

## مقایسه اثرات ضدهلیکوباکترپیلوری ریشه شیرین‌بیان جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف ایران

شهرام شعیبی<sup>۱</sup>، هما حاجی‌مهدی‌پور<sup>۲\*</sup>، ناهید رحیمی‌فرد<sup>۳</sup>، شمسعلی رضازاده<sup>۴</sup>، طاهره حسنلو<sup>۵</sup>، فاطمه باقری<sup>۶</sup>، افسین امینی<sup>۷</sup>

۱- استادیار مواد خوراکی و عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو و اداره کل آزمایشگاه‌های کنترل غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران

۲- استادیار فارماکوگنوزی و عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات طب سنتی و مفرادات پزشکی و دانشکده طب سنتی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۳- دانشیار میکروبیولوژی و عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو و اداره کل آزمایشگاه‌های کنترل غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران

۴- استادیار شیمی دارویی و عضو هیأت علمی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، تهران

۵- استادیار پژوهش و عضو هیأت علمی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج

۶- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۷- دکتر داروساز، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

\*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان ولی‌عصر، نرسیده به توانیر، کوچه شمس، مرکز تحقیقات طب سنتی و

مفرادات پزشکی و دانشکده طب سنتی شهید بهشتی، تلفن و نامبر: ۰۲۱ ۸۸۷۷۶۰۲۷

پست الکترونیک: hmehdipoor@itmrc.org.hajimehd@tums.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۹/۸/۱۱

تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲۰

### چکیده

**مقدمه:** از عفونت‌های رایج دستگاه گوارش، آلدگی به باکتری هلیکوباکترپیلوری می‌باشد که منجر به گاستریت، زخم‌های گوارشی و در نهایت سرطان معده می‌شود. داروهای شیمیایی بسیاری در ریشه‌کنی این باکتری به کار می‌روند ولی مقاومت به بسیاری از داروها و نیز عود مجدد آلدگی از مضاعلات درمان است. در این میان نقش داروهای گیاهی بسیار با اهمیت است. شیرین‌بیان یکی از گیاهانی است که در درمان عفونت‌های هلیکوباکترپیلوری استفاده می‌شود. این گیاه در مناطق مختلف ایران رویش دارد. بنابراین بررسی اثر گیاه مناطق مختلف ایران بر روی این باکتری حائز اهمیت می‌باشد.

**هدف:** هدف این تحقیق تعیین میزان حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره ریشه شیرین‌بیان جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف ایران علیه هلیکوباکترپیلوری می‌باشد تا بهترین رویشگاه گیاه برای بروز اثرات ضد این باکتری معرفی شود.

**روش بررسی:** ریشه‌های شیرین‌بیان از ۱۲ منطقه ایران شامل: کرمانشاه، مهاباد، اردبیل، خرم‌آباد، سرحد فارس، استهبان فارس، قصرالدشت فارس، اکباتان و گنجنامه همدان، نجف‌آباد اصفهان، سیرجان و کرمان جمع‌آوری شدند و با استفاده از اتانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری شدند. میزان MIC هر عصاره علیه سه نمونه بالینی باکتری هلیکوباکترپیلوری جدا شده از بیماران در حین اندوسکوپی تعیین شد.

**نتایج:** نتایج نشان دادند که حساسیت باکتری‌های جدا شده از معده افراد مختلف به عصاره‌های شیرین‌بیان متفاوت است. در میان عصاره‌های موربدبررسی، عصاره شیرین‌بیان رویشگاه اردبیل کمترین MIC (حداقل ۱۲۵ ppm) را از خود نشان داد و تقریباً تمامی سوش‌ها به عصاره منطقه مهاباد مقاومت نشان دادند.

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج بدست آمده از تعیین میزان MIC عصاره‌های شیرین‌بیان مناطق مختلف ایران می‌توان گفت مشکل مقاومت به دارو در میان گیاهان دارویی همانند داروهای شیمیایی دیده می‌شود. به علاوه هنگام استفاده از یک گیاه دارویی در درمان نوع خاصی از بیماری باید به رویشگاه آن توجه نمود تا بهترین اثر درمانی حاصل شود.

**گل واژگان:** شیرین‌بیان، هلیکوباکترپیلوری، حداقل غلظت مهارکنندگی



## مقدمه

تحقیقات قبلی صورت گرفته بر روی شیرینیان رویش یافته در مناطق مختلف ایران ثابت شده است که میزان مواد موثره موجود در گیاه جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف تفاوت چشمگیری با یکدیگر دارند [۸]. با توجه به این امر انتظار می‌رود که اثر گیاه مناطق مختلف که جهت بیماری‌های گوارشی مصرف می‌شوند نیز با یکدیگر تفاوت داشته باشد از این‌رو بر آن شدید تا طی این تحقیق اثر ضدھلیکوپاکتھرپیلوری گیاه مناطق مختلف را با یکدیگر مقایسه کنیم تا بتوانیم بهترین رویشگاه گیاه جهت اثرات ضدھلیکوپاکتھرپیلوری و به تبع آن مصرف در اختلالات گوارشی را معرفی نماییم.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری گیاه

ریشه‌های شیرینیان در پاییز ۱۳۸۵ از ۱۲ منطقه رویش گیاه در ایران شامل: کرمان، سیستان، سرحد فارس، قصرالدشت فارس، استهبان فارس، کرمانشاه، اردبیل، مهاباد، اکباتان همدان، گچنانه همدان، نجف‌آباد اصفهان و خرم‌آباد جمع‌آوری شدند. جهت شناسایی مناطق رویش گیاه از اطلاعات موجود در وزارت جهادکشاورزی در مورد محل‌های رویش گیاهان استفاده شد. شناسایی نمونه‌ها توسط خانم مهندس محبوبه خاتم‌ساز صورت گرفت. سپس نمونه‌ها در سایه و در دمای اتاق خشک و آسیاب شدند.

### عصاره‌گیری از گیاه

از ۱۰ گرم گیاه پودر شده توسط اتانول ۸۰ درصد (نسبت گیاه به حلال ۱:۱۰) به روش خیساندن<sup>۱</sup> در مدت ۵ روز عصاره‌گیری انجام شد [۹]. عصاره به دست آمده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه تقطیر در خلا تا حد خشک شدن تغییض شد.

### تپه‌های باکتری هلیکوپاکتھرپیلوری

در این مطالعه ۳ نمونه بالینی باکتری از معده بیماران بیمارستان شهید بهشتی و میلاد کاشان به دنبال اندوسکوپی

ھلیکوپاکتھرپیلوری یک باکتری S-شکل، گرم منفی و میکروآئروفیل است که نخستین بار در سال ۱۹۸۲ معرفی شد. جایگاه اصلی این باکتری سلول‌های اپیتلیال معده می‌باشد که می‌تواند در هر قسمی از آن کلونیه شود ولی عملده‌ترین جایگاه آن اپیتلیوم ترشح کننده موکوس آنتروم است. آلدگی با این باکتری منجر به بروز گاستریت مزمن و در نهایت زخم‌های پیتیک می‌شود. شواهد زیادی مبنی بر بروز آدنوکارسینومای معده به دنبال عفونت ناشی از این میکروب وجود دارد [۳ - ۱]. آنتیبیوتیک‌ها، مهارکننده‌های دارویی انتخابی در معده، بلوکرهای H<sub>2</sub> و نمک‌های بیسموت داروهای انتخابی در درمان هلیکوپاکتھرپیلوری هستند که به صورت ترکیبی به کار می‌روند. اما علی‌رغم وجود درمان‌های دارویی، هنوز ریشه‌کنی این باکتری با مشکلاتی مواجه می‌باشد به طوری که میزان شکست درمان‌های ذکر شده به علت مقاومت‌های دارویی ۲۰ - ۵ درصد بوده و حتی در موارد بسیار با وجود درمان کامل بیماری، عود مجدد آن وجود داشته است [۴]. بنابراین لزوم معرفی داروهای جدید با مقاومت کمتر و قدرت بالا برای ریشه‌کنی باکتری ضروری به نظر می‌رسد. گیاهان دارویی قرن‌هاست که در طب سنتی جهت درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها شامل اختلالات دستگاه گوارش مانند دیس پیسی و زخم‌های گوارشی به کار می‌روند. شیرینیان با نام علمی Leguminosae Glycyrrhiza glabra L. یکی از گیاهانی است که از دیرباز در التهابات معده استفاده می‌شده است. تحقیقات صورت گرفته بر روی این گیاه نشان داده‌اند که فلاونوئیدها، ایزوفلافونوئیدها، چالکون‌ها و گلیسیرینزین موجود در گیاه اثرات ضدباکتری هلیکوپاکتھرپیلوری دارند [۷ - ۵]. فرم‌های دارویی زیادی نیز از این گیاه برای مصرف در اختلالات گوارشی در داخل و خارج کشور ساخته شده‌اند. این گیاه در مناطق مختلف ایران به خصوص در جنوب، غرب، مرکز و شمال غرب رویش دارد و محصول جمع‌آوری شده از این مناطق به صورت گیاه خشک و نیز عصاره‌های مایع و جامد به کشورهای دیگر صادر می‌شود؛ به طوری که ایران یکی از کشورهای مهم صادرکننده این گیاه محسوب می‌شود. طبق

<sup>۱</sup> Maceration

مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته و به چاهک دوم اضافه شد. از چاهک دوم نیز ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به چاهک سوم افزوده شد و این مراحل تا چاهک ششم ادامه یافت. در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک ششم دور ریخته شد. با انجام این مراحل غلظت عصاره در چاهک‌ها به ترتیب ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵ و ۱۵/۶۲۵ ppm سپس میکروپلیت‌ها به مدت سه روز در انکوباتور در دمای ۳۷ - ۳۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط میکروآئروفیلیک قرار گرفته و بعد از سپری شدن زمان فوق کدورت آنها بررسی شد و غلظت آخرین لوله‌ای که شفاف بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که در مورد هر نمونه باکتری و نیز هر عصاره سه آزمون انجام گرفت.

## نتایج

نتایج به دست آمده از تعیین MIC عصاره شیرین‌بیان جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف ایران در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدا شده و روی پلیت حاوی محیط کشت بلا دارد آگار که دارای خون گوسفند است، کشت داده شدند و به مدت ۵ - ۳ روز در دمای ۳۷ - ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند.

## روش تعیین MIC عصاره‌ها

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی<sup>۱</sup> عصاره‌ها از روش رقیق‌سازی با استفاده از میکروپلیت استفاده شد. ابتدا سوسپانسیون میکروبی از باکتری تهیه شد، بدین ترتیب که به کمک لوب از محیط کشت برداشته شده و در محیط کشت مایع BHI در لوله آزمایش به نحوی حل شد که کدورت آنها با هم و با استاندارد ۰/۵ مک فارلن‌دیکسان باشد ( $10^8 \text{ cfu/ml} \times 1/5$ ). سپس برای هر سوسپانسیون میکروبی شش چاهک در میکروپلیت در نظر گرفته شد. برای تهیه محلول عصاره‌ها از حلال DMSO ۱۰٪ در آب استفاده شد و محلول استوک ۵/۵ میلی گرم در میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌ها با استفاده از حلال فوق الذکر تهیه شد. ابتدا در چاهک اول ۲۰۰ میکرولیتر و در چاهک‌های بعده ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی ریخته شد. سپس ۲۰ میکرولیتر عصاره گیاهی به چاهک اول اضافه شد و در

## <sup>۱</sup> MIC

جدول شماره ۱ - MIC عصاره شیرین‌بیان جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف ایران علیه هلیکوباترپیلوری

رویشگاه	شماره باکتری		
	۳	۲	۱
کرمانشاه	۵۰۰	۲۵۰	> ۵۰۰
مهاباد	۵۰۰	> ۵۰۰	> ۵۰۰
اردبیل	۲۵۰	۱۲۵	۵۰۰
خرم آباد	۲۵۰	۲۵۰	> ۵۰۰
نجف آباد	۵۰۰	۲۵۰	> ۵۰۰
قصرالدشت فارس	۲۵۰	۲۵۰	> ۵۰۰
کرمان	۵۰۰	۲۵۰	> ۵۰۰
استهبان فارس	۵۰۰	۲۵۰	> ۵۰۰
گنجنامه همدان	> ۵۰۰	۲۵۰	> ۵۰۰
سیرجان	> ۵۰۰	۲۵۰	> ۵۰۰
سرحد فارس	۵۰۰	۵۰۰	> ۵۰۰
اکباتان همدان	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰

## بحث و نتیجه گیری

داشته‌اند. نمونه هلیکوباکترپیلوری شماره ۲ حساس‌ترین باکتری بوده به طوری که تنها به عصاره منطقه مهاباد مقاوم بوده و نسبت به سایر عصاره‌ها حساسیت نشان داده است. در این میان عصاره حاصل از گیاه جمع‌آوری شده از منطقه اردبیل دارای کمترین MIC (۱۲۵ ppm) و بیشترین اثر را علیه باکتری از خود نشان داده است. از نتایج به دست آمده چنین برمنی آید که نمونه‌های جدا شده از بیماران مختلف حساسیت متفاوتی را به عصاره ریشه گیاه شیرین‌بیان از خود نشان می‌دهند به طوری که حتی بعضی از نمونه‌ها به عصاره گیاه مقاوم می‌باشند. بنابراین ریشه شیرین‌بیان نیز همانند آنتی‌بیوتیک‌ها در تمام افراد باعث ریشه‌کنی باکتری نخواهد شد. به علاوه کیفیت ریشه شیرین‌بیان طبق فارماکوپه‌های اروپا و آمریکا بر اساس میزان عصاره تام و نیز گلیسیریزین آن تعیین می‌شود [۱۲، ۱۳] که در طی تحقیق گذشته مشخص شده است که میزان عصاره تام و نیز گلیسیریزین ریشه گیاه جمع‌آوری شده از اردبیل کمتر از بسیاری از مناطق می‌باشد [۸] که این امر نشان‌دهنده این است که شاخص‌های کیفیت مشخص شده از سوی فارماکوپه‌های اروپا و آمریکا بیانگر ارزش گیاه موردنظر در بروز اثرات ضدھلیکوپاکتھرپیلوری نیست که این واقعیت باید در تجویز گیاه در گاستریت‌ها و زخم‌های گوارشی مورد توجه قرار گیرد. از نتایج به دست آمده استدلال می‌شود که با توجه به تنوع آب و هوایی کشور ایران و رویش گیاهان در مناطق مختلف آن، جهت مصرف گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها باید توجه بیشتری به میزان مواد موثره موجود در آنها در مورد هر بیماری نمود.

شیرین‌بیان گیاه شناخته شده‌ای در درمان التهابات و زخم‌های گوارشی می‌باشد. اثر این گیاه در درمان اختلالات گوارشی به واسطه اثرات ضدالنھابی و نیز خواص ضدھلیکوپاکتھرپیلوری آن است [۱۰]. کتاب کمیسیون E<sup>۱</sup> استفاده از گیاه را در احتقان بخش فوقانی دستگاه تنفس و زخم‌های معده و دوازده‌هه مورد تائید قرار داده است [۱۱]. با توجه به اثرات بیولوژیک این گیاه، سالیانه مقدار زیادی از گیاه از مناطق مختلف رویش آن در ایران برداشت شده و به کشورهای دیگر صادر می‌شود؛ به طوری که در مناطق مرکزی و جنوبی کشور گیاه در حال انقراض بوده و توجه تولیدکنندگان به مناطق شمالی و شمال غرب کشور معطوف شده است. از آنجا که یکی از موارد عمده مصرف گیاه خواص ضدھلیکوپاکتھرپیلوری آن می‌باشد، لذا بررسی بهترین رویشگاه گیاه برای بروز این اثر اهمیت دارد که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان می‌دهند که از میان سه نمونه باکتری بررسی شده که از سه بیمار مختلف جدا شده است، نمونه باکتری شماره ۱ تقریباً به تمام عصاره‌های شیرین‌بیان مقاوم بوده است، به طوری که MIC بیشتر نمونه‌ها بیشتر از ۵۰۰ ppm بوده است (به جز نمونه‌های اکباتان همدان و اردبیل با ۵۰۰ ppm MIC: ۳ نیز به گیاه جمع‌آوری شده از مناطق گنجانامه همدان و سیرجان مقاوم بوده ولی عصاره‌های مناطق دیگر بر روی باکتری موثر بوده است که در این میان گیاه مناطق اردبیل، خرم‌آباد و قصرالدشت فارس با ۲۵۰ ppm اثر بیشتری روی باکتری

<sup>۱</sup> The Complete German Commission E Monographs

## منابع

1. Axon ATR. *Helicobacter pylori* infection. *J. Antimicrob. Chemother.* 1993; 32: 61 - 8.
2. Mahady GB, Pendland SL, Stoia A, Hamill FA, Fabricant D, Dietz BM and Chadwick LR. In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the

- treatment of gastrointestinal disorders. *Phytother. Res.* 2005; 19 (11): 988 - 91.
3. Li Y, Xu Ch, Zhang Q, Liu JY and Tan RX. In vitro anti-*Helicobacter pylori* action of 30 Chinese herbal medicines used to treat ulcer diseases. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 98: 329 - 33.



4. Adamek RJ, Suerbaum S, Pfaffenbach B and Opferkuch W. Primary and acquired *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin, metronidazole and amoxicillin-influence on treatment outcome. *Am. J. Gastroenterol.* 1998; 93 (3): 386 - 9.
5. Wang Zh, Nishioka M, Kurosaki Y, Nakayama T and Kimura T. Gastrointestinal absorption characteristics of glycyrrhizin from *Glycyrrhiza* extract. *Biol. Pharm. Bull.* 1995; 18 (9): 1238 - 41.
6. Haraguchi H, Tanimoto K, Tamura Y, Mizutani K and Kinoshita T. Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochem.* 1998; 48 (1): 125 - 9.
7. Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S and Nomura T. Anti-*Helicobacter pylori* flavonoids from licorice extract. *Life Sci.* 2002; 71 (12): 1449 - 63.
8. Hajimehdipoor H, Amanzadeh Y, Hasanloo T, Shekarchi M, Abedi Z and Pirali Hamedani M. Investigation on the quality of wild licorice roots collected from different regions of Iran. *J. Med. Plants* 2008; 7 (27): 106 - 14.
9. Committee of Iranian Herbal Pharmacopoeia. Iranian Herbal Pharmacopoeia. Ministry of Health and Medical Education. Tehran, 2002, p: 24.
10. PDR for Herbal Medicines. 3<sup>th</sup> ed. Thomson PDR. Montvale. 2004, p: 876.
11. Blumenthal M, Goldberg A and Brinckmann J. Herbal Medicine, Expanded Commission E Monographs. 1<sup>st</sup> ed. Integrative Medicine Communications. Boston. 2000, pp: 233 - 5.
12. BP. Stationery Office. London. 2004, vol: 2, p: 1175.
13. USP 28/ NF 23. The united States Pharmacopeial Convention. Toronto. 2005, vol: 3, p: 2109.

