد موشها با اثر بیهوش شده و با قطع نخاع گردنی آسان کشتی شدند. شکم موش باز شده کل روده ها بعد لیگاتور کردن ناحیه پیلور و سکوم بیرون آورده شد. مسیر طی شده توسط ذغال از پیلور تا سکوم اندازه گیری شده و به عنوان درصدی از کل طول روده ثبت گردید. وزن کلی رودهها اندازه گیری شده و بعد از تخلیه محتویات آن دوباره وزن آن یادداشت گردید (۱۲). درصد مهار ترانزیت روده ای توسط عصاره و لوپرامید در مقایسه با گروه شاهد با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد مهار ترانزیت} = [T_0 - T_1/T_0] \times 100$$

T₀ نشان دهنده مسیر طی شده توسط ذغال در گروه شاهد و T₁ میانگین مسیر طی شده با ذغال در گروههای درمانی میباشد. روش مورد استفاده در این آزمایش توسط Rao و همکاران (۱۳) توصیف شده است. دسته دیگری از موشها به طور تصادفی به شش گروه شش تایی تقسیم شدند. حیوانات به مدت ۱۶ ساعت محرومیت غذایی داشتند. در گروه شاهد نرمال سالین به میزان ۱۰ ml/kg و در گروههای دوم تا پنجم

کننده شیرین بیان و یا لوپرامید نشان نمی‌دهد (جدول ۲). در ساعت اول در گروه‌های درمان شده با لوپرامید و عصاره هیچ مدفوعی دفع نگردید. شمارش تعداد فضله‌های دفع شده در طی سه ساعت بعدی، تغییر معنی‌داری ($p < 0.05$) را در بین گروه شاهد و گروه‌های تیمار نشان نداد هر چند ظاهراً در گروه‌های تحت درمان تعداد مدفوع کمتری دفع گردیده است (جدول ۲).

عصاره شیرین بیان در دوزهای مختلف هیچ نوع تاثیری بر حرکات آشفته شده روده‌ها در بعد از اسهال القا شده با روغن کرچک نشان نمی‌دهد. ولی اثر مهار داری استاندارد ضد اسهال یعنی لوپرامید در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). اندازه‌گیری وزن محتویات داخل روده‌ها در اثر اسهال القا شده با روغن کرچک، کاهش محسوسی را در گروه‌های تیمار شده با عصاره نشان می‌دهد اما این تاثیر در دوزهای پایین از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۳). در برابر گروه شاهد، میزان کاهش مواد داخل لومن روده‌ها فقط در گروه‌های دریافت‌کننده لوپرامید و نیز موش‌های تیمار شده با بالاترین دوز عصاره 200 mg/kg معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$).

شاهد به لحاظ آماری معنی‌دار ($p < 0.05$) بود. آتروپین به عنوان داروی کنترل مثبت میزان مهار معنی‌داری ($p < 0.05$) را در مقایسه با گروه شاهد ایجاد می‌کند، البته اثر مهار دوز 200 mg/kg شیرین بیان بر روی حرکات روده‌ای، بیشتر از اثر مهار آتروپین می‌باشد (جدول ۱).

در تمامی گروه‌های که لوپرامید و دوزهای متفاوت عصاره دریافت کرده بودند در طی ساعت اول مدفوع اسهالی مشاهده نشد. بنابراین لوپرامید و عصاره شیرین بیان بطور معنی‌داری ($p < 0.05$) زمان وقوع و شروع اسهال را به تاخیر می‌اندازند. نتایج نشان داد که دوره زمانی محافظت در برابر اسهال القایی در گروه دریافت‌کننده عصاره 100 mg/kg همراه با داروی لوپرامید ($7/63 \pm 105/00$ دقیقه) نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده عصاره $3/17 \pm 73/66$ دقیقه) و یا لوپرامید ($2/90 \pm 94/66$ دقیقه) به تنهایی به مراتب بیشتر بود یعنی فعالیت عصاره در همراهی با لوپرامید افزایش می‌یابد (جدول ۲). اسهال شدیدتری در گروه شاهد فقط در ساعت اول بررسی در مقایسه با سایر گروه‌ها ایجاد گردید. اما بررسی درجه اسهال ایجاد شده در موش‌ها در ساعات بعدی، تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) را در بین گروه شاهد و گروه دریافت-

جدول ۱: تاثیر عصاره هیدروالکلی شیرین بیان بر روی عبور معدی - روده ای یک وعده خوراک ذغال در موش

تیمار	دوز خوراکی (میلی گرم بر کیلوگرم)	تعداد حیوان	پیشرفت ذغال (%)	میزان مهار (%)
کنترل (نرمال سالین)	-	۶	$84/29 \pm 4/02$	-
شیرین بیان	۵۰	۶	$72/41 \pm 2/76$	$14/09$
شیرین بیان	۱۰۰	۶	$68/90 \pm 7/93$	$18/12$
شیرین بیان	۱۵۰	۶	$4/19 \pm 67/50$	$19/91$
شیرین بیان	۲۰۰	۶	$59/36 \pm 8/63$	$29/55$
آتروپین	۵	۶	$61/39 \pm 1/15$	$27/16$

نتایج آزمایشات به صورت (Mean \pm SEM) گزارش گردیده است.

* مقدار $P < 0.05$ بین گروه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه کنترل، از نظر آماری معنی‌دار تلقی شده است.

جدول ۲: تاثیر عصاره هیدروالکلی شیرین بیان بر روی درجه اسهال و تعداد پلیت‌های مدفوعی ایجاد شده در اسهال القایی با روغن کرچک در موش

تیمار	دوز خوراکی (mg/kg)	تعداد حیوان	زمان شروع اسهال (دقیقه)		ساعت اول		ساعت دوم		ساعت سوم	
			درجه	تعداد	درجه	تعداد	درجه	تعداد	درجه	تعداد
کنترل	10 ± 230	۶	$34/00 \pm 2/33$	$3/00 \pm 0/57$	$2/66 \pm 0/33$	$2/33 \pm 0/88$	$2/33 \pm 0/33$	$2/00 \pm 0/00$	$1/33 \pm 0/33$	$2/00 \pm 0/57$
شیرین بیان	200 ± 233	۶	$84/33 \pm 2/33$	*	$5/00 \pm 1/00$	*	$5/00 \pm 1/00$	$2/66 \pm 0/33$	$1/00 \pm 0/57$	$1/66 \pm 0/66$
شیرین بیان	150 ± 133	۶	$77/66 \pm 1/33$	*	*	$5/66 \pm 0/33$	*	$3/00 \pm 0/00$	$1/33 \pm 0/33$	$2/66 \pm 0/33$
شیرین بیان	100 ± 317	۶	$73/66 \pm 3/17$	*	*	$4/66 \pm 0/66$	*	$2/00 \pm 0/00$	$2/66 \pm 0/88$	$1/66 \pm 0/33$
لوپرامید	$290 \pm 94/66$	۶	$290 \pm 94/66$	*	*	$2/00 \pm 0/57$	*	$2/00 \pm 0/57$	$5/33 \pm 1/20$	$2/33 \pm 0/88$
شیرین بیان + لوپرامید	100 ± 763	۶	$105/00 \pm 7/63$	*	*	$4/33 \pm 0/88$	*	$4/33 \pm 0/88$	$1/66 \pm 0/33$	$1/66 \pm 0/33$

نتایج آزمایشات به صورت (Mean \pm SEM) درجه اسهال و تعداد پلیت‌های مدفوعی (فضله) گزارش گردیده است.

* مقدار $P < 0.05$ بین گروه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه کنترل، از نظر آماری معنی‌دار تلقی شده است.

جدول ۳: تاثیر عصاره هیدروالکلی شیرین بیان و لوپرامید بر روی مایعات تجمع یافته و عبور خوراک ذغال در روده‌ها در اسهال القایی با روغن کرچک در موش

تیمار خوراکی	دوز خوراکی (mg/kg)	تعداد حیوان	عبور روده ای مواد (cm)	میزان مهار (%)	وزن محتویات روده‌ای (g)	میزان مهار (%)
کنترل (نرمال سالین)	۱۰	۶	$95/83 \pm 4/16$	-	$0/56 \pm 0/06$	-
شیرین بیان	۲۰۰	۶	$86/38 \pm 4/08$	$9/88$	$0/23 \pm 0/05$	$58/92$
شیرین بیان	۱۵۰	۶	$96/47 \pm 4/49$	۰	$0/31 \pm 0/07$	$44/64$
شیرین بیان	۱۰۰	۶	$94/50 \pm 3/68$	$1/38$	$0/33 \pm 0/08$	$41/07$
لوپرامید	۳	۶	$57/57 \pm 0/98$	$39/92$	$0/23 \pm 0/03$	$58/92$
لوپرامید + شیرین بیان	$100 \pm 9/83$	۶	$62/35 \pm 9/83$	$34/93$	$0/45 \pm 0/07$	$19/64$

نتایج آزمایشات به صورت (Mean \pm SEM) فاصله طی شده توسط ذغال در داخل روده‌ها بر حسب سانتی‌متر و محتویات تجمع یافته در روده‌ها بر حسب گرم گزارش گردیده است.

* مقدار $P < 0.05$ بین گروه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه کنترل، از نظر آماری معنی‌دار تلقی شده است.

بحث

استفاده از گیاهان دارویی و مکمل‌های غذایی در راستای درمان و پیشگیری از اختلالات گوارشی از دیر باز در بین مردم دنیا مورد توجه بوده است. در حال حاضر نیز به علت عوارض جانبی و نامطلوب داروهای شیمیایی، این منابع دارویی گیاهی به دلایل داشتن اثرات مطلوب، عوارض کمتر و ارزان بودن اهمیت پیدا کرده‌اند. در بررسی مسمومیت حاد در موش سوری LD₅₀ عصاره شیرین بیان به میزان ۲۲۴۰ تعیین گردید که بر اساس دسته‌بندی Morrison و همکاران (۱۴) موادی که میزان LD₅₀ آنها ما بین ۵۰۰۰-۵۰۰ mg/kg باشد آنها را جزء مواد کمتر سمی طبقه‌بندی می‌کنند. بنابراین عصاره هیدروالکلی شیرین بیان به شکل خوراکی در موش سوری غیر سمی گزارش می‌گردد، از آنجاییکه مطالعه مشابهی وجود ندارد نمی‌توان بطور دقیق این نتایج را مقایسه کرد. گزارشات علمی بر روی اثرات سمی و LD₅₀ دیگر عصاره‌های شیرین بیان و ملح‌های گلیسیریزین موجود می‌باشد که با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۵). البته غلظت‌هایی از عصاره که در این بررسی اثرات ضد اسهالی نشان می‌دهد به مراتب خیلی کمتر از مقدار تعیین شده برای LD₅₀ بوده و به عبارت دیگر در محدوده سمی قرار نمی‌گیرد. مهمترین اثر جانبی گزارش شده در مورد استفاده طولانی مدت از ریشه شیرین بیان، افزایش فشارخون می‌باشد که به دلیل تاثیر آن بر روی سیستم رنین-آنژیوتانسین اتفاق می‌افتد. ساپونین موجود با اتصال به گیرنده‌های مینرالو کورتیکوئیدها قادر به تقویت عمل آلدسترون بوده که منجر به از دست دادن شدید پتاسیم، احتباس سدیم و ادم خواهد شد. این نشانه‌ها با قطع مصرف برطرف می‌شوند. بیشتر مطالعات اثرات جانبی را در حین انجام بررسی‌ها گزارش نکرده‌اند (۱۶ و ۱۷). بر اساس نتایج مطالعه حاضر، دوزهای مختلف عصاره شیرین بیان به شکل وابسته به دوز باعث مهار ترانزیت نرمال در روده‌ها می‌گردد. شیرین بیان همانند استاندارد ضد اسهال لوبرامید، باعث محافظت حیوانات در برابر اسهال می‌گردد. همراهی لوبرامید با عصاره محافظت طولانی مدتی را ایجاد می‌نماید. عصاره گیاهی بطور معنی‌داری قادر به مهار کامل پارامترهای اسهال در یک ساعت اول بوده و کاهش محسوسی را در وزن محتویات تجمع یافته در داخل روده‌ها نشان می‌دهد. از طرفی به صورت علمی تایید کننده مطالبی است که در منابع طب سنتی در مورد اثربخش بودن این گیاه در مرتفع کردن آلام گوارشی ذکر گردیده است (۸). گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن تانین‌ها، آلکالوئیدها، ساپونین، فلاونوئیدها، استروئیدها و یا ترپنوئیدها فعالیت ضد اسهالی نشان می‌دهند (۱۸). در عصاره شیرین بیان ترکیبات مهم فارماکولوژیک از جمله فلاونوئیدها شناسایی شده‌اند که می‌توان بخشی از اثرات مشاهده شده بر روی حرکات و ترشحات روده‌ای را به این ترکیبات نسبت داد چرا که تعداد زیادی از فلاونوئیدها وجود دارند که به همان صورت که در شرایط برون زیستی (In

vitro) انقباضات خودبخودی و انقباضات القا شده با آگونیست‌ها را بر روی قسمت‌های مختلف دستگاه گوارشی مهار می‌سازند (۱۹) می‌توانند بطور درون زیستی (*In vivo*) نیز باعث کاهش حرکات روده‌ای و ترشحات آن بشوند (۱۲ و ۶). ایزولیکویریتیگنین Isoliquiritigenin فلاونوئیدی است که از *Glycyrrhiza uralensis* جدا گردیده است و باعث ایجاد شلی در روده‌ها می‌گردد (۲۰). اخیراً در مطالعه‌ای توسط Chen و همکاران (۲۱) ایزولیکویریتیگنین جدا شده از شیرین بیان *Glycyrrhiza glabra* بر روی دستگاه گوارش موش سوری، موش صحرائی، خرگوش و خوکچه هندی ارزیابی گردیده است. آنها نشان دادند که ایزولیکویریتیگنین دو نوع اثر متضاد به نمایش می‌گذارد به طوری که در دوزهای بالاتر از طریق گیرنده‌های موسکارینی اثر اسپاسموژنیک نشان می‌دهد که می‌تواند اثرات پروکینتیک مشاهده شده بر روی حیوان زنده را توجیه نماید. و در دوزهای پایین اثرات اسپاسمولیتیک از طریق مهار کانالهای کلسیمی ایجاد می‌گردد. برای توجیه اثرات دوگانه ایزولیکویریتیگنین نظر بر این است که در بافت‌های روده‌ای اثرات ریلکسیشن بیشتر در دوزهای خیلی پایین‌تر از مقدار مورد نیاز برای تحریک معده ظاهر می‌گردد بنابراین تاثیر مهاری نمایان می‌شود. با وجود این در غلظت‌های بالاتر تحریک ایجاد شده با ایزولیکویریتیگنین در فوندوس معده خیلی سریع افزایش یافته و غالب می‌گردد و این در حالی است که ریلکسیشن در روده‌ها زیاد افزایش پیدا نمی‌کند. بنابراین در دوزهای بالاتر اثر پروکینتیک معده بر اثرات مهاری غالب شده و نمایان می‌گردد (۲۱). یافته‌های برخی از تحقیقات بیانگر اثرات شل‌کنندگی عصاره شیرین بیان بر عضلات صاف عروق همچون آئورت می‌باشد. در واقع ایزولیکویریتیگنین از ترکیبات فعال ریشه شیرین بیان از طریق فعال کردن گوانیلات سیکلاز حلقوی موجب شل شدن عضلات صاف عروق می‌گردد (۲۲) و چنین تاثیری بر روی عروق یا از طریق سینرژیستی با سیستم کولینرژیک بوده و یا از طریق مهار گیرنده‌های آدرنرژیک بر عضلات صاف ظاهر می‌گردد (۲۳). بر اساس منابع علمی، مکانیسم‌های مختلفی در ایجاد شلی در عضلات صاف و کاهش حرکات نقش دارند که شامل حضور مواد آنتی کولینرژیک، مواد آنتی هیستامینی یا از طریق واسطه‌های مهاری مثل مواد آدرنرژیک، پورینرژیک و یا با تقلید اثرات مشابه نیتریک اکسید می‌باشند. بنابراین با توجه به مطالب ذکر شده احتمالاً یک یا ترکیبی از مکانیسم‌های اشاره شده در بروز اثرات عصاره شیرین بیان دخیل بوده است (۲۴). تحریک گیرنده‌های کولینرژیک دستگاه گوارش از طریق افزایش حرکات باعث اسهال می‌گردند (۵) در این مطالعه مشخص گردید که عصاره از طریق کاهش حرکات روده‌ای مانع از وقوع اسهال می‌گردد. داروی لوبرامید که آگونیست گیرنده‌های μ اوپیوئیدی می‌باشد با تاثیر بر شبکه عصبی روده تون عضلات صاف را کاهش می‌دهد در نتیجه فعالیت حرکتی روده را کند کرده و میزان دفع آب و نمک‌های

عملکرد سیکلوآکسیژناز و تولید پروستاگلاندین را مهار می‌کند (۲۶). دیگر ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره نیز از طریق مهار آزادسازی اتوکوئیدها و پروستاگلاندین‌ها می‌توانند افزایش حرکات و افزایش ترشحات ایجاد شده توسط روغن کرچک را سرکوب نمایند (۲۷).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مشخص گردید که عصاره هیدروالکلی ریشه شیرین بیان از طریق عملکرد ضد ترشحاتی و یا مهار حرکات روده ای باعث محافظت در برابر اسهال گردیده است و می‌تواند تاییدی علمی برای استفاده سنتی از این گیاه در جهت برطرف نمودن مشکلات گوارشی باشد.

تقدیر و تشکر

از همکاری دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه که با حمایت‌های مالی ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند قدردانی می‌شود.

بدن را کاهش می‌دهد. چون عصاره در همراهی با لوپرامید اثر مهارى طولانى‌ترى نشان می‌دهد. بنابراین تاثیر عصاره از طریق سایر گیرنده‌ها صورت می‌گیرد. روغن کرچک با ممانعت از جذب آب و الکتروولیت‌ها از دیواره روده‌ها باعث افزایش محتویات و نیز افزایش حرکات گوارشی می‌گردد (۲۵). چون عصاره شیرین بیان باعث به تاخیر انداختن زمان عبور مواد از روده ها می‌شود بنابراین می‌تواند در بازجذب بیشتر آب و الکتروولیت نقش داشته و در نتیجه مانع از بروز اسهال در موش‌ها گردد که یکی از مکانیسم‌های محافظتی عصاره گیاه می‌تواند باشد. مکانیسم دیگر برای ایجاد اسهال توسط روغن کرچک از طریق رهاسازی اسید ریسینولیک و تخریب موضعی و ایجاد التهاب روده می‌باشد که پروستاگلاندین‌ها را آزاد می‌سازد و در نتیجه موجب افزایش ترشح آب و الکتروولیت‌های روده کوچک می‌شود (۱۳). روی همین اصل تاثیر برخی از گیاهان به عنوان درمان ضد اسهال، از طریق مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها اعمال می‌گردد. مواد موجود در شیرین بیان از طریق مهار فسفولیپاز A₂ فعالیت ضد التهابی نشان می‌دهند به عنوان مثال اسید گلیسیریزینیک

References

- Clark AM. Natural products as a source for new drugs. *Pharm Res* 1996; **13**(8): 1133-1144.
- Kartal M. Intellectual property protection in the natural product drug discovery, traditional herbal medicine and herbal medicinal products. *Phytother Res* 2007; **21**(2): 113-119.
- WHO. *Promoting the role of traditional medicine in health systems: A strategy for the African Region*. WHO Regional Office for Africa, Harare, 2001.
- Black RE, Brown KH, Becker S, Yunus M. Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural area of Bangladesh: patterns of morbidity. *Am J Epidemiol* 1982; **115**(3): 305-314.
- Yegnanarayan R, Shrotri DS. Comparison of antidiarrheal activity of some drugs in experimental diarrhea. *Ind J Pharmacol* 1982; **14**(4): 293-299.
- Palombo EA. Phytochemicals from traditional medicinal plants used in the treatment of diarrhoea: modes of action and effects on intestinal function. *Phytother Res* 2006; **20**(9): 717-724.
- Fenwick GR, Lutomski J, Nieman C. Liquorice, *Glycyrrhiza glabra* L.- Composition, uses and analysis. *Food Chem* 1990; **38**(2):119-143.
- Zargari A. *Medicinal Plants*. 5th ed. Tehran, Tehran University Press, 1990; PP: 647-653.
- Nassiri M, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. and its bioactive compounds. *Phytother Res* 2008; **22**(6): 709-724.
- Lorke D. A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch Toxicol* 1983; **54**(4): 275-287.
- Izzo AA, Nicoletti M, Giannattasio B, Capasso F. Antidiarrhoeal activity of *Terminalia sericea* Burch ex. DC extracts. In: Natural Drugs and the Digestive Tract. (Capasso F, Mascolo N, eds.). EMSI Rome, 1992; PP: 223-230.
- Dicarlo GD, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F, Autore G. Effects of quercetin on gastrointestinal tract in rats and mice. *Phytother Res* 1994; **8**(1): 42-45.
- Rao VSN, Santos FA, Sobreira TT, Souza MF, Melo CL, Silveira ER. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. *Planta Med* 1997; **63**(2): 146-149.
- Morrison J, Quilton R, Reinert H. The purpose and value of LD₅₀ determinations. In: Modern trends in toxicology. (Boyland E, Goulding R, eds.). Butterworths, London, 1968; PP: 1-17.

15. Isbrucker RA, Burdock GA. Risk and safety assessment on the consumption of licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regul Toxicol Pharmacol* 2006; **46**(3): 167-192.
16. Tsubota A, Kumada H, Arase Y, Chayama K, Saitoh S, Ikeda K, et.al. Combined ursodeoxycholic acid and glycyrrhizin therapy for chronic hepatitis C virus infection: a randomized controlled trial in 170 patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; **11**(10): 1077-1083.
17. Iino S, Tango T, Matsushima T, Toda G, Miyake K, Hino K, et.al. Therapeutic effects of stronger neo-minophagen C at different doses on chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Hepatol Res* 2001; **19**(1): 31-40.
18. Havagiray R, Ramesh C, Sadhna K. Study of antidiarrhoeal activity of *Calotropis gigantea* r.br. in experimental animals. *J Pharmacol Pharm Sci* 2004; **7**(1): 70-75.
19. Capasso R, Borrelli F, Aviello G, Capasso F, Izzo AA. Inhibitory effect of the herbal antidepressant St. John's wort (*Hypericum perforatum*) on rat gastric motility. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2008; **376**(6): 407-414.
20. Sato Y, He JX, Nagai H, Tani T, Akao T. Isoliquiritigenin, one of the antispasmodic principles of *Glycyrrhiza uralensis* roots, acts in the lower part of intestine. *Biol Pharm Bull* 2007; **30**(2): 145-149.
21. 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. *Phytother Res* 2009; **23**(4): 498-506.
22. Yu SM, Kuo SC. Vasorelaxant effect of isoliquiritigenin, a novel soluble guanylatecyclase activator, in rat aorta. *Br J Pharmacol* 1995; **114**(8): 1587-1594.
23. Khoshnam SE, AA Bahaoddini. 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): 349-358 (Persian).
24. Jalilzadeh-Amin G, Nabizadeh H, Maham M. Inhibitory effect of *Bunium persicum* Boiss essential oil on castor-oil induced diarrhea. *J Kerman Uni Med Sci* 2014; **21**(2): 139-150 (Persian).
25. Bimelsh K, Kalyani D, Prashant T, Manoj S, Diwakar G. Evaluation of antidiarrheal effect aqueous and ethanolic extracts of fruit pulp of *Terminalia belerica* in rats. *Int J Drug Dev Res* 2010; **2**(4): 769-779.
26. Okimasu E, Moromizato Y, Watanabe S, Sasaki J, Shiraishi N, Morimoto YM, et.al. Inhibition of phospholipase A2 and platelet aggregation by glycyrrhizin, an antiinflammation drug. *Acta Med Okayama* 1983; **37**(5): 385-391.
27. Hasa R, Hossain M, Akter R, Jamila M, Mazumder MEH, Islam I, et.al. Antitoxicant, antidiarrheal and cytotoxic properties of *Punica granatum* Linn. *Latin Am J Pharmacol* 2009; **28**(5): 783-788.