

## 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 فارچ و انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نادر پسته چیان: دانشیار، گروه فارچ و انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

سید مصطفی قنادیان: استادیار، مرکز تحقیقات فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران- نویسنده رابط:

ghannadian@gmail.com

مهدی ناطق پور: استاد، گروه انگل شناسی و فارچ 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 دارویی به درمان های رایج ضد مالاریا می باشند در این مطالعه اثر عصاره الکلی و فراکسیون های 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 ۶۵ 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 فراکسیون های 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 گروه های شاهد و دریافت کننده پلاسبو با دوزهای ۳۵۰، ۷۰۰ و ۱۰۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از عصاره های آبکی، الکلی و اتیل استاتی و غلظت ۲۰ mg/kg کلروکین و مقدار ۵۰ 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 ۷ روز ادامه داشت. میزان کاهش پارازیمی در گروه های درمان شده با عصاره در روزهای چهار و هفت با گروه های 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 موش ها در حیوانخانه نگهداری شد.

نتایج: تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون t انجام گردیده و موثرترین غلظت در بین غلظت های مورد استفاده مشخص شد. بررسی نشان میدهد که غلظت ۷۰۰ mg/kg اتیل استاتی و غلظت ۳۵۰ و ۷۰۰ mg/kg از عصاره گیاهی به نحو معنی داری باعث کاهش میزان پارازیمی در روز هفت در موش های آلوده شده است ( $p < 0/05$ ).

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

بیماری های عفونی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به شمار می رود. در اواسط دهه ۱۹۵۰ میلادی پیش بینی شده بود که قطعاً بیماری مالاریا ریشه کن می شود. اما در دهه ۱۹۹۰ بیماری مزبور در سراسر مناطق استوایی بصورت واگیر در آمد (Azadbakht 2008).

مالاریا یک بیماری عفونی است که توسط تک یاخته انگلی از جنس پلاسمودیوم فالسیپاروم، ویواکس، مالاریه و اواله ایجاد شده و از طریق گونه های بخصوصی از پشه های آنوفل ماده منتقل می شود. این بیماری یکی از مهمترین

(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 خانواده 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 غیر آلوده، کم خونی، نکروز توپول 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 بخوراند، 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 ضد تک یاخته از خود نشان داده اند بطور مثال *Crocsmia Crocosmiiflora* بعنوان داروهای آنتی لیشماتیناز بکار رفته‌اند. در طب سنتی آفریقا نیز کلاله گیاه *Crocsmia aurea* از خانواده زنبقیان که در پاره‌ای مناطق بعنوان جایگزین زعفران استفاده می‌شود، در درمان مالاریا به کار می‌رود (Sandra et al. 2008; Lucena et al. 2007).

لذا با توجه به نیاز مبرم جامعه پزشکی به مطالعه و شناسایی 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 علائم 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*)

از نظر شیوع بیماری و مناطق درگیر، کشور ایران از کانون‌های آندمیک بیماری محسوب می‌گردد (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 منشأ طبیعی (Natural sources) با اهمیت به نظر می‌رسد. لذا با توجه به دانش موجود در طب اسلامی

اثر آنتی مالاریائی گیاه زعفران که در طب رضوی برای درمان تب نوبه توصیه گردیده، پیشنهاد می‌گردد

دوزهای مختلف عصاره گیاه ۱۰٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ آن شامل دوزهای ۳۵۰، ۷۰۰ و ۱۰۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به مدت چهار روز به گروه‌های پنج تایی موش از طریق خوراکی داده شد (گروه ۱-۹). به گروه ۱۰ مقدار ۲۰ mg/kg و روزانه و به مدت ۴ روز کلروکین، بصورت خوراکی داده شد. به گروه ۱۱ (گروه کنترل شلاتور آهن) مقدار ۵۰ mg/kg و روزانه و به مدت ۴ روز فلاونوئید کوآرستین، 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 روغنی  $\times 100$  و چشمی  $\times 10$  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 پارازیتی را به کمترین حد در مقایسه با دیگر غلظتها کاهش داده، اثر سمی روی موشها نداشته باشد. بررسی موشها از نظر میزان درصد پارازیتی تا روز ۲۱ و از نظر مرگ و میر تا روز ۳۵ ادامه داشت. نتایج پس از جمع آوری با نرم افزار SPSS 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 آزمایشگاهی که در سال ۲۰۱۰ منتشر شده است

*L. sativus*) و فراکسیونهای آن بر پلاسمودیوم برگگی 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 پارازیتی در خون محیطی می‌باشد. درمان به صورت خوراکی و تا ۴ روز ادامه دارد. روزانه از انتهای دم موشها خونگیری به عمل آمده پس از تهیه گسترش نازک خون و رنگ آمیزی باگیمسا میزان پارازیتی 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 پارازیتی 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)

و اصول کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد مطالعه قرار گرفتند. (McGrath et al. 2010)

## نتایج

در این مطالعه میزان درصد پارازیتی گروه‌های تحت مطالعه در روزهای مختلف از روز صفر (روز قبل از درمان) تا روز ۲۸ تعیین شده و در روزهای ثابتی مثل روز ۴ (۲۴ 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). در گروهی که کلروکین به عنوان درمان تجویز شده است (گروه ۱۰ دریافت ۲۰ mg/kg کلروکین) میزان پارازیتی به تدریج کاهش یافته، به گونه ای که در روز ۴ این میزان به ۰/۳٪ و در روز ۷ به ۰/۷۷٪ رسیده است. میزان پارازیتی در گروه ۱۲ (بدون درمان) در روز ۴، ۶/۶٪ بوده است که تفاوت معنی‌داری با گروه ۱۰ دارد (۰/۰۵ < p). میزان افزایش پارازیتی برای گروه ۱۲ در روز ۷، ۱۱/۶٪ بوده است. متوسط درصد پارازیتی 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 پارازیتی در گروه چهارم که با غلظت ۳۵۰ mg/kg عصاره اتیل استاتی کلاله زعفران درمان شده اند، در روز ۴، ۸٪ بوده است و در روز ۷ تمام موش‌ها مرده اند. متوسط درصد پارازیتی در گروه دهم که با کوارستین با غلظت mg/kg ۵۰ درمان شده اند، در روزهای ۴ 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 ۱۴ 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 ۴ نشان داده شده است. گروه درمان شده با کوارستین با غلظت ۵۰ mg/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 نگهداری 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 پارازیتی را در موش‌ها در روزهای ۴ و ۷ به صفر برساند و بقا را در موش‌ها افزایش دهد. در گروه ۱۲ (بدون درمان) میزان درصد پارازیتی روند افزایشی داشت به گونه ای که در روز ۴ و ۷ بیشترین میزان پارازیتی نسبت به گروه‌های تحت درمان با زعفران داشته است.

کلروکین به عنوان یک داروی استاندارد در درمان مالاریا توانست میزان پارازیتی را در روزهای ۴ و ۷ به صفر برساند. در گروه ۱۳ که از هیچ گونه دارویی جهت درمان استفاده نشد، میزان پارازیتی روند افزایشی داشت. بررسی‌های به دست آمده نشان می‌دهد که دوزهای متفاوت فراکسیون‌های زعفران اثرات مختلفی از خود نشان داده اند. در میان غلظت‌های مورد استفاده عصاره آبکی با غلظت ۱۰۵۰ mg/kg میزان پارازیتی را در روز ۴ به صورت معنی‌داری کاهش داده است. عصاره اتیل استاتی ۷۰۰ mg/kg و عصاره آبکی ۳۵۰ mg/kg در روز هفتم به طور معنی‌داری میزان پارازیتی را کاهش داده است (۰/۰۵ < p).

بررسی طول عمر موش‌ها در طول دوره مطالعه (۲۸ روز) نشان می‌دهد که متوسط عمر اکثر گروه‌های تحت درمان به جز گروه درمان شده با کلروکین شبیه به گروه شاهد بوده است. متوسط طول عمر گروهی که عصاره آبکی mg/kg ۱۰۵۰ دریافت کرده است از گروه شاهد نیز کمتر می‌باشد که

شده با عصاره  $300 \text{ mg/kg}$  گیاه گلدر  $13$  روز می‌باشد (Motevalli Haghi 2004) این در حالی است که متوسط طول عمر در عصاره اتیل استاتی  $700 \text{ mg/kg}$  نه روز، عصاره آبکی  $350$  و  $700 \text{ mg/kg}$  به ترتیب نه و چهارده روز به دست آمد که این امر می‌تواند نشان دهنده مشابه بودن نیمه عمر عصاره های زعفران با گیاه گلدر می‌باشد.

در مطالعه دیگر که بر روی گیاه کاسنی صورت گرفت غلظت‌های  $0/1 \text{ mg/kg}$  و  $0/07 \text{ mg/kg}$  بیشترین تاثیر را در کاهش پارازیتی 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 رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان داشته‌اند. به نظر می‌رسد ترکیبات پلی‌ان شامل زیگزاتین، لیکوپن، انواع کاروتن  $\alpha$  و  $\beta$ ، کروسین و سافرانال موجود در فراکسیون اتیل استاتی عامل ایجاد اثرات فارماکولوژیک این گیاه در برابر انگل مالاریا می‌باشد. 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 پلاکت‌ها 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).

### نتیجه‌گیری

عصاره اتیل استاتی  $700 \text{ mg/kg}$  و عصاره آبکی  $350$  و  $700 \text{ mg/kg}$  در روز هفتم به طور معنی‌داری میزان پارازیتی انگل پلاسمودیوم برگئی در موش‌های تحت

می‌توان علت را افزایش سمیت در دوز  $1050 \text{ mg/kg}$  عصاره آبکی دانست. عصاره آبکی  $350 \text{ mg/kg}$  و تام  $700 \text{ mg/kg}$  به ترتیب بیشترین متوسط طول عمر را داشته‌اند و می‌تواند نشان دهنده سمیت کمتر این دو دوز نسبت به سایر عصاره‌های درمانی باشد.

در مطالعه‌ای که بر روی عصاره الکلی دانه اسپند بر پلاسمودیوم برگئی در موش سوری انجام گرفت عصاره با غلظت  $100 \text{ mg/kg}$  تاثیر مناسبی در کاهش انگل داشته است (Motevalli Haghi 2004)، در حالی که در میان عصاره‌های بررسی شده در زعفران، عصاره اتیل استاتی  $700 \text{ mg/kg}$  و عصاره آبکی  $350$  و  $700 \text{ mg/kg}$  به طور معنی‌داری میزان پارازیتی را کاهش داده است ( $p < 0/05$ ). که این امر نشان دهنده کاهش سمیت عصاره زعفران در غلظت‌های بالاتر نسبت به دانه اسپند می‌باشد. همچنین متوسط طول عمر در موش‌های درمان شده با عصاره الکلی  $100 \text{ mg/kg}$  دانه اسپند،  $24/1$  می‌باشد (Motevalli Haghi. 2004) این در حالی است که متوسط طول عمر در عصاره اتیل استاتی  $700 \text{ mg/kg}$  نه روز، عصاره آبکی  $350$  و  $700 \text{ mg/kg}$  به ترتیب نه و چهارده روز به دست آمد که این امر می‌تواند نشان دهنده پایین بودن نیمه عمر عصاره‌های زعفران در مقایسه با دانه اسپند باشد.

در مطالعه‌ای که بر روی عصاره الکلی گیاه گلدر (*Otostegia persica*) غلظت  $450 \text{ mg/kg}$  بیشترین تاثیر را در کاهش پارازیتی در موش‌های آلوده داشته است (Nateghpour et al. 2008). این مطالعه در مقایسه با عصاره‌های بررسی شده در زعفران نشان می‌دهد که عصاره اتیل استاتی  $700 \text{ mg/kg}$  و عصاره آبکی  $350$  و  $700 \text{ mg/kg}$  به طور معنی‌داری میزان پارازیتی را کاهش داده است ( $p < 0/05$ ). که این امر نشان دهنده کاهش سمیت عصاره زعفران در غلظت‌های بالاتر نسبت به عصاره الکلی گیاه گلدر می‌باشد. همچنین طول عمر در موش‌های درمان

اما اگر بتوان از عصاره به عنوان داروی مکمل و در کنار داروی کلروکین استفاده کرد، شاید بتوان نتایج بهتری در کاهش میزان پارازیتی و افزایش طول عمر موشها 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 همکاری داشته اند قدردانی نمایند.

مطالعه در مقایسه با گروه های 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 پارازیتی 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

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

متوسط درصد پارازیتی در گروه های درمان شده با عصاره تام کلاله زعفران			گروه ها
۱۰۵۰mg/kg	۷۰۰mg/kg	۳۵۰mg/kg	
٪۲/۲۴	٪۵/۹	٪۸	روز چهارم
٪۵/۳۳	٪۹/۶۶	٪۱۱/۶	روز هفتم

جدول ۲- متوسط درصد پارازیتی در گروه های درمان شده با عصاره اتیل استاتی کلاله زعفران در روز چهارم و هفتم پس از درمان  
( $p < 0/05$ )

متوسط درصد پارازیتی در گروه های درمان شده با عصاره عصاره اتیل استاتی کلاله زعفران			
گروه ها	۳۵۰ mg/kg	۷۰۰ mg/kg	۱۰۵۰ mg/kg
روز چهارم	٪۸	٪۸/۲۵	٪۴/۶۲
روز هفتم	-	٪۸	٪۱۰

جدول ۳- متوسط درصد پارازیتی در گروه های درمان شده با عصاره آبکی کلاله زعفران در روز چهارم و هفتم پس از درمان  
( $p < 0/05$ )

متوسط درصد پارازیتی در گروه های درمان شده با عصاره آبکی کلاله زعفران			
گروه ها	۳۵۰ mg/kg	۷۰۰ mg/kg	۱۰۵۰ mg/kg
روز چهارم	٪۷/۵	٪۴	٪۲/۲۶
روز هفتم	٪۰/۹۳	٪۹	٪۱

جدول ۴- میانگین بقای گروه های درمان شده با عصاره تام، اتیل استاتی و آبکی کلاله زعفران بر حسب روز

گروه ها	۳۵۰ mg/kg	۷۰۰ mg/kg	۱۰۵۰ mg/kg
عصاره تام کلاله زعفران	۹	۱۲	-
عصاره اتیل استاتی کلاله زعفران	۹	۹	-
عصاره آبکی کلاله زعفران	۱۴	۹	۶

## 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 Journal*. **8**(4), pp. 25-21. [In Persian]
- Ryley, J.F. and Peters, W., 1970. The antimalarial 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 hagh, 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 Hagh 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 journal*. **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.nl/con
- Lucena Greice, M.R.S., Gadotti Vin'icius, 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.

- (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](http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2012/en/index.html)

## 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