اثرات ضد التهابی جزء گلیسیریزین گیاه شیرین بیان بر سلول های میکروگلیال ملتهب شده، از طریق اندازه گیری میزان اینترلوکین-۱بتای تولید شده

کاظم دهقانی[۱]، فرشید حمیدی[۲] ، هادی محب علیان[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

شیرین بیان با نام علمی Glycyrrhiza glabra L. یکی از مهم ترین گیاهان دارویی بومی ایران است. ماده اصلی این گونه، ترکیب ساپونین تری ترپنوئیدی به نام اسید گلیسیریزیک یا گلیسیریزین با شیرینی ۳۰ تا ۵۰ برابر ساکارز است. خواص ضد التهابی، ضد باکتریایی، آنتی اکسیدانی و خلط آور است و در سمیت زدایی و حفاظت کبدی موثر می باشد. میکروگلیال سلول های غیر عصبی سیستم عصبی مرکزی ۵ تا ۲۰٪ از کل سلول های گلیا را تشکیل می دهند آن ها اعمالی شبیه ماکروفاژهای بافت های دیگر دارند که از جمله آن ها می توان به فاگوسیتوز میکروارگانیسم های مهاجم و سلول های آسیب دیده، تولید سایتوکاین ها و کموکاین ها اشاره کرد. تولید بیش از حد سایتوکاین های التهابی توسط سلول های میکروگلیال باعث تقویت بروزالتهاب عصبی، بیماری های مزمن مغز، و تشدید فرآیند دمیلیناسیون شود. . با توجه به مطالعات اخیر درباره ی اثرات بیولوژیک و درمانی ترکیبات شیرین بیان و همچنین ترکیب اصلی ریشه ی آن (گلیسیریزین)، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر جزء گلیسیریزین ریشه گیاه شیرین بیان بر میزان تولید اینترلوکین -۱ بتا به عنوان یک واسطه التهابی القا شده از رده سلولی میکروگلیال BV-۲ ملتهب شده با لیپوپلی ساکارید بود. در این مطالعه گلیسیریزین در حجم های ۳ و ۱۰ میکرولیتر (بترتیب حاوی ۰/۲۴ و ۰/۸ میکروگرم)، تولید اینترلوکین-۱ بتا را در سلول های BV-۲ مهار کرد. فعالیت مهاری گلیسیریزین در این سلول ها ممکن است اثرات درمانی مهمی جهت درمان بیماری های التهابی عصبی داشته باشد

واژگان کلیدی شیرین بیان، گلیسیریزین، لیپوپلی ساکارید، التهاب، میکروگلیال، BV-۲

مقدمه

شیرین بیان گیاهی چند ساله از خانواده بقولات (Fabaceae) است که به واسطه دارا بودن ترکیبات دارویی و غذایی مهم در ریشه و ریزوم آن در دنیا حائز اهمیت بوده و مورد توجه صنایع دارویی، غذایی و حتی دخانیات قرار گرفته است (Amani et al, ۲۰۰۹). از ریشه شیرین بیان در اکثر فارماکوپه ها به عنوان دارو یاد شده است. ریشه و ریزوم این گیاه حدود ۴۰۰۰ سال است که استفاده دارویی دارند و در فارماکوپه کشورهایی نظیر آمریکا، چین و سایر کشورها ثبت شده است. از شیرین بیان در طب سنتی آسیا و اروپا برای درمان گاستریت، عفونتهای تنفسی و زخم های پپتیک استفاده می شود(Lehtihet and Nygren, ۲۰۰۰) شیرین بیان دارای ۳۰ گونه است که گلایسریزیا گلابرا ال معروف ترین گونه جنس گلایسریزیا می باشد (zhang and Ye, ۲۰۰۹). شیرین بیان در سه نوع ریشه، عصاره و پودرقابل عرضه به بازارهای هدف می باشد. عمده استفاده شیرین بیان و نیز عصاره آن در سه دسته: صنایع غذایی، صنایع دارویی و صنایع دخانیات است (Isbrucker and Burdock, ۲۰۰۶). ریشه شیرین بیان دارای ترکیبات متعددی نظیر قندهای مختلف)تا ۱۸ درصد(، فلاوونوئیدها، استرول ها، اسیدهای آمینه، صمغ و نشاسته، اسانس های روغنی و ساپونین ها می باشد. عمده ترین ساپونین تری ترپن آن اسید گلیسریزیک یا گلیسریزین به فرمول $C_{42}H_{62}O_{16}$ می باشد که از دو واحد اسید گلوکورونیک و یک مولکول اسید گلیسرتنیک)آگلیکون(تشکیل شده است (Khanahmadi et al, ۲۰۱۳). مشخص شده است که ترکیباتی با خواص آنتی اکسیدانی، دارای اثرات ضد التهابی نیز می باشند. ترکیبات فعال عصاره‌ی شیرین بیان از طریق مهار بیان سایتوکاین های پیش التهابی اثرات ضد التهابی خود را بروز می دهند. عناصر فعال زیستی شیرین بیان به نام های گلیسیریزیک اسید (گلیسیریزین)، گلابریدین، لیکوریتین و لیکوریتیژنین شناخته شده اند (Yu et al, ۲۰۱۵). گلیسریزین یک ترکیب تری ترپنوئید ساپونین است که بخش اصلی گیاه شیرین بیان می باشد و از یک مولکول اسید گلیسریتینیک (glycyrrhetinic acid)و دو مولکول اسید گلوکورونیک(glucuronic acid) تشکیل شده است. گلیسریزینی که به صورت خوراکی داده می شود، به صورت β۱۸-گلیسیریتنیک (β-۱۸ glycyrrhetinic)اسید جذب جریان خون می شود، سپس از طریق سد خونی-مغزی به مغز می رسد. گزارش شده است که این ترکیب اثرات مختلف دارویی از جمله اثرات ضد التهابی و محافظت کننده نورونی دارد (Song et al, ۲۰۱۳).

میکروگلیال ها ماکروفاژهای تخصص یافته ای هستند که به صورت وسیعی در مغز پخش شده اند. میکروگلیال شامل ۱۰-۲۰ درصد کل سلول های گلیال در سیستم عصبی بزرگسالان می باشد. میکروگلیال ممکن است نقش دوگانه ای ایفا کند. شرکت کننده در دفاع از میزبان و همچنین فاگوسیت کردن بافت های تخریب شده و سلول های مرده. میکروگلیال همچنین می تواند التهاب عصبی را از طریق ترشح واسطه های نوروتوکسیک و التهابی در بیماری های مزمن مغز، تقویت کند و باعث دمیلینه شدن شود. این سلول در پاسخ به آسیب مغزی یا التهاب دهنده های عصبی، نسبت به تولید فاکتورهای التهابی شامل نیتریک اکساید(NO)، پروستاگلاندین(PGE۲) E۲، IL-۱β، IL-۶، TNFα با مقادیر بیش از اندازه

اقدام می کند (Block et al, ۲۰۰۷). این فاکتورها به عنوان فاکتورهای مختلف بیماری های تخریب کننده نورونی از جمله بیماری پارکینسون، آلزایمر، تروما، مالتپیل اسکلروزیس و ایسکمی مغزی شناخته می شود.کاهش واسطه های التهابی در میکروگلیال می تواند شدت این اختلالات را کاهش دهد. این نتایج نشان می دهد که میکروگلیال فعال یک منبع سلولی بزرگ از فاکتورهای التهابی هستند که باعث آسیب به سیستم عصبی مرکزی می شود. بنابراین کنترل فعال شدن میکروگلیال به عنوان یک استراتژی مهم برای درمان بسیاری از بیماری های التهابی عصبی در نظر گرفته شده است (Dong et al, ۲۰۱۳).

از آن جایی که ماکروفاژها نقش اساسی در آغاز، دوام و بر طرف شدن التهاب دارند، هدف رایج مطالعات ضد التهابی می باشند. بیماری‌های التهابی تحلیل برنده سیستم اعصاب مرکزی یکی از معضلات جامعه پزشکی را تشکیل میدهد و شواهد محکمی دال بر تاثیر التهاب بر پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها از قبیل آلزایمر،پارکینسون و بیماری MS و زوال مغز و هم چنین سکته مغزی، آسیب‌های مغزی و مننژیت وجود دارد. البته روند و علت بیماری زایی این بیماریها مختلف بوده ولی در تمام این بیماریها التهاب مغز نقش عمده‌ای را ایفا می‌کند و شواهد نشان میدهد که مسدود ساختن روند التهاب هم بر آغاز و هم بر کاهش علائم این بیماری‌ها میتواند موثر باشد (Brown, ۲۰۰۷). تولید بیش از حد مدیاتورهای التهابی از قبیل نیتریک اکساید، پروستاگلاندین E_2 و سایتوکاین‌های پیش التهابی از جمله عامل نکروز توموری α و اینترلوکین β از میکروگلیال فعال شده عامل بسیاری از التهابات غیر قابل کنترل در بیماری‌های نورودژنراتیو می‌باشد و به نظر می‌رسد که درمان با عوامل ضدّ التهابی و آنتی اکسیدانی از جمله عصاره‌های گیاهی ممکن است روند پیشرفت بیماری‌های نورودژنراتیو را از طریق مهار فعال سازی میکروگلیال کنترل نماید (Jung et al, ۲۰۰۹). میکروگلیال به طور معمول در مرحله استراحت بوده که نسبتا غیر فعال اند. زمانیکه آسیب یا پاتوژنی را شناسایی کنند فعال میشوند؛ تجمع میکنند، تقسیم میشوند، مهاجرت میکنند، فاگوسیت میکنند، آنتی ژن ها را به T cells عرضه میکنند، متابولیت های فعال اکسیژن و نیتروژن تولید میکنند و ژن‌ها و پروتئین های جدیدی شامل iNOS، COX-۲، MHC و در نهایت بعضی از پروتئین های دخیل در سیستم کمپلمان تولید میکنند (Brown and Bal-Price, ۲۰۰۳). بیشتر بیماری های مغز توام با التهاب است که در آن تولید سایتو کاین های پیش التهابی از جمله نیتریک اکساید (به صورت عمده از iNOS) و یا سوپر اکسید + H_2O_2 (از NOX)، اینترلوکین-۶ و اینترلوکین-۱بتا افزایش پیدا می‌کند (Zekry et al, ۲۰۰۳).

مطالعات پیشین صورت گرفته در این زمینه به شرح زیر می باشد:

Chandrasekaran و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه ای درباره ی اثراتِ مهاری عصاره‌ی ریشه Glycyrrhiza glabra و عناصر آن(glabridin, glycyrrhizin, isoliquiritigenin) بر روی تولیدات COX و LOX در جهت فهم عملکرد ضدّ التهابی آن در سلول‌های ماکروفاژ موش (J۷۷۴A.۱) و نوتروفیل انسان (HL-۶۰) انجام شد. نتایج بیانگر این بود که G. glabra و glabridin به طور معناداری, PGE ۲ (COX) TXB ۲ (LOX) LTB ۴

را مهار کرد، در حالیکه isoliquiritigenin اثرات مهاری را فقط بر روی COX نشان داد (Chandrasekaran et al, ۲۰۱۱).

Sun Hong Park و همکاران (۲۰۱۰) اثرات مهاری Glabridin را بر فعالیت میکروگلیا بررسی کرده اند. Glabridin یکی از ترکیبات فلاونوئیدی موجود در ریشه شیرین بیان است که اثرات ضد التهابی شناخته شده‌ای دارد. نتیجه این تحقیق این بود که Glabridin تولید مدیاتورهای التهابی را که شامل NO و TNF-α می شود، در سلول های BV-۲ تحریک شده با LPS را کاهش می دهد (Park et al, ۲۰۱۰).

Song و همکاران (۲۰۱۳) اثر Glycyrrhizin را بر التهاب عصبی و از دست رفتن حافظه برروی موش های C۵۷BL/۶ بررسی کردند. دراین مطالعه دوزهای مختلفی از GRZ (گلیسیریزین) قبل ازتزریق LPS به صورت دهانی خورانده شد. ۲۴ ساعت بعد از تزریق LPS، GRZ باعث کاهش TNF-α و همچنین باعث کاهش بیان پروتئین iNOS شد. این مطالعه تأیید کرد که ممکن است بتوان ازGRZ به عنوان یک دارو برای بیماری‌های نورودژنراتیو استفاده کرد (Song et al, ۲۰۱۳).

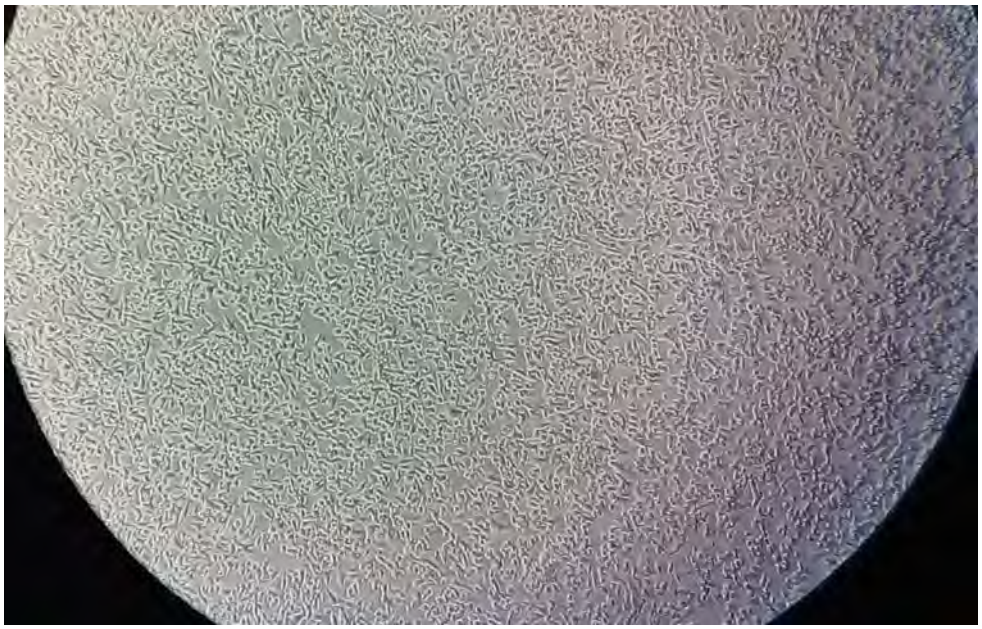
Liu و همکاران (۲۰۱۴) اثرات ضدّ التهابی اسید گلیسیریزیک وفلاونوئیدهای شیرین بیان را بر سلول های ماکروفاژ RAW ۲۶۴.۷ تحریک شده با لیپوپلی ساکارید بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که اسید گلیسیریزیک به طور معنا داری ترشح IL-۱β , IL-۳ , IL-۵ , IL-۶ , IL-۱۰ , IL-۱۲ (p۴۰), IL-۱۲ (p۷۰), IL-۱۳, Eotaxin, TNF-α, را مهار کرد (Liu et al, ۲۰۱۴).

Ji-Yeon Yu و همکاران (۲۰۱۵) اثرات ضدّ التهابی عصاره ی شیرین بیان را در آسیب کبدی و اثرات ترکیبات شیرین بیان, glycyrrhizic acid(GA), Liquiritin(LQ), Liquiritigenin(LG) را در سلول های میکروگلیال ملتهب با LPS بررسی کردند. LQ، GA و LG مدیاتور های پیش التهابی از قبیل TNF-α, COX- ۲, iNOS, IL-۱β, IL-۶ را در سلول های BV-۲ مهار کردند (Yu et al, ۲۰۱۵).

روش تحقیق

سلول‌های رده BV-۲ در محیط کشت حاوی DMEM همراه با ۱۰٪ FBS و ۱۰۰ پنیسیلین و ۱۰۰ استرپتومایسین در انکوباتور CO۲ دار با شرایط (دما ۳۷° و CO۲۰۵/۰ و رطوبت ۹۵٪) کشت داده شد (شکل ۱). سلول ها از موسسه پاستور حاوی ۵ سلول با درصد زنده مانی ۹۶٪، خریداری شد. سلول ها را پس از کشت به مولتی ول منتقل کرده (هر خانه ۱۰۰۰۰۰ سلول) و در شش گروه و هر گروه سه تکرار آزمایش را انجام دادیم. از شش گروه، در پنج تای آن با لیپوپلی ساکارید التهاب ایجاد شد. به چهار گروه دوز های افزایشی گلیسیریزین با غلظت ۱۰۰ میکرومول (بترتیب حاوی ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۲۴ و ۰/۸ میکروگرم) اضافه شد. دو گروه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که یکی حاوی سلول ها بدون گلیسیریزین و لیپوپلی ساکارید بود و دیگری حاوی سلول های ملتهب با لیپوپلی ساکارید بدون گلیسیریزین بود. سپس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار دادیم. . جهت تعیین میزان اینترلوکین-۱ بتا از کیت الایزا استفاده کردیم. در این روش

مقدار اینترلوکین-۱ بتا موجود در سوپرناتانت کشت سلول با روش ساندویچ الایزا تعیین گردید، در نهایت به روش اسپکتوفوتومتری با استفاده از میکروپلیت ریدر، جذب نمونه‌ها را در ۴۵۰ نانومتر خواندیم. آنالیز آماری با روش One way ANOVA انجام شد. (p<۰.۰۵ معنی دار)

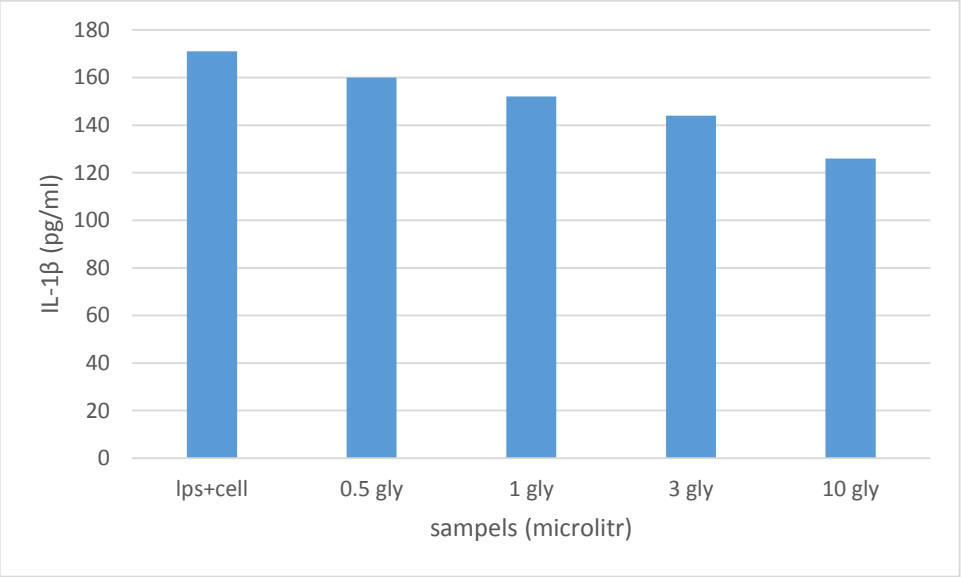


شکل ۱: سلول ها قبل از پاساژ

یافته ها

در مطالعه حاضر، همانطور که از نمودار نتایج بدست آمده مشخص است، کاهش معنی داری در میزان انترلوکین ۶ تولیدی در مایع رویی کشت سلول های BV-۲ مجاور شده با لیپوپلی ساکارید فقط در تیمارهایی با دوزهای ۳ و ۱۰میکرولیتر گلیسیریزین مشاهده گردید و در سایر تیمارها تفاوت معنی داری مشاهده نشد که نتایج حاضر نشان دهنده ی یک اثرات التهابی وابسته به دوز می باشد.

*P value < ۰.۰۵



نمودار ۱: مقایسه اثر دوز های مختلف گلیسیریزین

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به افزایش بیماری های التهابی سیستم عصبی مرکزی، مطالعات زیادی در این باره صورت گرفته است. مهار تولید فاکتورهای پیش التهابی در سلول های میکروگلیا به عنوان یک روش جدید و مهم جهت جلوگیری از بیماری های سیستم عصبی مرکزی بوجود امده تحت شرایط نورودژنراتیو محسوب می شود. بر این اساس تحقیقات و ازمایشات زیادی در این مورد انجام شده است.. شیرین بیان به عنوان یک گیاه دارویی مهم در ایران و سراسر جهان شناخته شده است که مطالعات زیادی در مورد خواص ضد التهابی آن در بسیاری از بیماری ها انجام شده است. شیرین بیان دارای ترکیبات شیمیایی مختلفی از جمله: گلیسیریزین، کومارین، فیتواستروژن، لیکوئیرتین، ایزولیکوئیرتین و گلابریدین می باشد. گلیسیریزین به عنوان مهم ترین جزء گیاه شیرین بیان در مطالعات متعددی مورد استفاده قرار گرفته است.

آزمایشات مشابه نیز در این زمینه بر روی سلول های BV-۲ انجام شده است که از مواد گیاهی و یا بیولوژیک متنوعی

جهت ارزیابی کاهش التهاب استفاده شده است، و از این جهت سلول عصبی مذکور یک سلول مناسب جهت انجام تحقیقات آزمایشگاهی بر روی التهاب در بافت عصبی محسوب می شود (Yu et al,۲۰۱۵).

در سال ۲۰۱۵ Yu و همکاران اثرات ضدّ التهابی ترکیبات شیرین بیان glycyrrhizicacid(GA) Liquiritin(LQ), Liquiritigenin(LG), را در سلول های میکروگلیا ملتهب با لیپوپلی ساکارید بررسی کردند . LQ, GA وLG مدیاتور های پیش التهابی از قبیل TNF-α, IL-۶ ,COX- ۲ ,iNOS را در سلول های BV-۲ مهار کردند (Yu et al, ۲۰۱۵).

همچنین در مطالعه‌ای توسط Sun Hong Park و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثرات مهاری Glabiridin که یکی از ترکیبات فلانوئیدی موجود در ریشه شیرین بیان است بر فعالیت میکروگلیال بررسی شد. نتیجه این تحقیق این بود که Glabridin تولید مدیاتورهای التهابی را که شامل نیتریک اکساید و TNF-α میشود، در سلول های BV-۲ تحریک شده با لیپوپلی ساکارید، کاهش داد (Park et al, ۲۰۱۰).

در سال ۲۰۱۲ Chu و همکاران روی اثرات مهاری Licochalcone (یکی از ترکیبات موجود درریشه گیاه شیرین بیان) بر پاسخ التهاب ناشی از LPSبر سلول های ماکروفاژ۲۶۴.۷ RAW کار کرده و برای سنجش TNF-α، IL-۶ وIL-۱β از کیت های الایزا استفاده کردند. و سپس نشان دادند که این ترکیب می تواند سطح TNF-α، IL-۶ و IL-۱β را در محیط In Vitro و In Vivo کاهش دهد (Chu X et al, ۲۰۱۶).

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۶، اثر تنظیمی ویتامین D بر روی تولید سایتوکاینهای پیش التهابی در سلول های BV-۲ بررسی شد که نتیجه این مطالعه نشان دهنده اثر مهاری ویتامین D بر روی تولید نیتریک اکساید و سایر مولکولهای پیش التهابی است (Dulla et al, ۲۰۱۶)

نتایج حاصل از آزمایشات محققین، حاکی از نقش ضدالتهابی جزء گلیسریزین و سایر اجزای موجود در ریشه گیاه شیرین بیان بر سلول های مورد مطالعه بوده است. مطالعه حاضر نیز در همین راستا، همانطور که از نتایج بدست آمده مشخص است، کاهش معنی داری در اینترلوکین-۱ بتای تولیدی در مایع رویی کشت سلول های BV-۲ مجاور شده با لیپوپلی ساکارید فقط در تیمارهایی با حجم های ۳ و ۱۰ میکرولیتر گلیسیریزین (بترتیب حاوی ۰/۲۴ و ۰/۸ میکروگرم) مشاهده گردید که نتایج حاضر نشان دهنده ی وجود یک اثر ضد التهابی وابسته به دوز می باشد.

بنابراین مطالعه حاضر هم راستا با نتایج تحقیق Yu و همکاران در سال ۲۰۱۵ است، با این تفاوت که روش مورد استفاده آن ها PCR و روش به کار رفته در این مطالعه الایزا می باشد. بدین ترتیب اثر گلیسیریزین بر میزان اینترلوکین-۱ تولیدی در سلول‌های BV-۲ ملتهب شده با لیپوپلی ساکارید یک اثر مهاری می باشد که موجب کاهش التهاب می گردد.

منابع

Amani, M., Hosein, R. S. G. N. M., & Kashani, A. M. (۲۰۰۵). Optimal Extraction of Glycyrrhetinic Acid Froml icorice Root. Journal of Food technology, ۳(۴), ۵۷۶-۸۰.

Block, M. L., Zecca, L., & Hong, J. S. (۲۰۰۷). Microglia-mediated neurotoxicity: .uncovering the molecular mechanisms. Nature Reviews Neuroscience, ۸(۱), ۵۷

Brown, G. C., & Bal-Price, A. (۲۰۰۳). Inflammatory neurodegeneration mediated by nitric oxide, glutamate, and mitochondria. Molecular neurobiology, ۲۷(۳), ۳۲۵-۳۵۵

Chandrasekaran, C. V., Deepak, H. B., Thiyagarajan, P., Kathiresan, S., Sangli, G. K., Deepak, M., & Agarwal, A. (۲۰۱۱). Dual inhibitory effect of Glycyrrhiza glabra (GutGard™) on COX and LOX products. Phytomedicine, ۱۸(۴), ۲۷۸-۲۸۴.

Chu X, Ci X, Wei M, Yang X, Cao Q, Guan M, Li H, Deng Y, Feng H, Deng X. Licochalcone a inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response in vitro and in vivo. Journal of agricultural and food chemistry. ۲۰۱۲ Apr ۶;۶۰(۱۵):۳۹۴۷-۵۴.

Dong, X. Q., Du, Q., Yu, W. H., Zhang, Z. Y., Zhu, Q., Che, Z. H., ... & Chen, J. (۲۰۱۳). Anti-inflammatory effects of oxymatrine through inhibition of nuclear factor–kappa b and mitogen-activated protein kinase activation in lipopolysaccharide-induced BV۲ microglia cells. Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR, ۱۲(۱), ۱۶۵.

Dulla, Y. A. T., Kurauchi, Y., Hisatsune, A., Seki, T., Shudo, K., & Katsuki, H. (۲۰۱۶). Regulatory Mechanisms of Vitamin D۳ on Production of Nitric Oxide and Pro-inflammatory Cytokines in Microglial BV-۲ Cells. Neurochemical research, ۴۱(۱۱), ۲۸۴۸-۲۸۵۸.

Isbrucker, R. A., & Burdock, G. A. (۲۰۰۶). 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. Regulatory Toxicology and Pharmacology, ۴۶(۳), ۱۶۷-۱۹۲.

Jung, H. W., Jin, G. Z., Kim, S. Y., Kim, Y. S., & Park, Y. K. (۲۰۰۹). Neuroprotective

effect of methanol extract of Phellodendri Cortex against ۱-methyl-۴-phenylpyridinium (MPP+)-induced apoptosis in PC-۱۲ cells. Cell biology international, ۳۳(۹), ۹۵۷-۹۶۳.

Khanahmadi, M., Naghdi Badi, H., Akhondzadeh, S., Khalighi–Sigaroodi, F., Mehrafarin, A., Shahriari, S., & Hajiaghaee, R. (۲۰۱۳). A Review on Medicinal Plant of Glycyrrhiza glabra L. Journal of Medicinal Plants, ۲(۴۶), ۱-۱۲

. Lehtihet, M., & Nygren, A. (۲۰۰۰). Licorice--an old drug and currently a candy with metabolic effects. Lakartidningen, ۹۷(۳۶), ۳۸۹۲.

Liu, Z., Zhong, J. Y., Gao, E. N., & Yang, H. (۲۰۱۴). Effects of glycyrrhizin acid and licorice flavonoids on LPS-induced cytokines expression in macrophage. Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica, ۳۹(۱۹), ۳۸۴۱-۳۸۴۵.

Park, S. H., Kang, J. S., Yoon, Y. D., Lee, K., Kim, K. J., Lee, K. H., ... & Kim, H. M. (۲۰۱۰). Glabridin inhibits lipopolysaccharide-induced activation of a microglial cell line, BV-۲, by blocking NF-κB and AP-۱. Phytotherapy Research, ۲۴(S۱).

Song JH, Lee JW, Shim B, Lee CY, Choi S, Kang C, Sohn NW, Shin JW. Glycyrrhizin alleviates neuroinflammation and memory deficit induced by systemic lipopolysaccharide treatment in mice. Molecules. ۲۰۱۳ Dec ۱۷;۱۸(۱۲):۱۵۷۸۸-۸۰۳.

Yu, J. Y., Ha, J. Y., Kim, K. M., Jung, Y. S., Jung, J. C., & Oh, S. (۲۰۱۵). Anti-inflammatory activities of licorice extract and its active compounds, glycyrrhizic acid, liquiritin and liquiritigenin, in BV۲ cells and mice liver. Molecules, ۲۰(۷), .۱۳۰۴۱-۱۳۰۵۴.

Zekry, D., Epperson, T. K., & Krause, K. H. (۲۰۰۳). A role for NOX NADPH oxidases in Alzheimer's disease and other types of dementia?. IUBMB life, ۵۵(۶), ۳۰۷-۳۱۳.

Zhang, Q., & Ye, M. (۲۰۰۹). Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-.Cao (licorice). Journal of Chromatography A, ۱۲۱۶(۱۱), ۱۹۵۴-۱۹۶۹

.