Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 15:38 IRDT on Monday July 25th 2016

مجله دانشکده بهداشت وانستیتوتحقیقات بهداشتی
بهار ۱۳۹۵، دوره ١٤، شماره اول ، صفحه ۹۰- ۸۱

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر عصاره الکلی و فراکسیون های زعفران با کلروکین روی پلاسمودیوم برگئی در موش سوری در شرایط in vivo

سمیه عابدی مدیسه: کارشناس، گروه قارچ و انگل شناسی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نادر پسته چیان: دانشیار، گروه قارچ و انگل شناسی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
سید مصطفی قنادیان: استادیار، مرکز تحقیقات فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران- نویسنده رابط: ghannadian@gmail.com
مهدی ناطق پور : استاد، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۱۰ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۴/۱۱/۷

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به این که گیاهان دارویی یک منبع وسیع تهیه داروها و پایه اصلی توسعه ترکیبات دارویی جدید از جمله مقاومت داروئی به درمان‌های رایج ضد مالاریا می‌باشند در این مطالعه اثر عصاره الکلی و فراکسیون‌های زعفران بر مالاریا به طور تجربی بر روی موش سفید آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت و با کلروکین مقایسه شد.

روش کار: در این مطالعه تعداد ٦٥ عدد موش سوری نر معمولی که از نظر جنس ، وزن و سن در شرایط مشابهی قرار داشتند، به طور تصادفی به ۱۳ گروه ۵ تایی تقسیم شدند، که ۱۱ گروه از آن با پلاسمودیوم برگئی آلوده گردیدند و با عصاره زعفران و فراکسیون‌های آن و کلروکین با روش پیشنهادی (Ryley and Petrs 1970) تحت درمان قرار گرفتند. در این روش پس از مشاهده انگل در خون محیطی به جز گروههای شاهد و دریافت کننده پلاسبو با دوزهای ۳۵۰، ۷۰۰ و ۱۰۵۰میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از عصاره های آبکی، الکلی و اتیل استاتی و غلظت ۲۰ mg /kg کلروکین و مقدار۵۰ mg/kg شلاتور آهن تحت درمان قرار گرفتند. موثرترین غلظت در بین غلظت های مورد استفاده مشخص گردید. درمان به صورت خوراکی و در هر مرحله تا ٤روز ادامه داشت. میزان کاهش پارازیتمی در گروه‌های درمان شده با عصاره در روزهای چهار و هفت با گروه‌های شاهد، دریافت کننده دارونما و کلروکین مشخص گردید. گروه ۱۳ در این مطالعه بدون هیچگونه تزریقی از انگل و دارو بوده، صرفا جهت کنترل مرگ و میر تصادفی موش‌ها در حیوانخانه نگهداری شد.

نتایج: تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزارSPSS و آزمون t انجام گردیده و موثرتر ین غلظت در بین غلظت ها ی مورد استفاده مشخص شد. بررسی نشان میدهد که غلظت ۷۰۰ mg/kg اتیل استاتی و غلظت ۳۵۰ mg/kg و ۷۰۰ از عصاره گیاهی به نحو معنی داری باعث کاهش میزان پارازیتمی در روز هفت در موش‌های آلوده شده است (p <۰/۰۵).

نتیجه گیری: مطالعه نشان می دهد تاثیر عصاره الکلی زعفران بر روی پلاسمودیوم برگئی مورد توجه است.

واژگان کلیدی : پلاسمودیوم برگئی، زعفران، درمان، کلروکین، موش سوری

مقدمه

مالاریا یک بیماری عفونی است که توسط تک یاخته انگلی از جنس پلاسمودیوم فالسیپاروم، ویواکس، مالاریه و اواله ایجاد شده و از طریق گونه‌های بخصوصی از پشه‌های آنوفل ماده منتقل می شود. این بیماری یکی از مهمترین بیماری‌های عفونی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به شمار می رود. در اواسط دهه۱۹۵۰ میلادی پیش بینی شده بود که قطعا بیماری مالاریا ریشه کن می‌شود. اما در دهه۱۹۹۰ بیماری مزبور در سراسر مناطق استوایی بصورت واگیر در آمد (Azadbakht 2008).

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 15:38 IRDT on Monday July 25th 2016

از نظر شیوع بیماری و مناطق درگیر، کشور ایران از کانون‌های آندمیک بیماری محسوب می گردد (Zare and Dalimi 2003; Raeisi et al. 2005). از نظر آمار جهانی، هر ساله حدود ۲۱۹ میلیون ابتلا و بالای ۱ میلیون مرگ بر اثر مالاریا گزارش می‌شود و این انگل به عنوان عامل مستقیم مرگ ۸۶٪ از کودکان زیر پنج سال و عامل غیر مستقیم مرگ بر اثر عفونت های تنفسی، بیماری‌های اسهالی و سو تغذیه می باشد. کشور جمهوری اسلامی ایران بر طبق تقسیم بندی سازمان جهانی بهداشت در مرحله حذف مالاریا قرار گرفته است و در منطقه مدیترانه شرقی جزو چهار کشوری است که روند رو به کاهش مالاریا را داشته است (افغانستان، جمهوری اسلامی ایران، عراق و عربستان سعودی)(WHO 2012; Ouattaraa et al. 2006).

از این رو برای تولید واکسن مالاریا بعنوان یکی از روش‌های پیشگیری از ابتلا به بیماری، پژوهش‌های فراوانی انجام شده است، اما هنوز شیمی درمانی به عنوان مهار اصلی در کنترل مالاریا مطرح می‌باشد، که با کاهش اثربخشی داروهای شیمیایی خطر بزرگی این روش درمانی را تهدید می‌کند. علاوه بر این، مقاومت خودبه خودی این انگل به ویژه پلاسمودیوم فالسیپاروم در برابر داروهای ضد مالاریا مثل کلروکین، کنترل بیماری را سخت تر می‌کند و منجر به تداوم انتقال بیماری می‌گردد (Ouattaraa et al. 2006). بطور مثال بر اساس یافته‌های به دست آمده در یک مطالعه آماری در استان‌های جنوبی ایران تنها ۲۱/۵٪ بیماران مبتلا به مالاریای فالسیپاروم به داروی کلروکین پاسخ بالینی و انگل شناسی مناسب و کافی داده اند (Raeisi et al. 2005) لذا کشف و یا تولید داروهای جدیدی که بتواند در درمان سویه های مقاوم موثر بوده و از عوارض جانبی کمتری نیز به ویژه در کودکان و زنان حامله برخوردار باشند مثل داروهای با منشاء طبیعی (Natural sources) با اهمیت به نظر می‌رسد. لذا با توجه به دانش موجود در طب اسلامی بررسی اثر آنتی مالاریائی گیاه زعفران که در طب رضوی برای درمان تب نوبه توصیه گردیده، پیشنهاد می‌گردد (Soruroddin 2007). البته از دیدگاه فارماکولوژیک تا کنون مطالعه‌ای جهت بررسی اثر آنتی پلاسمودیوم این گیاه بطور برون سلولی یا درون سلولی انجام نشده است لذا بررسی اثرات آنتی مالاریائی این گیاه باید ابتدا بصورت برون تنی انجام گردد.

طبق مطالعات انجام شده زعفران از خانوده زنبق اثرات درمانی قابل توجهی بر روی عوارض مالاریا نظیر: لرز، تب، تعریق، کاهش جریان خون، کاهش اکسیژن بافت ها، مالاریای مغزی، پاره شدن RBC های آلوده و غیرآلوده، کم خونی، نکروز توبول ها به علت رسوب گلبول های قرمز آلوده و کمبود اکسیژن کلیوی، یرقان و فقدان ادرار داشته است. (Kianbakht 2008; Abdullaev and Espinosa-Aguirre 2004; Wensdorfer and Sir Ian 1988; Katariya et al. 2011; Osim et al. 1991; Sharma et al. 2008). از طرفی در احادیث شریفه نیز از امام هادی علیه السلام نقل شده که می فرمایند: در روز نوبه فالوده ای از عسل و زعفران به بیمار بخورانید، سعی کنید که زعفران در آن فالوده بسیار باشد ولی احتیاط کنید که بیمار در آن روز غذای دیگری نخورد (Soruroddin 2007). از طرف دیگر با توجه به مطالعات فارماکولوژیک اخیر عصاره یا مواد موثره به دست آمده از خانواده زنبقیان (Iridaceae) فعالیت های ضدتک یاخته از خود نشان داده اند بطور مثال *Crocosmia* و *Crocosmiiflora* بعنوان داروهای آنتی لیشمانیاز بکار رفته‌اند. در طب سنتی آفریقا نیز کلاله گیاه *Crocosmia aurea* از خانواده زنبقیان که در پاره‌ای مناطق بعنوان جایگزین زعفران استفاده می‌شود، در درمان مالاریا به کار می-رود(Sandra et al. 2008; Lucena et al. 2007).

لذا با توجه به نیاز مبرم جامعه پزشکی به مطالعه و شناسائی داروهای جدید موثر روی انگل مالاریا با حداقل عوارض جانبی و بنا بر سخن امام هادی علیه السلام بر تاکید استفاده از این ماده در تسکین علایم مالاریا و اینکه زعفران از گیاهان بومی و با ارزش اقتصادی ایران است و با توجه به اینکه این بررسی اولین مطالعه به روش in vivo با استفاده از گیاه مذکور در درمان تجربی مالاریا می باشد، این مطالعه قصد دارد تا اثر عصاره الکلی کلاله زعفران (*Crocus*

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 15:38 IRDT on Monday July 25th 2016

sativus L) و فراکسیونهای آن بر پلاسمودیوم برگئی در موش‌های سوری در گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و طی یک همکاری مشترک با آزمایشگاه تحقیقاتی مالاریا در واحد تک یاخته شناسی گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران بررسی نماید.

روش کار

۶۵ عدد موش سوری نر معمولی که از نظر جنس، وزن و سن در شرایط مشابهی قرار داشتند را به طور تصادفی به ۱۳ گروه ۵ تایی شامل گروه کنترل، گروه شاهد، گروه تیمار با کلروکین، گروه‌های تیمار با عصاره زعفران و فراکسیون-های آن تقسیم نمودیم. جهت تهیه نمونه، زعفران از یکی از شرکت‌های معتبر تهیه شده و سپس در گروه فارماکوگنوزی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان شناسائی و تایید گردید. انگل آلوده کننده از نوع پلاسمودیوم برگه ای حساس به کلروکین هندی می باشد.

درمان با استفاده از روش پیشنهادی (Ryley and Petrs 1970) در گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گرفت. این روش بر مبنای شروع درمان پس از مشاهده پارازیتمی در خون محیطی می‌باشد. درمان به صورت خوراکی و تا ٤ روز ادامه دارد. روزانه از انتهای دم موش‌ها خونگیری به عمل آمده پس از تهیه گسترش نازک خون و رنگ آمیزی باگیمسا میزان پارازیتمی تعیین می گردید. به ۱۱ گروه اول از موشها، انگل پلاسمودیوم برگه‌ای (10^6 گلبول قرمز آلوده، سوسپانسیون شده در سرم فیزیولوژی به حجم نهایی ۰/۲ میلی لیتر) به صورت داخل جلدی تزریق کرده، پس از مشاهده پارازیتمی در خون محیطی درمان آغاز می-شود Motevalli Haghi 2004;Nateghpour et al.) (2008 با توجه به عدد LD50 داخل صفاقی زعفران (LD50 ip.=3.5 g/Kg) (Mohajeri et al. 2015)، دوزهای مختلف عصاره گیاه ۱۰٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ آن شامل دوزهای ۳۵۰، ۷۰۰ و ۱۰۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به مدت چهار روز به گروه‌های پنج تایی موش از طریق خوراکی داده شد (گروه ۱-۹). به گروه۱۰ مقدار mg/kg ۲۰ روزانه و به مدت ٤ روز کلروکین، بصورت خوراکی داده شد. به گروه ۱۱ (گروه کنترل شلاتور آهن) مقدار mg/kg ۵۰ روزانه و به مدت ٤ روز فلاونوئید کوارستین، بصورت خوراکی داده شد. به گروه ۱۲ (گروه شاهد) نرمال سالین به صورت خوراکی داده شد. گروه ۱۳ به منظور کنترل مرگ و میر، بدون تزریق انگل و دارو در حیوان خانه نگهداری شد. جهت تعیین PBF روی گسترش نازک خون رنگ آمیزی گیمسا انجام داده و طبق روش (Peter and Rabinson 1965) اسلایدهای رنگ آمیزی شده را با میکروسکوپ دو چشمی و عدسی روغنی۱۰۰× و چشمی ۱۰× و استفاده از یک کانتر، ۱۰ فیلد میکروسکوپی شمارش و درصد آلودگی مشخص می‌گردد. سپس درصد گلبول‌های قرمز خون آلوده شده با انگل در گروه‌های آزمایش و کنترل تعیین شد (Motevalli Haghi 2004; Nateghpour et al. 2008).

موثرترین غلظت دارو، غلظتی بود که میزان پارازیتمی را به کمترین حد در مقایسه با دیگر غلظتها کاهش داده، اثر سمی روی موشها نداشته باشد. بررسی موش‌ها از نظر میزان درصد پارازیتمی تا روز ۲۱ و از نظر مرگ و میر تا روز ۳۵ ادامه داشت. نتایج پس از جمع آوری با نرم افزارSPSS و T-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Motevalli Haghi 2004; Nateghpour et al. 2008). جهت اطمینان از عدم سمیت عصاره الکلی تعداد ۱۰ موش سالم انتخاب و در یک گروه قرار گرفتند. به این موشها به مدت دو هفته به طور مداوم از بالاترین غلظت گیاه دارو تزریق گردید. در پایان پیگیری موشها به مدت ۵۰ روز ادامه یافت و در این مدت موشها از نظر اسهال، کاهش وزن، شفافیت و تیرگی چشم، نکروز در محل تزریق و مرگ و میر مورد بررسی قرار گرفتند

.

موارد اخلاقی: همه حیوانات با توجه به اصول و مبانی بین-المللی پذیرفته شده در مراقبت و استفاده از حیوانات

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 15:38 IRDT on Monday July 25th 2016

آزمایشگاهی که در سال ۲۰۱۰ منتشر شده است و اصول کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد مطالعه قرار گرفتند. (McGrath et al. 2010)

نتایج

در این مطالعه میزان درصد پارازیتمی گروه‌های تحت مطالعه در روزهای مختلف از روز صفر (روز قبل از درمان) تا روز ۲۸ تعیین شده و در روزهای ثابتی مثل روز ٤ (٢٤ ساعت پس از آخرین دوز درمانی)، روز ۷ (۳ روز پس از قطع درمان) با هم مقایسه گردیدند (جدول ۱ و جدول ۲ و جدول ۳). درگروهی که کلروکین به عنوان درمان تجویز شده است (گروه ۱۰ دریافت ۲۰mg/kg کلروکین) میزان پارازیتمی به تدریج کاهش یافته، به گونه ای که در روز ٤ این میزان به ۰/۳٪ و در روز ۷ به ۰/۷۷٪ رسیده است. میزان پارازیتمی در گروه ۱۲ (بدون درمان) در روز ٤، ٦/٦٪ بوده است که تفاوت معنی‌داری با گروه۱۰ دارد ($p<0/05$). میزان افزایش پارازیتمی برای گروه ۱۲ در روز ۷، ۱۱/٦٪ بوده است. متوسط درصد پارازیتمی در گروه‌های درمان شده با عصاره تام، عصاره اتیل استاتی و آبکی کلاله زعفران در جدول ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. متوسط درصد پارازیتمی در گروه چهارم که با غلظت ۳۵۰ mg/kg عصاره اتیل استاتی کلاله زعفران درمان شده اند، در روز ٤ ، ۸٪ بوده است و در روز ۷ تمام موش‌ها مرده اند. متوسط درصد پارازیتمی در گروه دهم که با کوارستین با غلظت mg/kg ۵۰ درمان شده اند، در روزهای ٤ و ۷ به ترتیب ۱۳/۲۵٪ و ۳۱٪ بوده است.

مقایسه طول عمر موش‌ها در گروه‌های درمانی، کنترل و غیرآلوده صورت پذیرفت. در این مقایسه میزان مرگ و میر در گروه موش‌هایی که با کلروکین درمان شدند کمتر از سایر گروه‌ها بوده، متوسط عمر آنها ۲۸ روز محاسبه گردید (نمودار –۳). در سایر گروه‌ها، گروه ۷ (درمان شده با عصاره آبکی کلاله زعفران با غلظت ۳۵۰ mg/kg) بعد از کلروکین دارای بیشترین متوسط طول عمر بوده، و متوسط عمر در این گروه ١٤ روز بود و متوسط بقا در گروه کنترل برابر با ۱۲ روز بوده است.

میانگین بقای گروه‌های درمان شده با عصاره تام، اتیل استاتی و آبکی کلاله زعفران بر حسب روز در جدول ٤ نشان داده شده است. گروه درمان شده با کوارستین با غلظت ۵۰mg/kg، دارای میانگین بقای ۹ روز بوده است. لازم به ذکر است تا پایان مطالعه (به مدت ۳۵ روز) هیچ مرگ و میری در گروه غیرآلوده که به منظور کنترل مرگ و میر تصادفی موش‌ها در حیوانخانه نگهدار ی می شدند، مشاهده نشد.

بحث

هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره الکلی و فراکسیون‌های زعفران روی پلاسمودیوم برگئی در موش سوری در مقایسه با کلروکین بود. کلروکین به عنوان یک داروی استاندارد توانست میزان درصد پارازیتمی را در موش‌ها در روزهای ٤ و ۷ به صفر برساند و بقا را در موش ها افزایش دهد. در گروه ۱۲ (بدون درمان) میزان درصد پارازیتمی روند افزاینده‌ای داشت به گونه ای که در روز ٤ و ۷ بیشترین میزان پارازیتمی نسبت به گروه‌های تحت درمان با زعفران داشته است.

کلروکین به عنوان یک داروی استاندارد در درمان مالاریا توانست میزان پارازیتمی را در روزهای ٤ و ۷ به صفر برساند. در گروه ۱۳ که از هیچ گونه دارویی جهت درمان استفاده نشد، میزان پارازیتمی روند افزاینده ای داشت. بررسی‌های به دست آمده نشان می‌دهد که دوزهای متفاوت فراکسیون‌های زعفران اثرات مختلفی از خود نشان داده اند. در میان غلظت-های مورد استفاده عصاره آبکی با غلظت ۱۰۵۰ mg/kg میزان پارازیتمی را در روز ٤ به صورت معنی‌داری کاهش داده است. عصاره اتیل استاتی ۷۰۰mg/kg و عصاره آبکی ۳۵۰ و ۷۰۰ mg/kg در روز هفتم به طور معنی داری میزان پارازیتمی را کاهش داده است ($p<0/05$).

بررسی طول عمر موش‌ها در طول دوره مطالعه (۲۸روز) نشان می‌دهد که متوسط عمر اکثر گروه‌های تحت درمان به جز گروه درمان شده با کلروکین شبیه به گروه شاهد بوده

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 15:38 IRDT on Monday July 25th 2016

است. متوسط طول عمر گروهی که عصاره آبکی mg/kg ۱۰۵۰ دریافت کرده است از گروه شاهد نیز کمتر می‌باشد که می‌توان علت را افزایش سمیت در دوز mg/kg ۱۰۵۰ عصاره آبکی دانست. عصاره آبکی mg/kg ۳۵۰ وتام ۷۰۰mg/kg به ترتیب بیشترین متوسط طول عمر را داشته اند و می تواند نشان دهنده سمیت کمتر این دو دوز نسبت به سایر عصاره های درمانی باشد.

در مطالعه ای که بر روی عصاره الکلی دانه اسپند بر پلاسمودیوم برگئی در موش سوری انجام گرفت عصاره با غلظت mg/kg ۱۰۰ تاثیر مناسبی در کاهش انگل داشته است (Motevalli Haghi 2004)، در حالی که در میان عصاره های بررسی شده در زعفران، عصاره اتیل استاتی ۷۰۰mg/kg و عصاره آبکی ۳۵۰ و ۷۰۰mg/kg به طور معنی داری میزان پارازیتمی را کاهش داده است ($p < ۰/۰۵$). که این امر نشان دهنده کاهش سمیت عصاره زعفران در غلظت‌های بالاتر نسبت به دانه اسپند می‌باشد. همچنین متوسط طول عمر در موش های درمان شده با عصاره الکلی mg/kg ۱۰۰ دانه اسپند، ۲٤/۱ می‌باشد (Motevalli Haghi. 2004) این در حالی است که متوسط طول عمر در عصاره اتیل استاتی mg/kg۷۰۰ نه روز، عصاره آبکی ۳۵۰ و ۷۰۰mg/kg به ترتیب نه و چهارده روز به دست آمد که این امر می‌تواند نشان دهنده پایین بودن نیمه عمر عصاره های زعفران در مقایسه با دانه اسپند باشد.

در مطالعه‌ای که بر روی عصاره الکلی گیاه گلدر (*Otostegia persica*) غلظتmg/kg ٤۵۰ بیشترین تاثیر را در کاهش پارازیتمی در موش‌های آلوده داشته است (Nateghpour et al. 2008). این مطالعه در مقایسه با عصاره های بررسی شده در زعفران نشان می دهد که عصاره اتیل استاتی mg/kg ۷۰۰ و عصاره آبکی ۳۵۰ و ۷۰۰mg/kg به طور معنی‌داری میزان پارازیتمی را کاهش داده است ($p < ۰/۰۵$). که این امر نشان دهنده کاهش سمیت عصاره زعفران در غلظت های بالاتر نسبت به عصاره الکلی گیاه گلدر می باشد. همچنین طول عمر در موش های درمان شده با عصارهmg/kg ۳۰۰ گیاه گلدر۱۳ روز می‌باشد (Motevalli Haghi 2004) این در حالی است که متوسط طول عمر در عصاره اتیل استاتی ۷۰۰mg/kg نه روز، عصاره آبکی ۳۵۰ و ۷۰۰mg/kg به ترتیب نه و چهارده روز به دست آمد که این امر می تواند نشان دهنده مشابه بودن نیمه عمر عصاره های زعفران با گیاه گلدر می باشد.

در مطالعه دیگر که بر روی گیاه کاسنی صورت گرفت غلظتهایmg/kg ۰/۱ و mg/kg ۰/۰۷ بیشترین تاثیر را در کاهش پارازیتمی در موش‌های آلوده داشته است. عصاره این گیاه هم مانند عصاره الکلی دانه اسپند و گلدر در غلظت‌های بالاتر در مقایسه با عصاره زعفران اثرات سمی داشته است (Hakimipour et al. 2004).

از لحاظ شیمی گیاهی زعفران، کروسین، کروستین و سافرانال اثرات از بین برنده رادیکال های آزاد و آنتی اکسیدان داشته اند. به نظر می‌رسد ترکیبات پلی ان شامل زیگزانتین، لیکوپن، انواع کاروتن β وα ، کروسین و سافرانال موجود در فراکسیون اتیل استاتی عامل ایجاد اثرات فارماکولوژیک این گیاه در برابر انگل مالاریا می باشد. از طرف دیگر در تحقیقاتی که بر روی اثرات زعفران در سیستم ایمنی انجام گرفته، زعفران باعث افزایش ایمنوگلوبین g و مونوسیت‌ها و بطور کلی باعث تقویت موقت سیستم ایمنی شده است (Kianbakht and Ghazavi 2011) طبق مطالعات انجام گرفته حمله حاد مالاریایی باعث افزایش تجمع پلاکت ها در انسان می‌شود (Osim et al. 1991) که زعفران می‌تواند با خاصیت مهارکنندگی تجمع پلاکتی که در انسان داشته، از این عمل جلوگیری کند (Katariya et al. 2011).

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 15:38 IRDT on Monday July 25th 2016

نتیجه گیری

عصاره اتیل استاتی ۷۰۰mg/kg و عصاره آبکی ۳۵۰ و ۷۰۰mg/kg در روز هفتم به طور معنی داری میزان پارازیتمی انگل پلاسمودیوم برگئی در موشهای تحت مطالعه در مقایسه با گروه‌های کنترل را کاهش داده است ($p <$ ۰/۰۵). عصاره های زعفران همچنین در مقایسه با مطالعات گذشته بر روی سایر گیاهان سمیت کمتر و نیمه عمر کوتاهتری را نشان داده است. کاهش سمیت این عصاره امکان مصرف آن را در دوزهای بالاتر نسبت به سایر گیاهان را فراهم می آورد. نیمه عمر پایین عصاره های زعفران منجر به بالا رفتن پارازیتمی در مدت کوتاهی بعد از قطع دارو شده و طول عمر موش ها را در مقایسه با سایر گیاهان مطالعه شده پایین می آورد.

گرچه خاصیت ضدانگلی عصاره مذکور در مقایسه با داروی کلروکین بر روی انگل های یاد شده کمتر بوده است اما اگر بتوان ازعصاره به عنوان داروی مکمل و در کنار داروی کلروکین استفاده کرد، شا ید بتوان نتایج بهتری درکاهش میزان پارازیتمی و افزایش طول عمرموشها بدست آورد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله وظیفه خود می دانند از سرکار خانم لیلا فریور کارشناس ارشد گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران و کارکنان محترم واحد پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که در انجام این مطالعه همکار ی داشته اند قدردانی نمایند.

جدول ۱- متوسط درصد پارازیتمی در گروه های درمان شده با عصاره تام کلاله زعفران در روز چهارم و هفتم پس از درمان ($p <$ ۰/۰۵)

	متوسط درصد پارازیتمی در گروه های درمان شده با عصاره تام کلاله زعفران		
گروه ها	۳۵۰mg/kg	۷۰۰mg/kg	۱۰۵۰mg/kg
روز چهارم	٪۸	٪۵/۹	٪۲/۲٤
روز هفتم	٪۱۱/٦	٪۹/٦٦	٪۵/۳۳

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 15:38 IRDT on Monday July 25th 2016

جدول ۲- متوسط درصد پارازیتمی در گروه های درمان شده با عصاره اتیل استاتی کلاله زعفران در روز چهارم و هفتم پس از درمان ($p < ۰/۰۵$)

متوسط درصد پارازیتمی در گروه های درمان شده با عصاره عصاره اتیل استاتی کلاله زعفران			
گروه ها	۳۵۰mg/kg	۷۰۰mg/kg	۱۰۵۰mg/kg
روز چهارم	٪۸	٪۸/۲۵	٪٤/٦۲
روز هفتم	-	٪۸	٪۱۰

جدول ۳- متوسط درصد پارازیتمی در گروه های درمان شده با عصاره آبکی کلاله زعفران در روز چهارم و هفتم پس از درمان ($p < ۰/۰۵$)

متوسط درصد پارازیتمی در گروه های درمان شده با عصاره عصاره آبکی کلاله زعفران			
گروه ها	۳۵۰mg/kg	۷۰۰mg/kg	۱۰۵۰mg/kg
روز چهارم	٪۷/۵	٪٤	٪۲/۲٦
روز هفتم	٪۰/۹۳	٪۹	٪۱

جدول ٤- میانگین بقای گروه های درمان شده با عصاره تام، اتیل استاتی و آبکی کلاله زعفران بر حسب روز

گروه ها	۳۵۰mg/kg	۷۰۰mg/kg	۱۰۵۰mg/kg
عصاره تام کلاله زعفران	۹	۱۲	-
عصاره اتیل استاتی کلاله زعفران	۹	۹	-
عصاره آبکی کلاله زعفران	۱٤	۹	٦

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 15:38 IRDT on Monday July 25th 2016

References

Azadbakht, M., 2008. 5 herbal medicines against common protozoa. *Mazandaran University of Medical Sciences.* **18**(67), pp.132-118. [In Persian]

Hakimi poor, Gh., 2004. *Antimalarial effects of chicory (Cichorium intybus).* the end of a period of Doctor of Pharmacy. Shaheed Beheshti University of Medical Sciences. School of Pharmacy. [In Persian]

Raeisi, A., Shahbazi, A., Ranjbar, M., Nateghpour, M., Ringovald, P. and Faraji, L., 2005. Monitoring the efficacy of chloroquine on the malaria falciparum uncomplicated in Sistan and Baluchestan, Hormozgan and Kerman the Hay1382-1381. *Hakim Reaserch Jornal*. **8**(4), pp. 25-21. [In Persian]

Ryley, J.F. and Peters, W., 1970. The antimalaril activity of some quinolon esteras. *Ann J.Trop.Med.Parasitol.*

Zare, BM. and Dalimi AS., 2003. Blood and biochemical changes in patients with vivax malaria in the city Kahnooj. *Journal of Medical Sciences*. **3**(1), pp. 17-23. [In Persian]

Soruroddin, M., 2007. *Kebir medicine or angel.* twenty-fifth edition. Tehran. Atai. Nest Books. P. 330. [In Persian]

Kianbakht, S., 2008. A systematic review of the pharmacology of saffron and its active constituents. *Journal of Medicinal Plants.* **4**(28), pp. 27-1. [In Persian]

Motevalli haghi, A., Nateghpour, M., Edirssian, G., Sori, E. and Satvat, M., 2004. Evaluation of The Effectiveness of Ethanolic Extract of Peganum Harmala L. Against Plasmodium Berghei In Comparison With Chloroquine In Sourian Mice Using Invivo Tests. *Sjsph.* **2**(1), pp. 47-54. [In Persian]

Nateghpour, M., Miahipour, A., Edirssian, G., Sori, E. and Motevalli Haghi A., 2008. Effectiveness of ethanolic extract of Otostegia Persica against Plasmodium Berghei in comparison with chloriquine in white mice using in vivo tests. *Sjsph.* **6**(1), pp. 57-62. [In Persian]

Abdullaev, F.I. and Espinosa-Aguirre, J.J., 2004. Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. *Cancer Detection and Prevention jornal.* 28, pp. 426–432.

Katariya, D.Ch., Nerkar, N., Gadiya, R.V. and Abhyankar, M.M., 2011. Detailed Profile of Crocus Sativus. *International Journal of Pharma and Bio Sciences.* **2**(1), pp. 530-540.

Kianbakht, S. and Ghazavi, A., 2011. Immunomodulatory Effects of Saffron: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. PubMed. Leids Universitair Medisch Centrum. The genome of P. berghei. www.lumc.nlcon

Lucena Greice, M.R.S., Gadotti Vin´ıcius, M., Maffi Liana, C., Silva Glauber, S., Azevedo Mari^angela, S. and Santos Adair, R.S., 2007. Antinociceptive and anti-inflammatory properties from the bulbs of Cipura paludosa Aubl. *Journal of Ethnopharmacology.* pp. 19–25.

McGrath, JC., Drummond, GB., McLachlan, EM., Kilkenny, C. and Wainwright, CL., 2010. Guidelines for reporting experiments involving animals. the ARRIVE guidelines. *Br J Pharmacol.* 160, pp. 1573-1576.

Mohajeri, D., Mousavi, G., Mesgari, M., Doustar, Y. and Nouri, M.H.K., 2015. Subacute Toxicity of Crocus Sativus L.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 15:38 IRDT on Monday July 25th 2016

(Saffron) Stigma Ethanolic Extract in Rats. *Am. J. Pharmacol. Toxicol.* 2, pp. 189-193.

Osim, EE., Adegunloye, BJ. and Emeribe, AO., 1991. In vivo platelet aggregation in acute malaria. *PubMed.* **49**(3), pp. 227-32.

Ouattaraa, Y., Sanonb, S., Traoréc, Y., Mahioud, V., Azase, N. and Sawadogoa, L., 2006. Antimalarial Activity Of Swartzia Madagascariensis Desv. (Leguminosae), Combretum Glutinosum Guill. and Perr. (Combretaceae) and Tinospora Bakis Miers. (Menispermaceae), Burkina Faso Medicinal Plants. African Journal of Traditional. *Complementary and Alternative Medicines.* **3**(1), pp. 75-81.

Peters, W. and Robinson, B.L., 1965. Annals of Trop. *Med. Parasitol.*86, pp. 455-465.

Sandra, L., Ibáñez, C., Grace, R., Rosaura, D.M. and Michel, S., 2008. Evaluacion De La Flora En El Valle De Zongo Contra Leishmania Y Chagas. *Revista Boliviana De Química.* **25**(1), pp. 43-52.

Sharma A., Shanker, C., Kumar, T.L., Singh, M. and Rao, Ch.V., 2008. Herbal Medicine for Market Potential in India, An Overview. *Academic Journal of Plant Sciences.* **1**(2), pp. 26-36.

Wensdorfer, W.H. and Sir Ian, M., 1988. MALARIA: Principles and Practice of Malariology. volume 2. london melbourne and new York. churchill Livingston. pp. 1524-1527.

WHO., 2012. World Malaria Report., link: http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2012/en/index.html

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 15:38 IRDT on Monday July 25th 2016

In vivo Comparative study of antimalarial activity of hydro-alcoholic extract of *Crocus sativus* (stigma) with chloroquine

Abedi Madiseh, S., MSc. **Bachelor, Department of Medical Mycoparasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran**
Pestechian, N., Ph.D. **Associate Professor, Department of Medical Mycoparasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran**
Ghanadian, M., Ph.D. **Assistant Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran -Corresponding author: ghannadian@gmail.com**
Nateghpour, M., Ph.D. **Professor, Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical sciences, Tehran, Iran**
Received: **Jul 31, 2015** **Accepted:** **Jan 26, 2016**

ABSTRACT

Background and Aim: Medicinal plants provide an excellent source of drugs and new drug combinations, including the basis for the development of drug resistance to common anti-malarial treatments. In this study we investigated and compared the effect of an alcoholic extract of saffron and its constituents with that of chloroquine on malaria in mice.

Materials and Methods: A total of 65 male mice similar as regards gender, weight and age were randomly divided into 13 groups of 5 each. Eleven of the groups were infected with *Plasmodium berghei* and treated with saffron extract and its constituents and chloroquine based on the proposed method of Ryley and Petrs. Upon detecting the parasite in peripheral blood of the infected mice, they were treated with an aqueous, alcoholic or ethyl acetate solution at a dose of 350, 700 or 1050 mg/kg body weight (BW), chloroquine at a dose of 20mg/kg BW, and an iron chelator (50mg/kg BW). The solutions with the most effective concentrations were determined. Oral treatment at every stage lasted for up to 4 days. Parasite reduction in the groups treated with the extract was determined on days 4 and 7 and compared with that in the control, placebo and chloroquine groups. The Group 13 mice had no parasite injection and received no drug and were kept in the animal house only to control accidental death.

Results: Data analysis (t-test; SPSS) showed the most effective concentrations to be 700mg/kg ethyl acetate solution and 350 and 700mg/kg saffron extract, causing a significant reduction of parasitemia in the infected mice on day 7 ($p<0.05$).

Conclusion: The findings of this study indicate the potential effect of the alcoholic extract of saffron on *Plasmodium berghei* and, therefore, should receive proper attention.

Keywords: *Plasmodium berghei*, Saffron, Treatment, Chloroquine, Mice

Archive of SID

www.SID.ir