

Evaluation of the Effectiveness of Ethanolic Extract of *Solanum Surattense* against *Plasmodium Berghei* in Comparison with Chloroquine in Sourian Mice Using *Invivo* Tests

Yagoob Garedaghi^{1*}, Arash Khaki²

¹Department of Veterinary Parasitology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

²Department of Veterinary Pathology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

Received: 4 Jan, 2014

Accepted: 11 Feb, 2014

Abstract

Background & Objectives: By considering the importance of some medicinal plants that may have some antimalarial activity, an ethanolic extract of *Solanum surattense* was tested on *Plasmodium berghei* in sourian mice and a comparison was made with the effect of chloroquine on the same parasite.

Material and Methods: In this study 80 sourian mice were divided into 8 groups, each consisting of 10 animals. The first 7 groups were infected with *P. berghei* and the last group was used as control. The first seven groups were given chloroquine, *solanum surattense* at four different concentrations (20, 100, 300, 450 mg/kg) and placebo, respectively and the seventh group did not receive any treatment. The evaluation was done by Rane test. In each group the level of parasitaemia was determined on days 4 and 7, and the results compared with values from Day 0 (just before treatment) in order to record the decline in parasitaemia in treated groups.

Results: The results indicated that, although all the four concentrations of the *Solanum Surattense* extract significantly reduced parasitaemia in the infected subjects, the 450 mg/kg solution showed optimal effectiveness on the parasites in comparison with other concentrations. Results were analyzed using SPSS software and one-way analysis of variance (ANOVA).

Conclusion: We conclude that although the ethanolic extract of *Solanum Surattense* is not as effective as chloroquine in reducing parasitaemia, it significantly decreases the parasitemia when compared with control and placebo groups.

Keywords: *Plasmodium Berghei*, *Solanum Surattense*, Treatment, Mice, Chloroquine

*Corresponding author:

E-mail: Y_garedaghi@yahoo.com

مقاله پژوهشی

تأثیر عصاره الکلی گیاه تاجریزی بلوچی بر پلاسمودیوم برگئی در موش سوری و مقایسه آن با اثر کلروکین

یعقوب قره داغی^{۱*}، آرش خاکی^۲

^۱گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
^۲گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۹۲/۱۰/۱۴ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۲

چکیده

زمینه و اهداف: با توجه به اهمیت بالقوه داروهای گیاهی بومی که بتوانند تأثیر قابل قبولی بر روی انگل های مالاریا داشته باشند، اثر الکلی عصاره گیاه تاجریزی بلوچی بر روی پلاسمودیوم برگئی به طور تجربی در موش سفید کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت و با اثر کلروکین مقایسه شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تعداد ۸۰ عدد موش به ۸ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند، که ۷ گروه از آن با پلاسمودیوم برگئی آلوده گردیدند و با عصاره الکلی گیاه تاجریزی بلوچی و کلروکین با روش Rane test تحت درمان قرار گرفتند. در این روش پس از مشاهده انگل در خون محیطی موشهای آلوده شده، به جز گروههای شاهد و دریافت کننده پلاسبو (دارونما)، با غلظت های ۲۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره و غلظت ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن کلروکین تحت درمان قرار گرفتند. موثرترین غلظت در بین غلظت های مورد استفاده مشخص گردید. درمان به صورت زیرجلدی و در هر مرحله تا ۴ روز ادامه داشت. میزان پارازیمی در روزهای چهار و هفت نسبت به میزان پارازیمی روز قبل از درمان تعیین شد تا میزان کاهش پارازیمی در گروههای درمان شده با عصاره با گروههای شاهد و دریافت کننده دارونما مشخص شود. گروه ۸ در این مطالعه بدون هیچگونه تزریقی از انگل و دارو بوده، صرفاً جهت کنترل مرگ و میر تصادفی موشها در حیوانخانه نگهداری می شد.

یافته ها: آنالیز داده های خام با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون T-test انجام گردید و موثرترین غلظت در بین غلظت های مورد استفاده مشخص شد. بررسی نشان می دهد غلظت ۴۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره گیاهی به نحو معنی داری باعث کاهش میزان پارازیمی در موشهای آلوده شده است ($P < 0/05$). تأثیر کلروکین بر انگلهای تحت درمان قاطع و بیشتر از غلظت های متفاوت الکلی گیاه تاجریزی بلوچی بود.

نتیجه گیری: تأثیر عصاره الکلی گیاه تاجریزی بلوچی بر روی پلاسمودیوم برگئی قابل توجه است.

کلید واژه ها: پلاسمودیوم برگئی، گیاه تاجریزی بلوچی، درمان، کلروکین، موش سوری

* ایمیل نویسنده رابط: Y_garedaghi@yahoo.com

مقدمه

پزشکان ایرانی چون ابوریحان بیرونی و ابن سینا با داروهای مرکبی که از چند نوع گیاه و میوه تهیه می شد، بیماران را درمان می کردند (۶). به مرور داروهای شیمیایی جدید جایگزین داروهای گیاهی گردید که مهمترین و گسترده ترین آنها داروی کلروکین از خانواده ۴-آمینوکینولین ها بود. پس از کلروکین داروهای دیگری تولید و در درمان مالاریا به کار گرفته شدند (۷). بروز و گسترش مقاومت دارویی در کلروکین و دیگر داروهای ضد مالاریا در پلاسمودیوم فالسیپاروم در سال های اخیر درمان و کنترل مالاریای، فالسیپاروم را در بسیاری از مناطق مالاریا خیز جهان و اخیراً درمان مالاریای

مالاریا مهم ترین بیماری انگلی و یکی از مسایل مهم بهداشتی تعدادی از کشورها بخصوص کشورهای گرمسیری دنیا است (۱). مالاریا یک بیماری تک یاخته ای است که از نظر انتشار، میزان ابتلا و مرگ و میر مهمترین بیماری انگلی در دنیاست. بطوری که سالانه نزدیک به ۵۰۰ میلیون نفر در جهان به مالاریا مبتلا می شوند و ۲/۷-۱/۵ میلیون نفر در سال بر اثر مالاریا می میرند (۲ و ۳). عامل بیماری در انسان تک یاخته هایی از جنس پلاسمودیوم (پلاسمودیوم ویواکس، فالسیپاروم، مالاریه و اوآل) هستند (۴ و ۵). مالاریا از زمانهای قدیم در نقاط مختلف ایران وجود داشته است و

بررسی موشها از نظر میزان پارازیتمی تا روز ۲۱ و از نظر مرگ و میر تا روز ۳۵ ادامه داشت. نتایج پس از جمع‌آوری با نرم افزار SPSS و T-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. 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.

یافته‌ها

در این مطالعه میزان متوسط 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 ۴ (۲۴ ساعت پس از آخرین دوز درمانی)، روز ۷ (۳ روز پس از قطع درمان) با هم مقایسه گردیدند. در گروهی که کلروکین به عنوان درمان تجویز شده است (گروه ۵) میزان پارازیتمی به تدریج کاهش یافته، به گونه ای که در روز ۴ این میزان به صفر رسیده و تا روز ۷ همچنان صفر باقی مانده است. میزان پارازیتمی در گروههای ۶ (دریافت کننده دارونما) و ۷ (بدون درمان) در روز ۴ به ترتیب ۱۷/۲٪ و ۱۷/۸٪ بوده است که تفاوت معنی داری با گروه ۵ دارند ($P < 0.05$). میزان افزایش پارازیتمی برای گروههای ۶ و ۷ در روز ۴ نسبت به روز قبل از درمان به ترتیب ۱۰/۲٪ و ۹/۱٪ بوده است و میزان افزایش پارازیتمی در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۱۵/۳٪ و ۱۸/۷٪ بوده است. متوسط پارازیتمی در گروه اول که با غلظت ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه تاجریزی بلوچی، درمان شده اند در روز ۴، ۱۸/۶٪ بوده است. میزان افزایش پارازیتمی این گروه در روز ۴ نسبت به روز قبل از درمان ۷٪ و در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۱۵/۳٪ بوده است. متوسط پارازیتمی در گروه دوم که با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه تاجریزی بلوچی درمان شده‌اند در روز ۴، ۱۸/۶٪ بوده است. میزان افزایش پارازیتمی این گروه در روز ۴ نسبت به روز قبل از درمان ۱۱/۷٪ و در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۱۵/۸٪ بوده است. متوسط پارازیتمی در گروه سوم که با غلظت ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه تاجریزی بلوچی درمان شده‌اند در روز ۴، ۱۲/۸٪ بوده است. میزان افزایش پارازیتمی این گروه در روز قبل از درمان ۶/۸٪ و در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۱۰/۷٪ بوده است. متوسط پارازیتمی در گروه چهارم که با غلظت ۴۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه تاجریزی بلوچی درمان شده‌اند در روز ۴، ۴/۱۹٪ بوده است. میزان افزایش پارازیتمی این گروه در روز ۴ نسبت به روز قبل از درمان ۶٪ و در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۹٪ بوده است. مقایسه طول عمر موشها در گروههای درمانی، دارونما، کنترل و غیر آلوده 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 ۲۹ روز محاسبه

و یواکس را در بعضی از مناطق جهان با مشکلاتی مواجه کرده است. از طرف دیگر عوارض جانبی داروهای شیمیایی ضد مالاریا بویژه در نزد کودکان و زنان حامله استفاده از این داروها را با محدودیتهایی مواجه ساخته است (۸ و ۹). جستجو و تحقیق پیرامون داروهای جدیدی که بتواند در درمان سویه‌های مقاوم موثر بوده و از عوارض جانبی کمتری نیز برخوردار باشند ضروری و با اهمیت به نظر می‌رسد (۱۰). از آنجائی که استفاده از گیاهان داروئی به طور سنتی برای درمان مالاریا از زمان های قدیم متداول بوده است. انواعی از آنها مانند آرتمی سینین (Artemisinin) نیز از جمله داروهای موثر در این زمینه شناخته شده‌اند (۱۱). گیاهان بومی مناطق مالاریا خیز که به صورت محلی به عنوان تب بر استفاده می‌شوند نیز ممکن است نقش قابل توجهی در درمان و کنترل مالاریا داشته باشند. باتوجه به اهمیت موضوع تصمیم گرفته شد اثرات ضد مالاریائی عصاره الکلی گیاه تاجریزی بلوچی (*Solanum Surattense*) که از جوشانده آن در بعضی از مناطق جنوبی کشور به عنوان تب بر استفاده می‌شود و تاکنون اثرات ضد مالاریائی آن به صورت علمی مورد بررسی قرار نگرفته است استفاده شود. این بررسی اولین مطالعه به روش (in vivo) با استفاده از گیاه مذکور در درمان تجربی مالاریا می‌باشد. این مطالعه در آزمایشگاه تحقیقاتی مالاریا در واحد تک یاخته‌شناسی گروه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

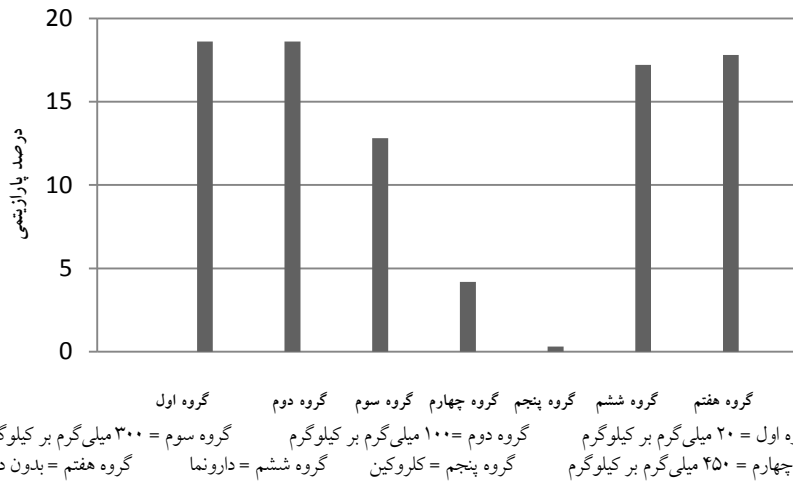
۸۰ موش سوری که از نظر جنس، سن و وزن در وضعیت مشابهی بودند (وزن 23 ± 2 گرم) به ۸ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. به ۷ گروه انگل پلاسمودیوم برگئی (۱۰^۶ گلبول قرمز آلوده، سوسپانسیون شده در سرم فیزیولوژی = حجم نهایی ۲ میلی لیتر) به صورت داخل جلدی تزریق شد و پس از مشاهده انگل در خون محیطی درمان آغاز شد. گروههای ۱ تا ۴ به ترتیب با چهار غلظت مختلف از عصاره الکلی گیاه تاجریزی بلوچی، ۴۵۰، ۳۰۰، ۱۰۰، ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم درمان شدند. به منظور حلالیت و رقیق‌سازی عصاره گیاه تاجریزی بلوچی، از توئین ۸۰ و سرم فیزیولوژی استفاده گردید. گروه ۵ با کلروکین ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم، گروه ۶ با تزریق دارونما (۲/۵٪ توئین ۸۰ در سرم فیزیولوژی)، گروه ۷ بدون دارو و گروه ۸ به منظور کنترل مرگ و میر تصادفی موشها در حیوانخانه بدون تزریق انگل و دارو نگهداری شدند. درمان با استفاده از روش پیشنهادی رایلی و پترس ۱۹۷۰ (۱۰) انجام گردید. این روش بر مبنای شروع درمان پس از مشاهده پارازیتمی در خون محیطی می‌باشد. درمان به صورت زیر جلدی و تا ۴ روز ادامه داشت. روزانه از انتهای دم موشها خونگیری به عمل آمده پس از تهیه گسترش نازک خون و رنگ آمیزی با گیمسا میزان پارازیتمی تعیین می‌گردید. موثرترین غلظت دارو، غلظتی بود که میزان پارازیتمی را به کمترین حد در مقایسه با دیگر غلظتها کاهش دهد و اثر سمی روی موشها نداشته باشد.

منفی دیده نشد و موشها کاملا وزن گرفته و سالم به نظر می- رسیدند (نمودار ۲ و ۱).

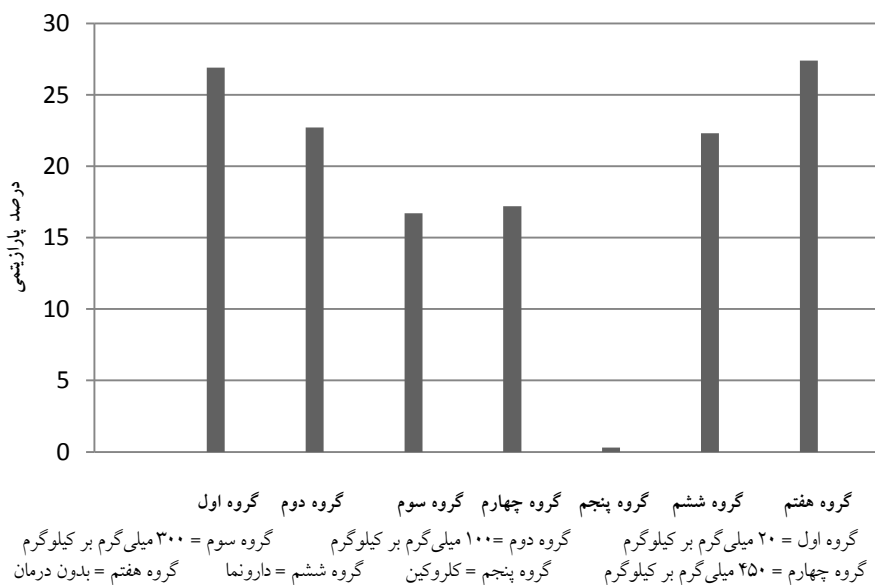
بحث

هدف از این مطالعه بررسی میزان تاثیر عصاره الکلی گیاه تاجریزی بلوچی، بر روی پلاسمودیوم برگئی در موشهای سوری و مقایسه آن با کلروکین بود. بررسیهای انجام شده نشان می دهد که قبلا مطالعاتی در زمینه اثر گیاهان دارویی، از جمله اسپند و کاسنی بر پلاسمودیوم برگئی در ایران انجام شده است. در مطالعه بر روی عصاره الکلی دانه اسپند غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با کمترین اثر سمیت، بیشترین تاثیر را در کاهش پارازیتمی در موشهای تحت بررسی داشته است. ضمنا در این مطالعه سمیت غلظتهای عصاره مذکور در غلظتهای بالا نمایان گردید (۱ و ۲).

گردید. در سایر گروهها، گروه ۴ (درمان شده با عصاره با غلظت ۴۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بعد از کلروکین دارای بیشترین متوسط طول عمر بوده، و متوسط عمر در این گروه ۲۰/۲ روز بود در حالیکه متوسط بقا در گروه دارونما و کنترل به ترتیب برابر با ۱۰ و ۹ روز بوده است و این نتایج تفاوت کاملا آشکاری را نمایان می- سازد. گروه ۱ که با غلظت ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره درمان شده بودند دارای میانگین بقای ۱۰ روز، گروه ۲ که با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره درمان شده بودند دارای میانگین بقای ۱۲ روزه و گروه ۳ که با غلظت ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره درمان شده بودند دارای میانگین بقای ۱۴ 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. در موشهایی که به منظور بررسی سمیت احتمالی عصاره گیاه تاجریزی بلوچی، تحت نظر قرار داشتند هیچ مورد مشکوک یا



نمودار ۱: مقایسه میزان پارازیتمی پلاسمودیوم برگئی در گروههای دریافت کننده عصاره گیاه تاجریزی بلوچی، کلروکین و شاهد در روزهای صفر تا ۴ از درمان



نمودار ۲: مقایسه میزان پارازیتمی پلاسمودیوم برگئی در گروههای دریافت کننده عصاره گیاه تاجریزی بلوچی، کلروکین و شاهد در روزهای ۴-۷ پس از درمان

صورت نگرفته است و اظهار نظر در این مورد نیازمند بررسی‌های بیشتری می‌باشد.

نتیجه‌گیری

عصاره الکلی گیاه تاجریزی بلوچی در غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای اثر قابل ملاحظه‌ای در کاهش میزان پارازیتی انگل پلاسمودیوم برگئی در موشهای تحت مطالعه در مقایسه با گروههای کنترل داشته است. گرچه خاصیت ضدانگلی عصاره مذکور در مقایسه با داروی کلروکین بر روی انگل‌های یاد شده کمتر بوده است اما اگر بتوان با استفاده از حلالهای دیگر غلظت عصاره را افزایش داد و یا ماده موثره گیاه تاجریزی بلوچی را تخلیص کرد و به کار برد شاید بتوان نتایج بهتری در کاهش میزان پارازیتی و افزایش طول عمر موشها بدست آورد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت‌های مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام پذیرفته است که نویسندگان این مقاله وظیفه خود می‌دانند تا از مسئولان ذیربط قدردانی بعمل آورند.

در این مطالعه غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی گیاه تاجریزی بلوچی بیشترین تاثیر را در کاهش پارازیتی در موشهای آلوده داشته است ($P < 0.05$)، و به دلیل عدم سمیت عصاره مورد استفاده و مصرف دارویی آن به عنوان تب بر در افراد بومی مناطق مالاریا خیز ایران، استفاده از غلظتهای بالاتر نسبت به عصاره الکلی دانه اسپند امکان پذیر بود. در مطالعه دیگر که بر روی گیاه کاسنی صورت گرفت غلظتهای ۱/ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۰/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشترین تاثیر را در کاهش پارازیتی در موشهای آلوده داشته است. عصاره این گیاه هم مانند عصاره الکلی دانه اسپند در غلظتهای بالاتر اثرات سمی داشته است (۲۰۱۲). البته تفاوت این مطالعه با بررسی حاضر نحوه تجویز دارو بوده، که عصاره گیاه کاسنی از طریق خوراکی مورد استفاده قرار گرفته است ولی در مطالعه حاضر بر روی گیاه تاجریزی بلوچی، عصاره مورد استفاده از طریق تزریق بکار رفته است. استفاده از گیاه تاجریزی بلوچی به علت داشتن ترکیبات آنتی اکسیدان زیاد می‌تواند تاثیرات مفید و سودمندی بر بدن داشته باشد (۱۳۰۴). لازم به ذکر است که تاکنون در خصوص تاثیر عصاره الکلی گیاه تاجریزی بلوچی بر پلاسمودیوم برگئی در موش سوری و مقایسه آن با اثر کلروکین در ایران و سایر کشورها مطالعات زیادی

References

- Nateghpour M, Mayahi Pour A, Edirssian Gh.H, Sori E, Motevalli Haghi A. Evaluation of the effectiveness of ethanolic extract of *Otostegia persica* against *plasmodium berghei* in comparison with chloroquine in sourian mice using invivo tests. *School of Public Health Institute of Public Health, Tehran University of Medical Sciences* 2008; **6**(1): 57-62.
- Hakimipour G. Survey on antimalarial effects of *cichorium intybus*. *Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran* 2004.
- Motevalli Haghi A, Nateghpour M, Edirssian Gh.H, Sori E, Satvat M.T. Evaluation of the effectiveness of ethanolic extract of *peganum harmala l.* against *plasmodium berghei* in comparison with chloroquine in sourian mice using invivo tests. *School of Public Health Institute of Public Health, Tehran University of Medical Sciences* 2004; **2**(1): 47-54.
- Clarck, C, Key S.W. Who releases revised facts on Malaria. *Malaria Weekly Report* 1996; **15**: 7-9.
- Harrison T.R. *Harrison's Infectious Disease Viral and parasitic Infectious*. 14th ed. 1998; PP: 218-232.
- Klayman D.L, Acton N, Scovill J.P, Hoch J.M, Milhous W.K, Theorides A.D. Isolation of artemisinin (qinghaosu) from *Artemisia annua* growing in the United States. *J Nat Prod* 1984; **47**: 715-717.
- Peters W. Drug Resistance in *plasmodium berghei* vincke and Lips, 1948. I. Chloroquine Resistance. *Exp Parasitol* 1965; **17**: 80 -89.
- Sathiyamoorthy P, Lugasi-Evig H, Schlesinger P, Kedar I, Gopas J, Golan-Goldhirsh A. Screening for cytotoxic and antimalarial activities in desert plants of the Neger and Bedouin market plant products. *Pharmaceutical Biology* 1999; **37**(3): 188-195.
- Rashan L.J. Invitro antiviral activity of the aqueous extracts from the seeds of *Ph.harmala*. *Fitotoerapia* 1989; **64**: 365-367.
- Ryley J.F, Peters W. The antimalarial activity of some quinolone esteras. *Ann J Trop Med Parasitol* 1970; **84**(2): 209-213.
- Ramazani A, Zakeri S, Sardari S, Khodakarim N, Djaidit N.D. In vitro and in vivo anti-malarial activity of *Boerhavia elegance* and *Solanum surattense*. *Malaria Journal* 2010; **9**(124): 1-8. Available from: (<http://www.malariajournal.com/content/9/1/124>).
- Ravikumar S, Inbaneson S.J, Suganthi P. In vitro antiplasmodial activity of ethanolic extracts of South Indian medicinal plants against *Plasmodium falciparum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2012; 1-9. Available from: (www.elsevier.com/locate/apjtb).

13. Sharifar F, Yassa N, Shafiee A. Antioxidant Activity of *Otostegia persica* (Labiatae) and its constituents. *Iranian Journal of pharmaceutical Research* 2003; **8**(2): 235-239.

14. WHO. The use of antimalarial drugs , Report of a WHO Informal consultation, 13-17 November 2001, *WHO/CDS/RBM*. **33**; 8-16.