

اثر ضد انقباضی عصاره آبی الکی برگ شیرین بیان بر انقباضات ایلنوم موش صحرایی

دکتر محمد کاظم غریب نصری*^۱، مائده عربیان**^۲، زهرا غریب نصری***^۳

*دانشیار گروه فیزیولوژی- دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، **دانشجوی کارشناسی ارشد گروه فیزیولوژی- دانشگاه علوم پزشکی جندی

شاپور اهواز، ***دانشجوی دکتری رشته داروسازی- دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.

تاریخ دریافت: ۱۶/۱/۱۹ تاریخ تایید: ۱۶/۷/۲

چکیده:

زمینه و هدف: شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) گیاهی است که مطالعات فراوانی در مورد خواص و ترکیبات ریزوم آن انجام شده ولی خواص برگ شیرین بیان کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. هدف این تحقیق تعیین اثر عصاره آبی الکی برگ شیرین بیان بر انقباضات ایلنوم موش صحرایی می باشد.

روش بررسی: در یک مطالعه تجربی، بخش انتهایی ایلنوم موش صحرایی نر نژاد ویستار تحت یک گرم کشش توسط ۶۰ میلی مول (mM) کلرور پتاسیم و یا ۱۰ میکرومول (μM) کارباکول منقبض و اثر غلظت های تجمعی عصاره آبی الکی برگ شیرین بیان (۶۲۵٪ تا ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر) بر انقباضات ایجاد شده مورد بررسی قرار گرفت. قطعات جدید ایلنوم به ترتیب در پروپرانولول ($1\mu\text{M}$)، نالوکسون ($1\mu\text{M}$)، مهار کننده نیتریک اکساید سینتاز ($100\mu\text{M}$ L-NAME)، گلی بن کلامید ($10\mu\text{M}$) و تترا اتیل آمونیوم (1mM) به صورت جداگانه اینکوبه و انقباض بافت و عملکرد ضد انقباضی عصاره ثبت شد. داده ها با استفاده از آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و دو طرفه و آزمون تعقیبی LSD تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: غلظت های تجمعی عصاره، انقباضات ناشی از کلرورپتاسیم و کارباکول را بصورت وابسته به غلظت کاهش داد ($P<0/001$). اینکوبه کردن بافت با پروپرانولول، نالوکسون، L-NAME و تترا اتیل آمونیوم تاثیر ضد انقباضی عصاره را کاهش ندادند. ولی گلی بن کلامید سبب کاهش اثر ضد انقباضی عصاره ($0/125\text{ mg/ml}$) گردید. در محلول تایرود فاقد کلسیم با پتاسیم بالا (60 mM)، غلظت های تجمعی کلرورکلسیم (0/5 تا 8 mM) ایلنوم را منقبض کرد و عصاره (0/156 تا 0/625 mg/ml) این انقباضات را کاهش داد ($P<0/001$).

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می رسد عصاره آبی الکی برگ شیرین بیان بدون دخالت رسپتورهای بتا آدرنژیک، اویپوئیدی و نیتریک اکساید سینتاز سبب مهار انقباض ایلنوم گردید. بخش عمده این اثر مهار با دخالت کانال های کلسیمی و احتمالاً بخشی کوچکی از آن نتیجه فعال شدن کانال های پتاسیمی وابسته به ATP باشد.

واژه های کلیدی: ایلنوم، برگ شیرین بیان، ضد انقباض، موش صحرایی.

مقدمه:

قرن هاست که فرآورده ای طبیعی بعنوان دارو مصرف شده و منشاء اولیه حدود نیمی از داروها نیز مواد طبیعی هستند (۳). در کشورهای در حال توسعه که طب سنتی نقش مهمی در حفظ سلامت مردم دارد، گیاهان منبع عمده تامین داروها می باشند (۴). کشور ایران نیز با

اسهال همچنان یکی از علل مهم مرگ و میر خصوصاً کودکان در کشورهای در حال توسعه می باشد (۱) و بعضی از انواع اسهال نتیجه افزایش حرکات روده است (۲). امروزه بیشتر مردم به استفاده از فرآورده های طبیعی جهت درمان اختلالات گوارشی روی آورده اند.

عصاره گیری از آن در مقایسه با ریزوم این گیاه، این مطالعه با هدف بررسی اثرات ضد انقباضی عصاره آبی الکلی برگ گیاه شیرین بیان بر ایلتوم موش صحرایی می باشد.

روش بررسی:

حیوانات: در این مطالعه تجربی، موشهای صحرایی نر از نژاد ویستار (168/7±6/4g) از مرکز تحقیقات و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و در شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و در دمای ۲۰ تا ۲۴°C نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موشها ۲۴ ساعت قبل از آزمایش از غذا محروم شده ولی دسترسی به آب داشتند.

عصاره گیری: گیاه شیرین بیان در پاییز ۱۳۸۵ از محوطه دانشگاه شهید چمران اهواز جمع آوری و توسط متخصص فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی اهواز مورد شناسایی علمی قرار گرفت و با شماره A06204001P در هرباریوم آن دانشکده نگهداری شد. برگها در سایه خشک و سپس آسیاب شدند. پودر برگ به نسبت ۵ درصد با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق خیسانده شد. پس از صاف کردن، حلال در فور ۳۷ تا ۴۰°C تبخیر و پودر عصاره به نسبت ۹ درصد از پودر برگ بدست آمد و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

مواد: کارباکول، پروپرانولول، L-NAME، گلی بن کلامید و تترا اتیل آمونیوم از شرکت سیگما (آمریکا)، نالوکسون از شرکت تولید دارو و سایر نمک ها از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند. به منظور جلوگیری از تغییر ترکیب الکترولیتی محلول حمام، همه ترکیبات و عصاره در محلول تایرود حل شدند. مجموع حجم محلول های اضافه شده به حمام کمتر از ۵ درصد حجم حمام بود.

داشتن اقلیم های متنوع محل رویش گونه های مختلفی از گیاهان بوده که بعضاً خواص آنها در منابع طب سنتی ایران ذکر شده است. از طرف دیگر با توجه به عوارض ناخواسته داروهای صنعتی ضروریست در زمینه تعیین خواص فارماکولوژیک گیاهان کشور تحقیق علمی انجام گردد.

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) از خانواده پروانه آسا گیاهی علفی است که ریزوم آن مصرف درمانی داشته و سابقه این مصرف به چند هزار سال قبل باز می گردد (۵). شیرین بیان یکی از معدود گیاهانی می باشد که مطالعاتی بسیار گسترده در مورد ترکیبات و خواص آنها انجام شده است. از شناخته ترین خواص درمانی ریزوم شیرین بیان مصرف آن در درمان زخم معده بوده (۶) و فلاونوئیدهای آن ضد هلیکوباکتر پیلوری هستند (۷). از دیگر خواص آن خاصیت آنتی موتاژنیک (۸)، آنتی اکسیدان (۹)، کاهنده کورتیزول و آلدوسترون (۱۰)، مهار کننده ترومبین (۱۱) و افزایشده صفر (۱۲) می باشد. شیرین بیان پرنوشی و پرخوری را کاهش داده ولی قند خون را کاهش نمی دهد (۱۳). ماده glyderinine شیرین بیان ضد تب، ضد التهاب و کاهنده نفوذپذیری عروق است (۱۴). شیرین بیان همچنین سبب کاهش کلسترول شده (۱۵)، خاصیت ضد افسردگی داشته (۱۶) و حافظه را تقویت می کند (۱۷، ۱۸). تاکنون عمده تحقیقات، مربوط به خواص ریزوم و ترکیبات آن بوده و به خواص برگ آن کمتر توجه گردیده است. برگ شیرین بیان دارای روتین و ایزو کوئرستین بوده (۱۹) و dihydrostilbenes آن خاصیت آنتی اکسیدانی دارد (۲۰). تاکنون در مورد خواص برگ آن بر فعالیت انقباضی عضله صاف تحقیقی انجام نشده و از طرف دیگر یکی از اهداف محققین یافتن گیاهان و یا ترکیبات با تاثیر کاهنده بر حرکات روده می باشد که افزایش آن از علل بروز اسهال است (۲). لذا با توجه به سهولت جمع آوری برگ و

وابسته به کلسیم (تترا اتیل آمونیوم، ۱mM) اینکوبه شدند (۲۱) و تاثیر غلظت های تجمعی عصاره بر انقباض ناشی از کارباکول (۱۰μM) بررسی گردیدند. همچنین، در محلول تایرود فاقد کلسیم ولی با کلرور پتاسیم زیاد (۶۰mM)، با اضافه کردن غلظت های تجمعی کلرور کلسیم (۵/۰ تا ۸mM) ایلنوم منقبض شد و همین مراحل پس از اینکوبه کردن بافت (۳ دقیقه) با یک غلظت معین عصاره تکرار گردید. هر بافت فقط مورد تاثیر یک ماده محرک و یک ماده مهار کننده یا آنتاگونیست قرار می گرفت.

آنالیز آماری: انقباض ناشی از کلرورپتاسیم و کارباکول به عنوان ۱۰۰ درصد تلقی شد و تغییرات درصد انقباض ناشی از عصاره محاسبه شد. نتایج گروه های مختلف با استفاده از آزمون های ANOVA یک طرفه و دو طرفه و نیز با استفاده از آزمون تعقیبی LSD مقایسه شدند.

یافته ها:

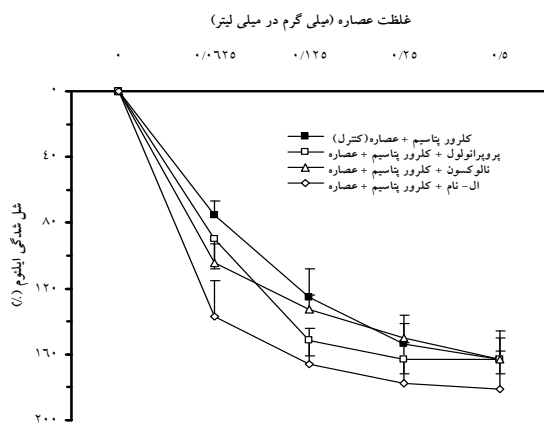
الف- تاثیر غلظت های تجمعی عصاره برگ شیرین بیان بر انقباض ناشی از کلرور پتاسیم و کارباکول

غلظت های تجمعی عصاره برگ شیرین بیان به صورت وابسته به غلظت انقباضی ناشی از کلرورپتاسیم (۶۰mM n=۸) و کارباکول (۱۰μM n=۹) را کاهش می دهد ($P<0/001$). مقایسه آماری این دو اثر با آزمون ANOVA دوطرفه نشان می دهد که تاثیر ضد انقباضی عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم قوی تر می باشد ($P<0/001$) (نمودار شماره ۱).

ب- عملکرد مهارنده نیتریک اکساید سینتاز (L-NAME، حضور پروپرانولول، نالوکسون و یا L-NAME

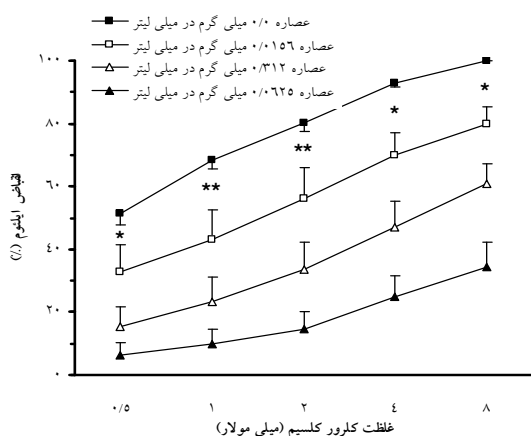
اینکوبه کردن ایلنوم با پروپرانولول (۱μM n=۸) و یا نالوکسون (۱μM n=۷) عملکرد ضد انقباضی عصاره را تغییر نداد ($P>0/05$). مهار سنتز نیتریک اکساید به وسیله L-NAME (۱۰۰μM n=۱۰) عملکرد ضد انقباضی عصاره

آماده سازی ایلنوم و روش کار: در روز آزمایش با رعایت کلیه مسائل اخلاقی کار با حیوانات، موش با زدن ضربه به پشت سر کشته شده و از انتهای ایلنوم (به جز ۲cm آخر) یک قطعه به طول ۲cm جدا نموده در داخل حمام بافت حاوی محلول تایرود (۱۰ml، ۳۷°C، pHV/۴) بین دو قلاب استیل زنگ نزن بصورت عمودی قرار داده می شد. قلاب پایین در ته حمام ثابت بود و قلاب بالا توسط نخ به اهرم ترانسدیوسر ایزوتونیک (Harvard, UK) و دستگاه ثبات (Harvard Universal Oscillograph, UK) متصل می شد. کشش اولیه به بافت ۱ گرم و دوره سازگاری ۶۰ دقیقه بود که طی آن هر ۱۵ دقیقه محلول حمام تعویض و جریان دائم حباب های هوا در آن دمیده می شد. محلول تایرود دارای ترکیب زیر بود: NaCl (۱۳۶ mM)، KCl (۵ mM)، CaCl₂ (۲ mM)، NaHCO₃ (۱۱/۹ mM)، MgCl₂ (۰/۹۸ mM)، NaH₂PO₄ (۰/۳۶ mM) و گلوکز (۵/۵۵ mM). بعد از سازگاری، ایلنوم توسط کلرورپتاسیم (۶۰mM n=۸) و یا کارباکول (۱۰μM n=۹) منقبض گردید و پس از رسیدن به حالت کفه، غلظت های تجمعی عصاره (۰/۰۶۲۵ تا ۰/۵ mg/ml) به حمام اضافه گردید. به منظور بررسی دخالت رسیپتورهای بتا-آدرنژیک و اوپیوئیدی، قطعات جدید ایلنوم به مدت ۳۰ دقیقه با آنتاگونیست بتا آدرنژیک (پروپرانولول، ۱μM) و یا آنتاگونیست رسیپتورهای اوپیوئیدی (نالوکسون، ۱μM) اینکوبه گردیده و انقباض بافت و عملکرد ضد انقباضی عصاره ثبت شد. جهت تعیین دخالت نیتریک اکساید سینتاز، عمل اینکوبه کردن بافت (۲۰ دقیقه) با ماده مهار کننده نیتریک اکساید سینتاز (L-NAME، ۱۰۰μM) انجام شد. جهت روشن نمودن دخالت کانال های پتاسیمی در بروز اثرات ضد انقباضی عصاره، بافت ها جداگانه به مدت ۵ دقیقه با مسدود کننده کانال های پتاسیمی وابسته به ATP (گلی بن کلامید، ۱۰μM) و مسدود کننده کانال های پتاسیمی



نمودار شماره ۲: مقایسه عملکرد مهاری عصاره آبی الکلی برگ شیرین بیان بر انقباض ناشی از کلور پتاسیم (۶۰mM) قبل و بعد از اینکوبه کردن ایلئوم با پروپرانولول (۱μM)، نالوکسون (۱μM) و (L-NAME ۱۰۰μM).

* $P < 0.05$ نسبت به گروه کنترل. فقط حضور L-NAME تاثیر ضد انقباضی عصاره را تقویت نموده است (ANOVA دو طرفه $P < 0.05$).



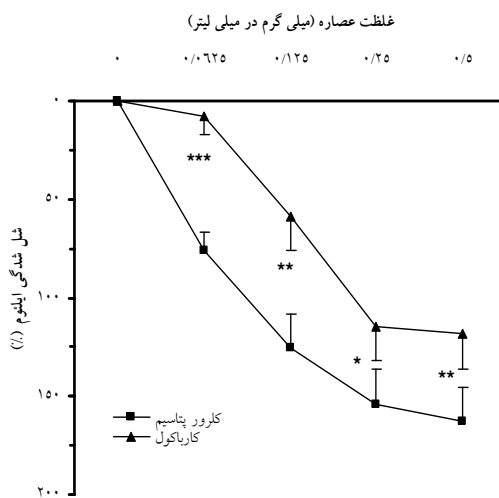
نمودار شماره ۳: مقایسه عملکرد انقباضی غلظتهای مختلف کلور کلسیم (در محلول تایرود بدون کلسیم دارای غلظت زیاد کلور پتاسیم) در غیاب و پس از ۳ دقیقه حضور غلظت های مختلف عصاره آبی الکلی برگ شیرین بیان بر ایلئوم موش صحرائی.

پاسخ انقباضی بافت به بیشترین غلظت کلور کلسیم (۸ میلی مولار) و در غیاب عصاره به عنوان پاسخ انقباضی ۱۰۰٪ در نظر گرفته شده و مقایسه آماری فقط بین غلظت صفر و ۰/۱۵۶mg/ml عصاره انجام شده است، * $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$ برای هر غلظت عصاره). آزمون ANOVA دوطرفه نتایج غلظت های صفر و ۰/۱۵۶mg/ml کاهش معنی داری را نشان می دهد ($P < 0.001$).

برگ شیرین بیان را تقویت نمود ($P < 0.05$). همچنین تقویت تاثیر غلظت ۰/۰۶۲۵ عصاره در حضور L-NAME مشاهده شد ($P < 0.05$) (نمودار شماره ۲).

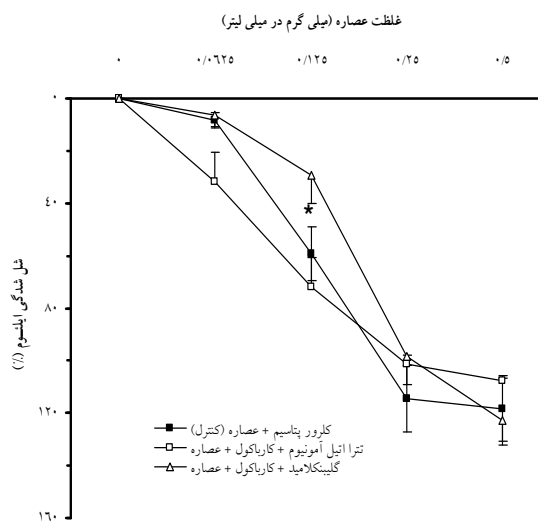
ج- تاثیر عصاره برگ شیرین بیان بر انقباض ایلئوم ناشی از کلور کلسیم

در محلول تایرود بدون کلسیم دارای کلور پتاسیم زیاد (۶۰mM)، اضافه کردن کلور کلسیم به حمام بافت موجب انقباض وابسته به کلسیم در ایلئوم گردید ($P < 0.001$). اینکوبه کردن بافت (۳ دقیقه) با غلظت های مختلف عصاره انقباض ناشی از کلور کلسیم را کاهش داد. تاثیر ضد انقباضی وابسته به غلظت عصاره می باشد. مقایسه اثر غلظت های تجمعی کلور کلسیم در غیاب و نیز در حضور حداقل غلظت عصاره (۰/۱۵۶ mg/ml) نشان می دهد که اختلاف معنی داری بین نتایج وجود دارد ($P < 0.001$) (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۴: مقایسه اثر ضد انقباضی غلظت های تجمعی عصاره آبی الکلی برگ شیرین بیان بر انقباض ناشی از کلور پتاسیم (۶۰mM) و کارباکول (۱۰μM) در ایلئوم موش صحرائی. * $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$ و *** $P < 0.001$. اثر ضد انقباضی عصاره بر انقباض ناشی از کلور پتاسیم قوی تر می باشد (ANOVA دوطرفه، $P < 0.001$).

را کاهش داد. عملکرد مهارى عصاره با تعویض محلول حمام کاملاً از بین نمی رفت. این نکته احتمالاً نشان دهنده پایداری نسبی پیوند مواد موثره عصاره با کانال های کلسیم بوده و یا اینکه این مواد وارد سلول شده و از رهائش کلسیم از منابع درون سلولی جلوگیری نموده است. از طرف دیگر، کاهش انقباض در حضور عصاره، ناشی از خستگی عضله طی انقباض نبوده است زیرا ثبت انقباض ناشی از کلروپتاسیم و کارباکول به مدت ۲۵ دقیقه نشان داد که در این مدت، انقباض کاهش نمی یافت. افزایش غلظت کلسیم درون سلولی عامل اصلی تنظیم تانسین در عضله صاف بوده (۲۲) و با دخالت کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ انجام شده (۲۳) و وجود کانال های نوع L در ایلئوم موش صحرائی گزارش شده است (۲۴). پیشنهاد شده است موادی که بتوانند انقباض ناشی از کلروپتاسیم را در عضله صاف مهار کنند، اثر خود را از طریق انسداد کانال های فوق الذکر به انجام می رسانند (۲۵). از طرف دیگر، کارباکول (آگونیست رسپتورهای موسکارینیک) توسط آنزیم استیل کولین استراز تخریب نشده (۲۶) و از طریق رسپتورهای M2 و M3 سبب انقباض ایلئوم می گردد (۲۷). کارباکول با فعال شدن کانال های کلسیم، افزایش کلسیم درون سلولی و در نهایت موجب انقباض ایلئوم می شود (۲۸). علاوه بر این، کارباکول با فعال کردن فسفولیپاز C و افزایش تولید اینوزیتول تری فسفات (IP3) رهائش کلسیم از منابع درون سلولی را افزایش می دهد (۲۹). بر اساس نتایج عملکرد مهارى عصاره (در تمام غلظت های بکار رفته) بر انقباض ناشی از کلروپتاسیم قوی تر از تاثیر مهارى آن بر انقباض ناشی از کارباکول بود و لذا ممکن است عملکرد مهارى عصاره عمدتاً از طریق ممانعت از ورود کلسیم بوده باشد. این دو محرک، حداقل در افزایش ورود کلسیم از طریق کانال ها اشتراک عمل دارند لذا احتمال دارد که عصاره از طریق انسداد این کانال ها تاثیر مهارى خود را اعمال



نمودار شماره ۴: مقایسه عملکرد ضد انقباضی عصاره آبی الکلی برگ شیرین بیان بر انقباض ناشی از کارباکول (۱۰ μM). بدون حضور و بعد از ۵ دقیقه اینکوبه کردن ایلئوم با گلی بن کلامید (۱۰ μM) و یا ترا اتیل آمونیوم (۱ mM).
 $P < 0/05$ نسبت به گروه کنترل. مقایسه نتایج $P > 0/05$ بین نتایج حضور و یا غیاب این مسدود کننده ها بر عملکرد عصاره (ANOVA دو طرفه).

د- تاثیر حضور مسدود کننده های کانالهای پتاسیمی در عملکرد مهارى عصاره بر انقباض ایلئوم ناشی از کارباکول
 اینکوبه کردن ایلئوم (۵ دقیقه) با ترا اتیل آمونیوم (۱ mM, n=7) و یا گلی بن کلامید (۱۰ μM, n=7) موجب کاهش عملکرد مهارى عصاره بر انقباض ناشی از کارباکول (۱۰ μM) نشدند ($P > 0/05$). با وجود این، گلی بن کلامید فقط عملکرد ضد انقباضی غلظت ۰/۱۲۵ mg/ml عصاره را کاهش داد ($P < 0/05$) (نمودار شماره ۴).

بحث:

در تحقیق حاضر، عصاره آبی الکلی برگ شیرین بیان انقباضات ایلئوم ناشی از کلروپتاسیم (محرک غیر رسپتوری) و کارباکول (محرک رسپتوری)

برگ شده باشد. نتایج اثر مهاری عصاره بر انقباض ناشی از کلرورکلسیم نیز موید درستی این احتمال است. زیرا در محلول تایرود بدون کلسیم، بافت توسط زیادی پتاسیم خارج سلولی فقط دیپولاریزه شده (۳۰) ولی انقباض آن مشروط به اضافه کردن کلسیم به محیط است (۲۸). عصاره حاضر خاصیت آنتاگونیستی با رسپتورهای موسکارینیک نداشته زیرا در آن صورت فقط انقباض ناشی از کارباکول را مهار می‌کرد. عدم وجود اختلاف معنی دار بین قدرت انقباض ناشی از این دو محرک و مهار قوی تر عصاره بر انقباض ناشی از کلرورپتاسیم نشانه عدم تاثیر عصاره بر رهایش کلسیم از منابع درون سلولی می‌باشد. اگر چه فعال شدن رسپتورهای بتا-آدرنژیک (۳۱) و رسپتورهای اوپیوئیدی (۳۲) سبب شل شدن ایلئوم می‌گردند ولی ناتوانی پروپرانولول و نالوکسون (آنتاگونیست غیر انتخابی این رسپتورها) در کاهش عملکرد عصاره مؤید عدم دخالت این رسپتورها می‌باشد. از طرف دیگر، افزایش سنتز NO ایلئوم را شل می‌کند (۳۳) ولی L-NAME (مهار کننده نیتریک اکساید سینتاز) عملکرد مهاری عصاره را کاهش نداد و این امر مؤید عدم دخالت سنتز نیتریک اکساید در عملکرد عصاره می‌باشد. با توجه به احتمال فعال شدن کانال های پتاسیمی وابسته به ATP و کلسیم در این تجربه، به ترتیب از گلی بن کلامید و تترا اتیل آمونیوم (۳۴،۳۵) استفاده شد. نتایج نشان داد که تترا اتیل آمونیوم عملکرد عصاره را فقط در غلظت ۰/۱۲۵ mg/ml کاهش داد. این نتیجه احتمال دخالت کانال های پتاسیمی وابسته به ATP را هر چند برای یک غلظت عصاره بوده است مطرح می‌سازد. لازم به ذکر است در بعضی از مقالات، تترا اتیل آمونیوم مسدود کننده غیر انتخابی این دونوع کانال پتاسیمی معرفی شده است (۳۶).

برگ شیرین بیان گوارشی در دست نیست و در طی این تحقیق که جریان هوا در حمام بافت دمیده می‌شد ایجاد کف که از نشانه های وجود ساپونین می‌باشد رخ نمی‌داد و یا غلظت این مواد در حدی نبوده است که کف ایجاد کند. بر اساس اطلاعات بدست آمده تحقیق حاضر اولین گزارش در مورد خاصیت ضد انقباضی برگ شیرین بیان می‌باشد و لذا امکان مقایسه این نتایج با سایر مطالعات وجود ندارد.

نتیجه کلی این تحقیق نشان داد که احتمالاً عصاره برگ شیرین بیان با دخالت کانال های کلسیمی موجب کاهش انقباض در ایلئوم می‌گردد. توصیه به مصرف برگ شیرین بیان جهت درمان اسهال نیازمند انجام تحقیقات همه جانبه و وسیعتر می‌باشد. از طرف دیگر وجود خاصیت ضد انقباضی برگ شیرین بیان این نکته را روشن می‌سازد که سایر خواص فارماکولوژیک برگ این گیاه ارزش مطالعه دقیق را داشته باشد.

نتیجه گیری:

بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد عصاره آبی الکلی برگ شیرین بیان بدون دخالت رسپتورهای بتا آدرنژیک، اوپیوئیدی و سنتز نیتریک اکساید سبب مهار انقباض ایلئوم گردیده است. بخش عمده این اثر مهاری با دخالت کانال های کلسیمی اعمال می‌شود. احتمال دارد بخشی کوچکی از عملکرد ضد انقباضی عصاره نتیجه فعال شدن کانال های پتاسیمی وابسته به

پزشکی جندی شاپور اهواز و از همکاری آقای دکتر سیاهپوش به خاطر شناسایی علمی گیاه شیرین بیان و نیز از آقای دکتر محمد بدوی جهت مشاوره آماری صمیمانه تشکر می نمایند.

ATP باشد. همچنین احتمال دارد که اثرات مشاهده شده نتیجه عملکرد فلاونوئیدهای موجود در عصاره برگ شیرین بیان باشد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان مقاله از حمایت مالی دانشگاه علوم

منابع:

1. 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 Mar; 115(3): 305-14.
2. Yegnanarayan R, Shrotri DS. Comparison of antidiarrheal activity of some drugs in experimental diarrhea. Ind J Pharmacol. 1982; 14(4): 293-9.
3. Clark AM. Natural products as a source for new drugs. Pharm Res. 1996 Aug; 13(8): 1133-44.
4. Kartal M. Intellectual property protection in the natural product drug discovery, traditional herbal medicine and herbal medicinal products. Phytother Res. 2007 Feb; 21(2): 113-9.
5. Gibson MR. Glycyrrhiza in old and new perspectives. Lloydia. 1978 Jul; 41(4): 348-54.
6. Khayyal MT, el-Ghazaly MA, Kenawy SA, Seif-el-Nasr M, Mahran LG, Kafafi YA, et al. Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination. Arzneimittelforschung. 2001; 51(7): 545-53.
7. Fukai T, Marumo A, Kaitou J, Kanda T, Terada S, Nomura T. Anti-Helicobacter pylori flavonoids from licorice extract. Life Sci. 2002 Aug; 71(12): 1449-63.
8. Lekperov UK. Plant antimutagens and their mixtures in inhibition of genotoxin effects of xenobiotics and aging processes. Eur J Cancer Prev. 2002 Aug; 11(Suppl 2): S8-11.
9. Oganessian KR. Antioxidant effect of licorice root on blood catalase activity in vibration stress. Bull Exp Biol Med. 2002 Aug; 134(2): 135-6.
10. Al-Qarawi AA, Abdel-Rahman HA, Ali BH, El Mougy SA. Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) and the adrenal-kidney-pituitary axis in rats. Food Chem Toxicol. 2002 Oct; 40(10): 1525-7.
11. Mendes-Silva W, Assafim M, Ruta B, Monteiro RQ, Guimaraes JA, Zingali RB. Antithrombotic effect of glycyrrhizin, a plant-derived thrombin inhibitor. Thromb Res. 2003; 112(1-2): 93-8.
12. Raggi MA, Bugamelli F, Nobile L, Curcelli V, Mandrioli R, Rossetti A, et al. The choleric effects of licorice: identification and determination of the pharmacologically active components of *Glycyrrhiza glabra*. Boll Chim Farm. 1995 Dec; 134(11): 634-8.
13. Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. Diabetologia. 1990 Aug; 33(8): 462-4.
14. Azimov MM, Zakirov UB, Radzhapova ShD. Pharmacological study of the anti-inflammatory agent glyderinine. Farmakol Toksikol. 1988 Jul; 51(4): 90-3.
15. Visavadiya NP, Narasimhacharya AV. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of *Glycyrrhiza glabra* (Linn) in rats. Mol Nutr Food Res. 2006 Nov; 50(11): 1080-6.

16. Dhingra D, Sharma A. Antidepressant-like activity of *Glycyrrhiza glabra* L. in mouse models of immobility tests. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006 May; 30(3): 449-54.
17. Parle M, Dhingra D, Kulkarni SK. Memory-strengthening activity of *Glycyrrhiza glabra* in exteroceptive and interoceptive behavioral models. *J Med Food*. 2004 winter; 7(4): 462-6.
18. Dhingra D, Parle M, Kulkarni SK. Memory enhancing activity of *Glycyrrhiza glabra* in mice. *J Ethnopharmacol*. 2004 Apr; 91(2-3): 361-5.
19. Hayashi H, Hattori S, Inoue K, Khodzhimatov O, Ashurmetov O, Ito M, et al. Field survey of Glycyrrhiza plants in central asia (3). Chemical characterization of *G. glabra* collected in Uzbekistan. *Chem Pharm Bull*. 2003 Nov; 51(11): 1338-40.
20. Biondi DM, Rocco C, Ruberto G. New dihydrostilbene derivatives from the leaves of *Glycyrrhiza glabra* and evaluation of their antioxidant activity. *J Nat Prod*. 2003 Apr; 66(4): 477-80.
21. Franck H, Storr M, Puschmann A, Schusdziarra V, Allescher HD. Involvement of intracellular Ca^{2+} stores in inhibitory effects of NO donor SIN-1 and cGMP. *Am J Physiol*. 1998 Jul; 275(1 Pt 1): G159-68.
22. Madeira SV, Matos FJ, Leal-Cardoso JH, Criddle DN. Relaxant effects of the essential oil of *Ocimum gratissimum* on isolated ileum of the guinea pig. *J Ethnopharmacol*. 2002 Jun; 81(1): 1-4.
23. Bolton TB. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev*. 1979 Jul; 59(3): 606-718.
24. El Bardai S, Hamaide MC, Lyoussi B, Quetin-Leclercq J, Morel N, Wibo M. Marrubienol interacts with the phenylalkylamine binding site of the L-type calcium channel. *Eur J Pharmacol*. 2004 May; 492(2-3): 269-72.
25. Gilani AH, Aziz N, Khurram IM, Chaudhary KS, Iqbal A. Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses. *J Pak Med Assoc*. 2001 Mar; 51(3): 115-20.
26. Lebrun F, Francois A, Vergnet M, Lebaron-Jacobs L, Gourmelon P, Griffiths NM. Ionizing radiation stimulates muscarinic regulation of rat intestinal mucosal function. *Am J Physiol*. 1998 Dec; 275(6 Pt 1): G1333-40.
27. Coulson FR, Jacoby DB, Fryer AD. Insulin regulates neuronal M_2 muscarinic receptor function in the ileum of diabetic rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004 Feb; 308(2): 760-6.
28. Zhang WW, Li Y, Wang XQ, Tian F, Cao H, Wang MW, et al. Effects of magnolol and honokiol derived from traditional Chinese herbal remedies on gastrointestinal movement. *World J Gastroenterol*. 2005 Jul; 11(28): 4414-8.
29. Pacaud P, Feolde E, Frelin C, Loirand G. Characterization of the P2Y-purinoreceptor involved in the ATP-induced rise in cytosolic Ca^{2+} concentration in rat ileal myocytes. *Br J Pharmacol*. 1996 Aug; 118(8): 2213-9.
30. Fujimoto S, Mori M. Characterization of capsaicin-induced, capsazepine-insensitive relaxation of ileal smooth muscle of rats. *Eur J Pharmacol*. 2004 Mar; 487(1-3): 175-82.
31. van der Vliet A, Rademaker B, Bast A. A beta adrenoceptor with atypical characteristics is involved in the relaxation of the rat small intestine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990 Oct; 255(1): 218-26.

32. Gray AC, White PJ, Coupar IM. Characterization of opioid receptors involved in modulating circular and longitudinal muscle contraction in the rat ileum. *Br J Pharmacol*. 2005 Mar; 144(5): 687-94.
33. Kanada A, Hata F, Suthamnatpong N, Maehara T, Ishii T, Takeuchi T, et al. Key roles of nitric oxide and cyclic GMP in noradrenergic and noncholinergic inhibition in rat ileum. *Eur J Pharmacol*. 1992 Jun; 216(2): 287-92.
34. Nishida S, Satoh H. Mechanisms for the vasodilatations induced by *Ginkgo biloba* extract and its main constituent, bilobalide, in rat aorta. *Life Sci*. 2003 Apr; 72(23): 2659-67.
35. Kafali H, Kaya T, Gursoy S, Bagcivan I, Karadas B, Sarioglu Y. The role of K⁺ channels on the inhibitor effect of sevoflurane in pregnant rat myometrium. *Anesth Analg*. 2002 Jan; 94(1): 174-8.
36. Kim ND, Kang SY, Park JH, Schini-Kerth VB. Ginsenoside Rg₃ mediates endothelium-dependent relaxation in response to ginsenosides in rat aorta: role of K⁺ channels. *Eur J Pharmacol*. 1999 Feb; 367(1): 41-9.
37. Sato Y, He JX, Nagai H, Tani T, Akao T. Isoliquiritigenin, one of the antispasmodic principles of *Glycyrrhiza uralensis* root, acts in the lower part of intestine. *Biol Pharm Bull*. 2007 Jan; 30(1): 145-9.
38. Mata R, Rojas A, Acevedo L, Estrada S, Calzada F, Rojas I, et al. Smooth muscle relaxing flavonoids and terpenoids from *Conyza filaginoides*. *Planta Med*. 1997 Feb; 63(1): 31-5.
39. Krenn L, Beyer G, Pertz HH, Karall E, Kremser M, Galambosi B, et al. In vitro antispasmodic and anti-inflammatory effects of *Drosera rotundifolia*. *Arzneimittelforschung*. 2004; 54(7): 402-5.
40. Zhu XM, Fang LH, Li YJ, Du GH. Endothelium-dependent and -independent relaxation induced by pinocembrin in rat aortic rings. *Vascular Pharmacol*. 2007 Mar; 46(3):160-5.
41. Hayashi H, Hosono N, Kondo M, Hiraoka N, Ikeshiro Y, Shibano M, et al. Phylogenetic relationship of six *Glycyrrhiza* species based on rbcL sequences and chemical constituents. *Biol Pharm Bull*. 2000 May; 23(5): 602-5.