مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۸، تیر ۱۳۹۸، ۳۶۴-۳۵۳

مطالعه اثرضد مالاریایی عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل (*Officinale Zingiber*) در موش‌های آلوده به پلاسمودیوم برگئی: یک مطالعه تجربی

طاهر علمی[۱]، فاطمه حاجی علیانی[۲]، محمدرضا اسدی[۳]، فریبا اورج زاده[۴]، علی کلانتری حصاری[۵]، بهمن رحیمی اسبوئی[۶]، شیرزاد غلامی[۷]

دریافت مقاله: ۹۷/۶/۲۶ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۷/۸/۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۷/۱۱/۳ پذیرش مقاله: ۹۷/۱۱/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به مقاومت انگل پلاسمودیوم عامل بیماری مالاریا نسبت به داروهای ضد مالاریایی، یافتن دارویی جایگزین برای درمان بیماران امری ضروری به‌نظر می‌آید. لذا مطالعه حاضر با هدف مطالعه اثر ضد مالاریایی عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل (*Zingiber Officinale*) در موش‌های آلوده به پلاسمودیوم برگئی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، ۴۰ سر موش به پلاسمودیوم برگئی آلوده شدند و طی چهار روز متوالی با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل مورد درمان قرار گرفتند. تست سمیت بر روی کبد و کلیه موش‌ها انجام شد. در آخر داده‌ها از لحاظ آماری با آزمون‌های t زوجی و آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل در دوز درمانی ۲۵۰ میلی‌گرم اثر مهاری ۶۲ درصدی بر رشد انگل در موش سوری داشت که از نظر آماری اختلاف آن با گروه کنترل معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان بقاء در موش‌ها مربوط به غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم با میانگین ۲± ۲۴ روز بود که اختلاف آن نسبت به سایر گروه‌های درمانی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). مقایسه کبد و کلیه موش‌ها با گروه کنترل منفی نشان داد عصاره فوق فاقد سمیت برای این ارگان‌ها می‌باشد (P=۰/۰۷۱).

نتیجه‌گیری: با توجه به تأثیر ۶۲ درصدی گیاه زنجبیل در درمان موش‌های آلوده به پلاسمودیوم برگئی، تحقیقات بیشتر در زمینه استفاده از این گیاه در درمان انگل مالاریا با افزایش دوز درمانی و یا تهیه عصاره‌های مختلف کلروفرمی و آبی آن پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پلاسمودیوم برگئی، گیاه زنجبیل، عصاره هیدروالکلی، موش سوری

۱- دانشجوی دکتری تخصصی انگل شناسی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۲- دانشجوی دکتری تخصصی انگل شناسی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، پردیس بین‌الملل، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۳- دکتری تخصصی بافت شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۴- کارشناسی ارشد انگل شناسی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۵- دکتری تخصصی بافت شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۶- دانشجوی دکتری تخصصی انگل شناسی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۷- (نویسنده مسئول) دانشیار انگل شناسی، مرکز تحقیقات توکسوپلاسما، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تلفن: ۳۳۵۴۳۲۴۹-۰۱۱، دورنگار: ۳۳۵۴۳۲۴۹- ۰۱۱، پست الکترونیکی: sgholami200@gmail.com

مقدمه

مالاریا یکی از بیماری‌های انگلی تک یاخته‌ای است که توسط انواع پلاسمودیوم (*Plasmodium*) در انسان و حیوانات مختلف ایجاد می‌شود. پلاسمودیوم عامل بیماری در انسان گونه‌های *P. vivax, P. falciparum, P. malariae, P. ovale* می‌باشد که در این بین بیماری ایجاد شده توسط پلاسمودیوم فالسیپاروم در انسان از سایر گونه‌ها کشنده‌تر است، به‌طوری که سالیانه نزدیک به ۵۰۰ هزار نفر در سال بر اثر بیماری مالاریا می‌میرند [۲-۱]. عامل بیماری در موش *Plasmodium berghei* می‌باشد که برای موش بسیار کشنده است و جهت کارهای تحقیقاتی درون تنی مالاریا بسیار ارزش‌مند است. چرا که پلاسمودیوم‌های انسانی و موشی از یک خانواده و یک جنس می‌باشند و خصوصیات بیماری‌زایی و متابولیکی مشترک زیادی با هم دارند، لذا جهت انجام نخستین مطالعات درون تنی از پلاسمودیوم برگئی در موش استفاده می شود [۲-۱].

جهت درمان مالاریا از داروهایی نظیر آرتمیزین، پریماکین، کلروکین، مفلوکین و لومفانترین استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر ایجاد مقاومت در برابر داروهای ضد مالاریایی نظیر کلروکین در پلاسمودیوم‌ها خصوصاً فالسیپاروم و ویواکس به یکی از مشکلات عمده بهداشتی در کشورهای درحال توسعه تبدیل شده است [۴-۳]. این مقاومت به داروهای اصلی در درمان عفونت‌های انگلی باعث به‌وجود آمدن تیم‌های بزرگ تحقیقاتی در سرتاسر دنیا و روی آوردن به ساخت و تحقیق داروهای جایگزین گردیده است [۵]. عوارض جانبی داروهای فوق از یک طرف و ایجاد مقاومت دارویی در انگل از طرف دیگر باعث ایجاد مشکلاتی در استفاده از این داروها در جهت درمان بیماری مالاریا شده است، لذا برای درمان جایگزین، باید مطالعات بیش‌تری انجام شود. به همین دلیل به‌دست آوردن ترکیبات ضد انگلی از سایر منابع مانند گیاهان داروئی می‌تواند در این زمینه کمک کننده باشد [۷-۶].

یکی از راه‌های پیشنهادی جهت یافتن ترکیب دارویی جدید، استفاده از داروهای گیاهی در درمان بیماری‌های مختلف است [۸]. کشور ما با برخورداری از شرایط جغرافیایی و آب و هوایی مناسب، دارای گونه‌های مختلف گیاهی به میزان زیادی از جمله گیاه زنجبیل با نام علمی *Zingiber Officinale* می‌باشد. زنجبیل طیف درمانی وسیعی داشته و در درمان بیماری‌های مختلف از قبیل سرماخوردگی، فشار خون، تب، روماتیسم، دیابت و التهاب مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۰-۹]. از طرفی خواص ضد درد، ضد اسپاسم و آرام بخشی آن نیز نشان داده شده است [۱۰-۹]. تحقیقات مختلف نشان داده است که عصاره گیاه زنجبیل از طریق مکانیسم بلوک کننده‌گی کانال کلسیم، سبب مهار کاهش قطر مجاری هوایی در نای موش می‌شود و ترکیبات فعال این گیاه مثل جینجرول، شوگول و کورکومین به خوبی توانایی مهار تولید پروستاگلاندین‌ها، نیتریت اکسید و حتی اینترلوکین‌های درگیر در التهاب را دارند [۱۲-۱۱].

از آنجایی که استفاده از گیاهان دارویی در درمان مالاریا از گذشته رایج بوده است و تأثیر بعضی از این گیاهان مانند ارتمیزیا و دانه اسپند در درمان این بیماری گزارش شده است [۱۴-۱۳]. به همین دلیل استفاده از ترکیبات گیاهان دارویی بومی مانند گیاه زنجبیل در درمان بیماری‌های انگلی

مانند مالاریا در انسان و مدل‌های حیوانی مورد توجه محققین در سال‌های اخیر قرار گرفته است[۱۶-۱۳]. بنابراین با توجه به گزارش مقاومت دارویی انگل مالاریا در سال‌های اخیر پیدا کردن دارویی جایگزین با اثر درمانی بیشتر و عوارض جانبی کم‌تر در درمان این بیماری ضروری به نظر می‌آید [۶]. لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر ضد مالاریایی عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل (*Zingiber Officinale*) در موش‌های آلوده به پلاسمودیوم برگئی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۷ انجام شد. گیاه زنجبیل از فروشگاه‌های میوه و تره بار سطح شهر ساری خریداری شد و پس از شناسایی توسط متخصص گیاه‌شناسی و ثبت هرباریوم (۲۰۵-۰۲-۹۷) به آزمایشگاه منتقل و ریزوم گیاه در جریان هوا و حرارت معمولی، به‌دور از نور مستقیم خورشید خشک و خرد گردید، سپس در دانشکده داروسازی به روش پرکولاسیون توسط محلول هیدروالکلی به نسبت ۴ به ۱ به مدت ۷۲ ساعت استخراج انجام شد. محلول حاصل را توسط دستگاه روتاری اواپوراتور (مدل SB-۱۲۰۰، کشور آلمان) تبخیر و سپس خشک کرده و در نهایت پودر آن تهیه گردید [۸]. از پودر حاصل از عصاره هیدروالکلی در نسبت مناسبی از نرمال سالین و Dimethyl Sulfoxide (۱ درصد) استوک استاندارد تهیه شد. از هر یک از محلول استوک استاندارد غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر جهت تست درون تنی تهیه شد.

سپس مطالعه طراحی شده بر روی ۴۰ سر موش سوری نر از نژاد *Mus musculus* (تهیه شده از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تهران) که سن آن‌ها بین ۷ تا ۸ هفته و وزن آن‌ها ۲± ۲۳ گرم بود، انجام شد. موش‌ها در حیوان‌خانه در قفس‌های ۵ تایی و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰-۵۰ درصد نگهداری شدند. جهت آلوده کردن موش‌ها به پلاسمودیوم از گونه پلاسمودیوم برگئی (تهیه شده از انسیتوپاستور ایران) که در ازت مایع نگهداری می‌شد، استفاده گردید. در تمام طول آزمایش اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد، ضمناً این مطالعه دارای کد اخلاق به شماره ۱۳۹۷,۲۱۹ از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایران می‌باشد. در این تحقیق دوز آلوده کننده مقدار 10^6 اریتروسیت پارازیته به صورت یک سوسپانسیون آماده در سرم فیزیولوژی و به حجم نهایی ۰/۲ میلی‌لیتر بود که به صورت داخل صفاقی به موش‌های مورد نظر تزریق شد [۱۴-۱۳].

درمان در این مطالعه با روش پیشنهادی Knight & Peters انجام گرفت، که بر مبنای شروع درمان پس از مشاهده پارازیتمی در خون می‌باشد [۱۵]. موش‌ها به ۸ گروه ۵ تایی تقسیم شدند [۱۴-۱۳]. گروه اول کنترل مثبت، موش‌های آلوده به پلاسمودیوم که جهت درمان نرمال سالین و DMSO دریافت کردند، گروه دوم گروه آلوده دریافت کننده کلروکین بود، موش‌های آلوده به پلاسمودیوم برگئی که کلروکین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را جهت درمان دریافت کردند، گروه ۳ تا ۷ جزء گروه‌های تیمار با زنجبیل بودند، موش‌های آلوده به پلاسمودیوم که دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از گیاه زنجبیل را جهت درمان به حجم ۰/۲ میلی‌لیتر را دریافت کردند و گروه

آخر کنترل منفی، موش‌های سالم غیر بیمار که دارو دریافت نکردند و به منظور بررسی مرگ و میر تصادفی موش‌ها در شرایط آزمایشگاه در نظر گرفته شده بود. در تمامی موارد تزریق روزی یک بار و با فاصله ۲۴ ساعت به مدت ۴ روز انجام گردید. خون‌گیری در پایان روز چهارم و از انتهای دم موش‌ها به عمل آمد. پس از تهیه گسترش نازک و رنگ آمیزی با گیمسا میزان پارازیتمی تعیین گردید. مؤثرترین غلظت دارو غلظتی بود که میزان پارازیتمی را در مقایسه با گروه کنترل مثبت به کم‌ترین حد رسانده و اثر سمی بر روی موش‌ها نداشت [۱۵-۱۴]. درصد ممانعت از رشد انگل با فرمول زیر محاسبه گردید [۱۶]:

$$\text{درصد ممانعت از رشد} = \frac{(\text{پارازیتمی در گروه دارو} - \text{پارازیتمی در گروه کنترل})}{\text{پارازیتمی در گروه کنترل}} \times ۱۰۰$$

در آخر بررسی میزان بقاء موش‌ها تا پایان دوره آزمایش (۳۰ روز) ارزیابی و ثبت شد.

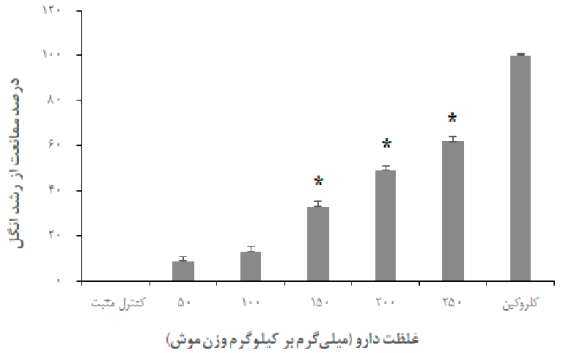
بررسی سمیت گیاه در شرایط درون تنی:

جهت بررسی سمیت (Toxicity) ۳۵ عدد موش در ۷ گروه تقسیم شدند. گروه اول کنترل منفی (پلاسبو)، گروه دوم کنترل مثبت (دریافت کلروکین)، گروه سوم تا هفتم دریافت کننده دوز درمانی گیاه زنجبیل با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش بودند. پس از ۴ روز درمان، وزن موش‌ها در روز اول و آخر آزمایش اندازه‌گیری شد. در پایان دوره آزمایش موش‌ها توسط اتر بیهوش شدند و پس از بیهوشی ناحیه شکمی برش زده شد و بافت کبد و کلیه خارج گردید و در سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. سپس در فیکساتور (فرمالین ۴ درصد) قرار گرفت و پس از ۷۲ ساعت مراحل تهیه بافت انجام و برای تهیه و بررسی آسیب‌های بافتی مقاطع میکروسکوپی با ضخامت ۵ میکرون از میکروتوم مدل Leitz-۱۵۱۲ استفاده و لام‌ها به روش هماتوکسیلین و ائوزین، رنگ آمیزی شد. نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند [۱۷]. داده‌ها به کمک در نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ تجزیه و تحلیل شدند، به‌طوری‌که ابتدا داده‌ها توسط آزمون Kolmogorov–Smirnov بررسی و فرض نرمال بودن داده‌ها پذیرفته شد ($P<۰/۰۵$)، سپس نتایج حاصل از لحاظ آماری با آزمون‌های پارامتریک t زوجی و آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند و $P<۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در مطالعه حاضر پارازیتمی در گروه کنترل مثبت (دریافت کننده نرمال سالین و DMSO) درحال افزایش بود ولی در گروه دریافت کننده کلروکین به صفر رسید. بررسی نتایج نشان داد عصاره هیدروالکلی زنجبیل در دوز درمانی ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش دارای بیش‌ترین اثر بود که توانست ۶۲ درصد از رشد انگل نسبت به گروه کنترل، ممانعت کند که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P=۰/۰۱۶$). کم‌ترین اثر هم مربوط به دوزهای درمانی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن موش بود که کاهش پارازیتمی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). در سایر غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن موش، عصاره زنجبیل به ترتیب ۳۳ و ۴۹ درصد ممانعت از رشد انگل داشت (نمودار ۱). بررسی نتایج با شمارش انگل‌ها در لام‌های رنگ‌آمیزی شده نشان داد ۵۰ درصد پاسخ

ماکسیمم (EC۵۰) در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش محاسبه گردید (نمودار ۱).



نمودار ۱- درصد ممانعت از رشد انگل پلاسمودیوم توسط عصاره هیدرولکلی گیاه زنجبیل در غلظت‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل مثبت

*(P<۰/۰۵): درگروه‌های دریافت کننده غلظت‌های ۲۵۰، ۲۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش نسبت به کنترل مثبت.

بیش‌ترین میزان بقاء در موش‌های تحت آزمایش مربوط به غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم با میانگین ۲±۲۴ روز بود. در گروه کنترل منفی (موش غیر آلوده و بدون درمان) موش‌ها تا پایان روز ۳۰ زنده ماندند، ولی میانگین طول عمر موش‌های گروه کنترل مثبت ۱/۵۲ ± ۱۱/۶۶ روز بود (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین مدت بقاء موش‌های تحت درمان با غلظت‌های مختلف دارو (n=۵)

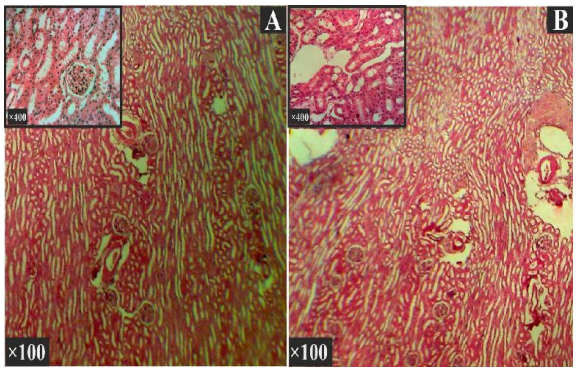
گروه‌ها	طول عمر موش‌ها (روز) (انحراف استاندارد ± میانگین)	مقدار P*
کنترل منفی	۳۰	۰/۰۰۱
۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن موش	۱/۵۲ ± ۱۲/۶۶	۰/۱۸۲
۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن موش	۰/۵۷ ± ۱۳/۶۶	۰/۰۹۸
۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن موش	۰/۵۷ ± ۱۷/۳۳	۰/۰۶۰
۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن موش	۲ ± ۲۲	۰/۰۲۱
۲۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن موش	۲ ± ۲۴	۰/۰۱۷
کلروکین	۰/۵۷ ± ۲۹/۶۶	۰/۰۰۱
کنترل مثبت	۱/۵۲ ± ۱۱/۶۶	

: مقایسه میانگین بقاء، بین موش‌های گروه آزمون و گروه کنترل مثبت (P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد)

نتایج حاصل از تست سمیت دارو بر بافت کبد و کلیه:

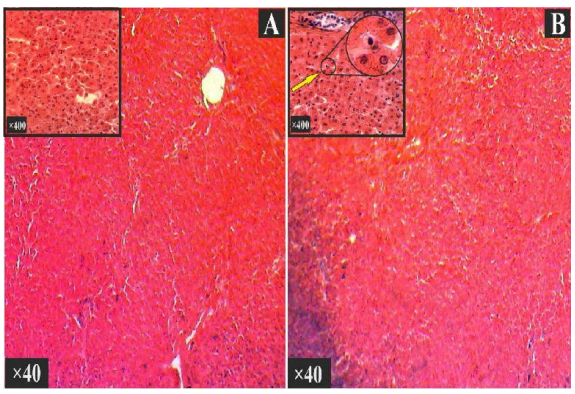
میانگین وزن موش‌ها در گروه‌های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی زنجبیل با غلظت ۱۰۰، ۱۵۰ ، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم نسبت به گروه کنترل مثبت (کلروکین)، افزایش و نسبت به گروه کنترل منفی (موش‌های سالم دریافت‌کننده نرمال‌سالین) کاهش داشت که این افزایش و کاهش در هیچ کدام از موارد از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P=۰/۰۶۹). در مطالعه هیستوپاتولوژیک کبد در گروه‌های مختلف، پارامترهای مورد مطالعه از قبیل آپوپتوز، نکروز سلولی، التهاب موضعی و پرخونی مورد بررسی قرار گرفت. میزان تغییرات در گروه کنترل منفی (دریافت کننده نرمال سالین) و آزمون از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P=۰/۱۸۹). در

بررسی بافت کلیه تفاوت معنی‌داری در گروه آزمون و کنترل مشاهده نشد (P=۰/۸۵۵). بافت کلیه تمامی موش‌ها در حد گروه کنترل، سالم بود (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱- مقاطع بافت‌شناسی از بافت کلیه گروه‌های کنترل منفی و آزمون (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین)

تصویر A: گروه کنترل منفی: جسمک کلیوی، لوله‌های ادراری و بافت بینابینی در حالت طبیعی قرار داشته و هیچ‌گونه نکروز، پرخونی و التهابی مشاهده نشد. تصویر B: گروه دریافت کننده دوز ۲۵۰ میلی‌گرم عصاره زنجبیل: در بررسی این گروه، از نظر نکروز، پرخونی و التهاب تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل منفی مشاهده نشد.



شکل ۲- مقاطع بافت‌شناسی از کبد گروه‌های کنترل منفی و آزمون (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین)

تصویر A: گروه کنترل منفی: سلول‌های کبدی، سینوزوئیدها و در حالت کلی پارانشیم کبد حالت طبیعی داشته و هیچ‌گونه نکروز، پرخونی و التهابی در این گروه مشاهده نشد. تصویر B: گروه دریافت کننده دوز ۲۵۰ میلی گرم عصاره زنجبیل: در بررسی این گروه به‌صورت جزئی سلول‌های نکروزه قابل مشاهده بودند هر چند تفاوت معنی داری با گروه کنترل مشاهده نشد (فلش زرد رنگ).

بحث

مطالعات مختلفی در کشور ما و سایر کشورهای برای جستجوی داروی جایگزین ضد مالاریایی انجام شده است و نتایج این تحقیقات نشان می‌دهد که بیش‌تر داروها دارای اثرات قابل قبولی می‌باشند. اما با توجه به اینکه اکثر این مطالعات به‌صورت برون تنی صورت گرفته است، در نتیجه بدون انجام مطالعات تکمیلی قابل قبول نمی‌باشند [۱۷-۱۵]. در انتخاب یک ترکیب جدید به‌عنوان داروی جایگزین، علاوه بر تأثیر دارو بر روی میکروارگانیسم هدف، اثر منفی دارو بر روی سلول‌های میزبان نیز باید مورد بررسی قرار گیرد که در مطالعه حاضر گیاه زنجبیل از هر دو جنبه مورد بررسی قرار گرفته است [۱۸].

مقدار EC۵۰ بر روی پلاسمودیوم برگئی در موش در مطالعه حاضر ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش محاسبه گردید ولی در مطالعه مشابه که بر روی گیاه *Xylopia amazonica* انجام گرفت، ED۵۰ در دوز درمانی ۲۵۰ میلی‌گرم محاسبه گردید که نشان‌دهنده اثرات ضد مالاریایی بهتر گیاه زنجبیل بوده است [۱۹]. البته اختلاف در دوز درمانی گزارش شده می‌تواند مربوط به اختلاف در نوع گیاه مصرفی و نوع حلال مورد استفاده، چرا که حلال در مطالعه حاضر هیدروالکل ولی در مطالعه مذکور کلروفرم بوده است. مطالعه دیگری با هدف تعیین اثر عصاره آبی دارچین بر روی پلاسمودیوم فالسیپاروم انجام گرفت. نتایج حاصل از مطالعه

نشان داد که IC۵۰ برای عصاره آبی دارچین در محیط کشت (In vitro) برابر با ۱/۲۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است [۲۰]. اختلاف در دوز مؤثر عصاره دارچین در مقایسه با عصاره زنجبیل در مطاعه حاضر می‌تواند به علت تفاوت در ترکیبات اصلی این دو گیاه و یا شرایط متفاوت آزمایش (درون تنی و برون تنی) باشد. دارچین حاوی ترکیباتی از قبیل سینامیک اسید، اوژنول، فلاندرن و ترکیبات ترپنی مثل لیمونن و ترانس سینام آلدهید، تانن و رزین می‌باشد [۲۱]، در صورتی که گیاه زنجبیل دارای ترکیباتی نظیر جینرول‌ها (gingerol)، پارادول‌ها و زینجرون دارد که اثر مهاری روی سیستم گزانتین اکسیداز دارد که مسئول تولید انواع اکسیژن فعال نظیر آنیون‌های سوپراکسید می‌باشد، لذا دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشد [۲۳-۲۲].

زنجبیل یکی از گیاهان سنتی است که اثر ضد انگلی آن بر روی انگل‌های مختلف مانند توکسوپلاسما گوندی، دیروفیلاریا ایمیتیس و کیست هیداتید ثابت شده است، اما اثرات ضد مالاریایی آن مورد بررسی قرار نگرفته بود [۲۵-۲۴]، نتایج مطالعه حاضر نشان داد گیاه فوق اثرات ضد مالاریایی قابل قبولی (۶۲ درصد) داشت. در این راستا، Feizi و همکاران اثرات فوق العاده‌ای از عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل بر روی پروتواسکولکس انگل اکینوکوکوس گرانولوس گزارش کرده‌اند که در این مطالعه، عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل نشان داده است که در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر صد درصد پروتو اسکولکس‌ها را در مدت ۴۰ دقیقه از بین برده است [۲۴]. مقایسه نتایج حاصل از مطالعه حاضر و مطالعه Feizi و همکاران نشان می‌دهد که اثر عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل بر روی پروتواسکولکس انگل اکینوکوکوس گرانولوس بهتر از انگل پلاسمودیوم برگئی می‌باشد که این مطلب نشان‌دهنده مقاومت کم‌تر پروتواسکولکس نسبت به تروفوزوئیت پلاسمودیوم می‌باشد که این مقاومت کم‌تر ممکن است، به‌خاطر نوع مطالعه (درون تنی و برون تنی) باشد. احتمالاً انگل در محیط کشت و خارج از شرایط فیزیولوژیک و طبیعی نسبت به شرایط درون تنی از مقاومت کم‌تری برخوردار است. در مطالعه دیگر، Merawin و همکاران در سال ۲۰۱۰ از عصاره عصاره آبی زنجبیل در غلظت‌های ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای ۱۰۰ درصد فعالیت میکروفیلاریسیدال در برابر دایرروفیلاریا ایمیتیس در شرایط آزمایشگاهی را نشان دادند [۲۵].

از طرفی دیگر، مهم‌ترین فاکتور در اثر بخشی یک گیاه، ترکیبات مؤثره در آن گیاه می‌باشند. به‌عنوان مثال گیاه زنجبیل با توجه به ماده مؤثره خود، تابه‌حال اثرات ضد سرطانی، ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد تهوع و استفراغ از آن گزارش شده است [۲۷-۲۶] که ممکن است برای سایر گیاهان این امکان وجود نداشته باشد. با توجه به خواص ذکر شده از گیاه زنجبیل و گزارشاتی از اثرات ضد انگلی این گیاه، شاید بتوان این گیاه را به‌عنوان کاندید داروی ضد انگلی در آینده دانست.

نتایج حاصل از مطالعات اخیر بر روی گیاهان داروئی، نشان داده‌اند که برخی از گیاهان داروئی نیز مانند بسیاری از داروهای شیمیایی دارای اثرات جانبی مخربی بر روی سلول‌های انسانی و مدل‌های حیوانی داشته‌اند [۱۴]. مطالعه حیوانی با بررسی اثر زنجبیل در بیماری‌های کبدی روی موش‌ها نشان داد که زنجبیل به‌طور معنی‌داری باعث کاهش تغییرات پاتولوژیکی در کبد می‌شود و با مهار فعالیت فاکتور

هسته‌ای کاپا (nuclear factor kappa)، سطوح TNF-α و IL-6 را کاهش می‌دهد و باعث کاهش مارکرهای التهابی کبد می‌شود [۲۸]. در مطالعه حاضر نیز بررسی کبد و کلیه موش‌های تحت درمان نشان داد در موش‌های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل نسبت به گروه کنترل منفی هیچ عوارض جانبی و تغییرات بافت شناسی قابل بررسی در کبد و کلیه گزارش نشد که البته نیاز به تحقیقات بیش‌تر در دوزهای درمانی بالاتر دارد. از طرفی بررسی بقاء در موش های گروه آزمون نشان داد تزریق عصاره زنجبیل (۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم) باعث افزایش بقاء در موش‌های مورد آزمون نسبت به گروه منترل مثبت شد، چرا که گیاه زنبیل با کاهش سطوح IL-۴ و IL-۵ می‌تواند باعث کاهش بقاء انگل در میزبان و در نتیجه افزایش طول عمر میزبان شود، افزایش تولید IL-۴ و IL-۵ از مکانیسم‌های فرار انگل از سیستم ایمنی میزبان می‌باشد [۳۱-۲۹].

نتایج مطالعه حاضر بیان‌گر اثر گیاه زنجبیل بر روی انگل پلاسمودیوم برگئی در موش می‌باشد که می‌تواند توصیه‌های پزشکان سنتی را راجع به استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌های عفونی تأیید کند [۱۶]. گرچه خاصیت ضد انگلی عصاره فوق بر روی انگل‌های یاد شده در مقایسه با کلروکین کم‌تر بوده است، اما اگر بتوان با استفاده از حلال‌های دیگر غلظت عصاره را افزایش داد و یا ماده مؤثره گیاه را که خاصیت ضد انگلی دارد، استخراج نمود و بعد مورد بررسی قرار گیرد، شاید بتوان اثر ضد انگلی بیش‌تر بر علیه پلاسمودیوم برگئی مشاهده نمود.

نتیجه‌گیری

با توجه به تأثیر ۶۲ درصدی گیاه زنجبیل در درمان موش‌های آلوده به پلاسمودیوم برگئی، پس از انجام مطالعات تکمیلی می‌توان گیاه زنجبیل را به‌عنوان یک داروی ضد انگلی و به‌خصوص ضد مالاریایی جدید در زمینه تحقیقات معرفی کرد. هرچند مطالعات بیش‌تر در این زمینه با افزایش زمان مورد بررسی و کاهش دوز درمانی دارو و یا تهیه عصاره‌های مختلف کلروفرمی، آبی گیاه جهت ارزیابی و مقایسه پیشنهاد می‌گردد. هم‌چنین پیشنهاد می‌گردد که برای ارتقاء اثرات گیاهان دارویی با انجام مطالعات تکمیلی مانند گازکروماتوگرافی، ترکیبات مؤثره هر گیاه مورد بررسی قرار گیرند که یقیناً با بررسی بیش‌تر می‌توان به یک ترکیب خالص‌تر و مؤثرتر دست یافت.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از انستیتو پاستور ایران جهت تهیه سویه‌های پلاسمودیوم برگئی، دانشگاه تهران جهت تهیه موش‌های سوری و همکاران ما در آزمایشگاه کاوش بافت که در انجام این مطالعه همکاری داشتند، قدردانی می‌نماید.

References

[1]Oyelade J, Isewon I, Uwoghiren E, Aromolaran O, Oladipupo O. In Silico Knockout Screening of *Plasmodium falciparum* Reactions and Prediction of Novel Essential Reactions by Analysing the Metabolic Network. *BioMed* 2018: 1-11 (doi.org/10.1155/2018/8985718).

[2]Nateghpour M, Edrissian Gh, Torabi A, Raesi A. Monitoring of Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum response to chloroquine in Bandar-Abbas district, Hormozgan province. *Tehran Univ Med J* 2009; 67 (3): 178-83. [Farsi]

[3]Flegg JA, Guérin PJ, Nosten F, Ashley EA, Phyo AP, Dondorp AM, et al. Optimal sampling designs for estimation of *Plasmodium falciparum* clearance rates in patients treated with artemisinin derivatives. *Malar J* 2013; 12: 411-16.

[4]Garedaghi Y, khaki A. Evaluation of the Effectiveness of Ethanolic Extract of Solanum Surattense against *Plasmodium berghei* in Comparison with Choloroquine in Sourian Mice Using Invivo Tests. *JTBZM* 2016; 37(6): 40-45. [Farsi]

[5]Elmi T, Gholami Sh, Azadbakht M. Ziaie H. Effect of Chloroformic Extract of *Tanacetum parthenium* in the treatment of *Giardia lamblia* infection in Balb/c Mice. *J Mazand Univ Med Sci* 2014; 24(1): 157-65. [Farsi]

[6]Bhattacharjee D, Shivaprakash G. Drug Resistance in Malaria-in a nutshell. *JAPS* 2016; 6(3): 137-43.

[7]Karimi S, Tahghighi A. A review to theimportance of quinolone ring in achieving new anti-malarial drugs. *RJMS* 2016; 23(142): 11-19. [Farsi]

[8]Elmi T, Gholami SH, Azadbakht M, Rahimi-Esboei B, Geraili Z. The effects of hydroalcoholic extract of leaves and onion of *Allium paradoxum* on *Giardia lamblia* in mice. *JSKUMS* 2014; 16(5): 13-22. [Farsi]

[9]Khalili M, Kiasalari Z, Farhadi E, Agah M. Effects of alcoholic extract of Zingiber officinalis rhizome on acute and chronic inflammation and pain in rats. *Koomesh* 2011; 12(2): 159-66. [Farsi]

[10] S. Lazzini, W. Polinelli, A. Riva, P. Morazzoni, E. Bombardelli. The effect of ginger *(Zingiber officinalis)* and artichoke *(Cynara cardunculus)* extract supplementation on gastric motility: a pilot randomized study in healthy volunteers. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016; 20(1): 146-49.

[11] Ghayur MN, Gilani AH, Janssen LJ. Ginger attenuates acetylcholine-induced contraction and Ca2+ signaling in murine airway smooth muscle cells. Can *J* Pharmacol 2008; 86(9): 264–71.

[12] Dadfar F, Bahaoddini A, Hoseini E. The Effect of Interaction of Hydroalcoholic Extract of Ginger Rhizome (*Zingiber Officinale*) with Nitric Oxide System on Mechanical Activity of Isolated Trachea of Male Rats. *JFUMS* 2014; 4(1): 42-49. [Farsi]

[13] Motevalli haghi A, Nateghpour M, Edirssian G, Sori E, Satvat M. Evaluation of the Effectiveness of Ethanolic Extract of Peganum harmala L. against Plasmodium berghei in comparison with Chloroquine

in Sourian Mice using in vivo tests. *Sjsph* 2004; 2 (1): 47-54. [Farsi]

[14] Karbalaei Z, Nateghpour M, Maghsood A, Souri E. Comparison between the effects of ethanolic extract of Artemisia annua and chloroquine on Plasmodium berghei in white mice. SJKU 2014; 19(2): 9-20. [Farsi]

[15] Knight DJ, Peters W. The antimalarial activity of Nbenzyloxy dihydrotriazines. The activity of clociguanil (BRL 50216) against rodent malaria, and studies on its mode of action. *Ann Trop Med Parasitol* 1980; 74 (4): 393-04.

[16] Chutoam P, Klongthalay S, Somsak V. Effect of Crude Leaf Extract of Bauhinia strychnifolia in BALB/c Mice Infected with Plasmodium berghei. *MCEJ 2015; 3(2)*: 1-5.

[17] Khodaparast Z1, Yousofi AR, Khoshvaghti A. Investigation of Curcumin Effects on Liver Tissue in Adult Male Rats Treated with Cyclophosphamide. *JFUMS* 2014; 4(3): 344-52. [Farsi]

[18] Afrouzan H, Abouie Mehrizi A, Shokrgozar M A, Tahghighi A, Eshaghi A, Dinparast Dgadid N. Assessment of the cytotoxicity and in vivo anti-Plasmodial activity of ethanol and dichloromethane extracts of four different Iraninan propolis. *Yafte* 2017; 19 (2) :115-25. [Farsi]

[19] Lima R, Silva L.R, Melo M, Costa J.S. In vitro and in vivo anti‐ malarial activity of plants from the Brazilian Amazon. *Malaria J* 2015; 18(14): 1−14.

[20] Parvazi Sh, Sadeghi S, Azadi M, Mohamadi M, Zamani Z. The Effect of Aqueous Extract of Cinnamon on the Metabolome of Plasmodium falciparum Using 1HNMR Spectroscopy. *J Tropical Medicine* 2016; 1(3): 1-5.

[21] Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal Medicines. London*: Pharmaceutical Press* 1996: 63-77.

[22] Singh A, Duggal S, Singh J, Katekhaye S. Experimental advances in pharmacology of gingerol and analogues. *IJCP* 2010; 2(4): 1-5.

[23] Ali BH, Blunden G, Tanira MO, Nemmar A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger: A review of recent research. *FCTJ* 2008;46(2):409-20.

[24] Feizi F, Moradkhani Sh, Matini M, Parandin F. To Study the Solicidal Effects of the Extracts of Ginger (Zingiber officinale) and Artemisia (Artemisia aucheri) on Protoscoleces of Hydratid Cyst in vitro. *AMUJ* 2015; 18(101): 45-52.

[25] Merawin LT, Arifah AK, Sani RA, Somchit MN, Zuraini A, Ganabadi S, Zakaria ZA. Screening of microfilaricidal effects of plant extracts against *Dirofilaria immitis*. *Res Vet Sci* 2010; 88(1): 142-7.

[26] Hekmatafshar M, Bardigorchaei A, Amin G, Vakili M, Eshginia S, Sanagoo A, et al. The effect of a Ginger extract on gastric residual volume among mechanically ventilated patients who Hospitalized in Intensive care unit. *JUNMF* 2012; 10 (3): 1-9. [Farsi]

[27] Saberi H, Keshavarzi B, Heshmati E, Shirpoor A. The protective effects of Ginger Extract on 8-OGdG and TAC changes induced by GAMMA radiation on the male rats. *JUUMS 2017*; 28 (1) :56-63 .[Farsi]

[28] Huang S-H, Lee C-H, Wang H-M, Chang YW, Lin C-Y, Chen C-Y, et al. 6-Dehydrogingerdione restrains lipopoly_ saccharide induced inflammatory responses in RAW 264.7 macrophages. *JAFC* 2014; 62(37): 9171-9.

[29] Srivastava K, Mustafa T. Ginger (Zingiber officinale) and rheumatic disorders. *MHJ* 1989;29(1):25-8.

[30] Srivastava K, Mustafa T. Ginger (Zingiber officinale) in rheumatism and musculoskeletal disorders. *MHJ* 1992;39(4):342-8.

[31] Malaguarnera L, Musumeci S. The immune response to Plasmodium falciparum malaria. *IDJ* 2002; 2(8): 472-78.

A Study on the Effect of Zingiber Officinale Hydroalcoholic Extract on *Plasmodium berghei* in Infected Mice: An Experimental Study

T. Elmi[1], F. Hajialiani[2], M. R. Asadi[3], F. Orujzadeh[4], A. Kalantari Hesari[5], B. Rahimi Esboei[6], Sh. Gholami[7]

Received: 17/09/2018 Sent for Revision: 24/10/2018 Received Revised Manuscript: 02/02/2019 Accepted: 03/02/2019

Background and Objectives: Considering the resistance of the Plasmodium parasite (the causative agent of Malaria) to antimalarial drugs, it is essential to find an alternative medicine for treating patients. Therefore, the present study aimed to investigate the antimalarial effect of Zingiber Officinale hydroalcoholic extract on mice infected with Plasmodium berghei.

Materials and Methods: In this experimental study, a number of 40 mice were infected with Plasmodium berghei and treated with different concentrations of the hydro-alcoholic extract of ginger plant (50, 100, 150, 200, 250 mg/ml) for four consecutive days. Toxicity testing was performed on liver and kidneys (hepatic and renal tissues) of mice. Finally, Data were statistically analyzed using the paired t-test and one-way analysis of variance (ANOVA).

Results: The results of this study showed that the hydro-alcoholic extract of ginger at a therapeutic dose of 250 mg/kg, had a suppressive effect (62%) on the growth of parasite in the mice, which was significantly different from the control group ($p<0.05$). The highest survival rate in the mice was at a concentration of 250 mg/kg with an average of 24± 2 days, which was significantly different from the other treatment groups ($p<0.05$). Comparing liver and kidney of mice with the negative control group showed that the extract had no toxicity for these organs ($p=0.071$).

Conclusion: Considering the treatment effect (62%) of Ginger plant on the mice infected with Plasmodium berghei, further researches on the use of this plant in the treatment of malaria parasite with increasing the therapeutic dosage of the drug or preparation of various chloroformic and water extracts of the plant is recommended.

Key words: Plasmodium berghei, Ginger plant, Hydroalcoholic extract, Mice.

Funding: This research was funded by the Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Conflict of interest: None declared

Ethical approval: The Ethics Committee of Iran University of Medical Sciences approved the study (IR.IUMS.FMD.REC.1397.219).

How to cite this article: Elmi T, Hajialiani F, Asadi M R, Orujzadeh F, Kalantari Hesari A, Rahimi Esboei B, Gholami Sh. A Study on the Effect of Zingiber Officinale Hydroalcoholic Extract on *Plasmodium berghei* in Infected Mice: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2019; 18 (4): 353-64. [Farsi]

1- PhD Student of Parasitology, Dept. of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0002-4247-4445.

2- PhD Student of Parasitology, Dept. of Parasitology and Mycology, School of Medicine-International Campus, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0002-5631-6667.

3- PhD in Histology, Razi Vaccine & Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization,Tehran,Iran, ORCID: 0000-0001-7462-4455.

4- MSc in Parasitology, Dept. of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0001-5209-385X.

5- PhD in Histology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0002-9079-753X

6- PhD Student of Parasitology, Dept. of Parasitology and Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0003-2595-9907.

7- Associate Prof. of Parasitology, Dept. of Parasitology, Toxoplasma Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran, ORCID: 0000-0003-2429-7702.

(Corresponding Author)Tel: (011) 33543249, Fax: (011) 33543249, E-mail: sgholami200@gmail.com