

ارزیابی نقش عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل (*Zingiber officinale* L.) و ویتامین C بر حیات سلولی سلول‌های نرمال لثه و پوست در مواجهه با محلول درابکین

محمد شکرزاده^۱، فرزانه السادات متفقی^۲، شقایق شکرزاده^۳، صفورا پوراسداله^۴

تاریخ دریافت ۱۴۰۱/۰۶/۱۳ تاریخ پذیرش ۱۴۰۱/۰۸/۱۵

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: در جامعه امروزی مواد شیمیایی منافع و کاربردهای زیادی دارند. یکی از این مواد شیمیایی درابکین است که در آزمایشگاه هماتولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرد. محلول درابکین سمی بوده و برای سلامت پوست مضر است. در این مطالعه با توجه به ترکیبات شیمیایی ویتامین C و خواص فیتو شیمیایی گیاه زنجبیل بر آن شدیم تا اثرات محلول هیدروالکلی این گیاه را بر زنده‌مانی سلول‌های نرمال پوست و لثه در مواجهه با محلول درابکین بررسی نماییم. **مواد و روش کار:** اثرات محافظتی عصاره زنجبیل و ویتامین C (دوز ۰/۱، ۰/۵، ۱/۰، ۵/۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) بر سمیت ناشی از درابکین توسط تست سنجش رنگ سنجی (MTT) برای بررسی بقا و زنده‌مانی سلول‌های نرمال لثه و پوست اندازه‌گیری شد. از نرم‌افزار آماری Prism نسخه ۸ و تست‌های آماری one way ANOVA و تست Tukey برای بررسی آماری استفاده شد. حد معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. **یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت‌های بالای ویتامین C و زنجبیل باعث مهار سمیت محلول درابکین می‌شود، بطوریکه افزایش معنی‌دار در رشد سلول‌های نرمال شده وجود داشت. محلول درابکین در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میکرومولار بر رده‌های سلولی مورد مطالعه سمیت داشته است. **بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف عصاره زنجبیل و ویتامین C در غلظت‌های مختلف سبب افزایش رشد سلول‌های نرمال لثه و پوست و در نتیجه موجب حفاظت سلولی از آسیب ناشی از درابکین شده است. **کلیدواژه‌ها:** محلول درابکین، عصاره هیدروالکلی زنجبیل، ویتامین C، سلول نرمال لثه، سلول نرمال پوست

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و سوم، شماره سوم، ص ۲۳۳-۲۲۰، خرداد ۱۴۰۱

آدرس مکاتبه: ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، تلفن: ۰۹۱۱۱۲۶۳۴۴۸

Email: mslamuki@gmail.com

مقدمه

صعب‌العلاج مانند سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند دارای منشأ طبیعی هستند (۲). گیاهان منبع مهمی از ترکیب‌های فعال از قبیل فنل‌ها، ترپنوئیدها، اجزای معطر، روغن‌های اساسی، استرول‌ها، آلکالوئیدها، پلی‌ساکاریدها، تانن‌ها و آنتوسیانین‌ها هستند که نقش مهمی در درمان بیماری‌های مختلف دارند (۳). در دهه‌های اخیر، توجه زیادی به بررسی فعالیت‌های زیستی (فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد التهابی گیاهان دارویی شده است. ثابت شده است که گیاهان حاوی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی متنوعی هستند و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی عمدتاً با مواد شیمیایی موجود در آن‌ها مرتبط است (۴).

یکی از مهم‌ترین منابع غذایی و دارویی برای بشر، گیاهان هستند. گیاه‌درمانی شاخه‌ای از طب سنتی است که نقش تعیین‌کننده‌ای در درمان بیماری‌ها دارد. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که به دلیل عوارض جانبی کمتر داروهای گیاهی در قیاس با داروهای شیمیایی، در سال‌های اخیر مردم دنیا گرایش بیشتری به مصرف داروهای گیاهی پیدا کرده‌اند (۱).

بسیاری از داروهای مهم که ب‌طور گسترده‌ای در درمان بیماری‌ها مختلف ناشی از عفونت‌های قارچی، باکتریایی و ویروسی تا بیماری‌های قلبی - عروقی و یا حتی بیماری‌های مزمن و

^۱ استاد، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران (نویسنده مسئول)

^۲ دکتری سم شناسی و گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

^۳ دانشجوی پزشکی و دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

^۴ گروه ژنتیک، موسسه غیرانتفاعی سنا، مازندران، ساری، ایران

استرس اکسیداتیو پدیده‌ای است که به دلیل عدم تعادل بین تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول‌ها و بافت‌ها و توانایی یک سیستم بیولوژیکی برای سم‌زدایی این محصولات واکنشی ایجاد می‌شود. استرس‌های اکسیداتیو نیز در ایجاد بیماری‌های پوستی لته‌ای می‌توانند دخیل باشند. استرس اکسیداتیو به معنای عدم تعادل بین وضعیت آنتی‌اکسیدانی و میزان تولید رادیکال‌های آزاد در سلول است که باعث آسیب اکسیداتیو ماکرو مولکول‌ها مثل پروتئین‌ها و لیپیدها می‌شود. استرس اکسیداتیو با دنا توره کردن پروتئین‌ها، غیرفعال ساختن آنزیم‌ها، آسیب به DNA و پراکسیداسیون لیپیدها برای سلول سمی است (۵).

همان‌طور که گفته شد در جامعه امروزی مواد شیمیایی منافع و کاربردهای زیادی را به دنبال دارند یکی از این مواد که برای سلامت پوست هم مضر است و در امور هماتولوژی در آزمایشگاه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، محلول درابکین است. ترکیب این محلول سیانید پتاسیم، بی‌کربنات سدیم، فروسیانید پتاسیم و یک محلول قلیایی است و از آنجایی که در سال‌های اخیر توجه زیادی به سلامت و زیبایی پوست شده است ناراحتی پوستی هم یکی دیگر از عوارض مواد شیمیایی است. بسیاری از بیماران در طول درمان به داروهای شیمی درمانی مقاومت پیدا کرده که خود از مشکلات جدی در درمان به شمار می‌آید (۶). در سال‌های اخیر توجه زیادی به سلامت و زیبایی پوست شده است. یکی از راه‌های جلوگیری از پیری پوست و چروک، منابع فیتواستروئول طبیعی می‌باشند. عصاره‌های گیاهی غنی از ترکیبات شیمیایی گیاهی همانند فلاوونوئیدها، فنولیک اسیدها، توکوفرول‌ها، الکاوتئیدها و مونوترپن‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده و به‌صورت گسترده در محصولات آرایشی – بهداشتی ضد چروک به کار می‌روند. گیاهان دارویی فعالیت بازدارندگی کلان‌تاز و الاستاز را انجام می‌دهند، که رشته‌های الاستین و کلاژن را تقویت می‌کند، و نیز اثرات آنتی‌اکسیدانی ناشی از این گیاهان می‌تواند نقش حائز اهمیتی را در به تعویق انداختن فرایند پیری پوست بازی کند و پتانسیل خوبی در جهت پیشبرد اهداف آرایشی-بهداشتی داشته باشد (۷).

سرطان پوست یکی از رایج‌ترین نوع سرطان در سرتاسر جهان است که تقریباً نیمی از جمعیت سرطانی‌ها در میان سفیدپوستان را به خود اختصاص داده است (۸). در سال‌های آینده سرطان پوست می‌تواند به‌عنوان یک مشکل مهم در سلامت عمومی جامعه مطرح باشند. بنابراین مطالعه سرطان پوست و کاهش وقوع آن به‌وسیله همه راه‌های ممکن حائز اهمیت زیادی است. گیاهان دارویی به‌عنوان یک منبع مؤثر و مطمئن عوامل ضد سرطان، نقش مهمی ایفا می‌کنند. ۶۰ درصد عوامل ضدسرطانی که امروزه استفاده می‌شوند از منابع طبیعی مثل گیاهان به دست آمده‌اند (۹).

در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی جهت دستیابی به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشأ گیاهی که بتوانند بدون ایجاد آثار تخریبی جانبی از آسیب به سلول‌های نرمال بدن در مواجهه با داروهای شیمیایی و عوامل دیگر صورت گرفته است. از این میان زنجبیل ریزوم گیاه تازه یا خشک‌شده *Zingiber officinale* است که از دوران باستان به‌عنوان یک گیاه دارویی در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۰). ترکیب شیمیایی گیاه زنجبیل شامل کربوهیدرات (۷۰-۵۰ درصد)، لیپید (۸-۳ درصد)، ویتامین‌ها (به‌ویژه ویتامین C)، املاح معدنی (آهن، منیزیم و کلسیم)، ترکیبات فنولی (شوگول‌ها، جینجرول‌ها، جینجردیول، پارادول‌ها، زینجیبرن، زینجرولن) و ترپن‌ها (بتا – بیزابولن، آلفا – فارنس، بتا – سزکویی فلاندرن و آلفا – کورکومن) می‌باشد (۱۱). اغلب ترکیبات فنولی فعال موجود در زنجبیل به‌ویژه جینجرول‌ها، جینجردیول، زینجیبرن، زینجرولن و شوگول‌ها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و موجب حذف رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از شکل‌گیری متابولیت‌های فعال و مضر در بدن می‌شود (۱۲). به همین دلیل استفاده از داروهای گیاهی برای مقابله با سلول‌های سرطانی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. داروهای گیاهی با القای آپوپتوز، توقف چرخه سلولی، اختلال در مسیرهای پیام‌رسانی سلول، مهار توپوایزومرازها و تداخل با مایکروتوبول‌ها، اثرهای ضدسرطانی خود را اعمال می‌کنند (۱۳).

از آنجایی که مطالعات جامعی به‌منظور بررسی آسیب‌زایی سلولی محلول درابکین صورت نگرفته و با توجه به تحقیقات متعددی که در زمینه خاصیت آنتی‌اکسیدانی زنجبیل صورت گرفته است، هدف از این مطالعه استخراج عصاره هیدروالکلی زنجبیل به‌منظور بررسی نقش آن به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی و کاهنده رادیکال‌های آزاد ناشی از سمیت محلول درابکین در سلول‌های نرمال لته و پوست در نظر گرفته شده است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه زنجبیل:

ریزوم این گیاه از بازار خریداری شد و تا جایی که امکان داشت توسط آسیاب پودر گردید. ریزوم خریداری‌شده حدود یک کیلوگرم بود که پس از آسیاب کردن حدود ۷۰۰ گرم پودر زنجبیل به دست آمد.

عصاره‌گیری:

عصاره‌گیری با دو حلال اتانول و آب به روش ماسراسیون چندباره انجام شد. روی مقداری از پودر زنجبیل حلال اتانول ۷۰ درصد اضافه شد، به‌گونه‌ای که حلال کل گیاه را در برگیرد و به میزان ۲ سانتیمتر نیز از سطح آن فراتر رود؛ سپس به مدت ۴۸

اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی تام:

میزان فلاونوئید تام به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری می‌شود. در این روش میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده. بعد از نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه، جذب مخلوط در ۴۱۵ نانومتر قرائت می‌شود (۱۴، ۱۶)

تهیه ویتامین C:

که به‌صورت محلول از شرکت Merck آلمان تهیه‌شده و رقت سازی شده و مورد استفاده قرار گرفته شد.

کشت سلول:

در این مطالعه تجربی از رده سلولی فیبروبلاست لثه (HGF) و رده سلولی پوست (HFF) که از بانک سلولی انیستیتو پاستور تهران تهیه شد استفاده گردید. سپس هر کدام به‌طور جداگانه در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS)، سدیم پیرووات ۱۰۰ میلی‌گرم، ۱/۵ g/l سدیم بی‌کربنات و یک درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت کافی و میزان پنج درصد دی‌اکسید کربن نگهداری می‌شدند و وقتی که تا ۷۰ درصد رشد خود رسیدند سلول‌ها را توسط (EDTA) از ته فلاسک جدا و با دور ۱۵۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ انجام شد و رسوب سلولی ایجاد شده را به حالت سوسپانسیون تهیه و برای درصد زنده ماندن سلول‌ها از رنگ تریپان به لو و لام همو سایتومتر توسط میکروسکوپ نوری استفاده شد (۱۷، ۱۸).

ارزیابی سمیت سلولی (تست MTT):

بررسی زنده بودن سلول‌ها توسط تست MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. روش MTT، یک روش کمی اسپکتروفتومتری است که طی آن نمک تترازولیوم که محلول در آب است و زمانی که در محیط کشت فاقد فنول رد یا بافر PBS آماده‌سازی می‌شود، محلول زردرنگی ایجاد می‌کند که توسط آنزیم دهیدروناز میتوکندری سلول‌های فعال احیاء شده و به کریستال‌های نامحلول و ارغوانی رنگ فورمازان تبدیل می‌شوند. جذب نوری این کریستال‌ها پس از حل شدن در حلال‌هایی مثل DMSO و ایزوپروپانول اسیدی توسط دستگاه الایزا ریدر قابل اندازه‌گیری است. هرچه میزان زنده بودن سلول‌ها پس از تیمار بیشتر باشد میزان جذب نوری که با دستگاه قرائت می‌شود بیشتر می‌شود، زیرا میزان رنگ ایجاد شده توسط سلول‌های زنده بیشتر است. پس از آنکوباسیون سلول‌های پوست و لثه با غلظت‌های (۰/۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از عصاره و ویتامین C در دوره زمانی ۲۴ ساعت

ساعت در دمای اتاق قرار داده و پس از آن، شیر قیف را باز کرده تا عصاره خارج شود. این عمل دو بار تکرار شد. از انواع حلال‌های آبی، الکلی و هیدروالکلی در این روش می‌توان استفاده می‌شود زیرا مواد مؤثره نسبت به دما، حساس هستند و حرارت باعث از بین رفتن آن‌ها می‌شود، در مطالعاتی که هدف تحقیقات بیولوژیکی بوده (استفاده از عصاره به‌عنوان دارو) و کیفیت و درصد مواد مؤثره مهم می‌باشد، این روش پیشنهاد می‌شود (۱۴).

تغلیظ سازی عصاره:

محلول حاوی عصاره و حلال به‌منظور تغلیظ سازی عصاره و خارج کردن حلال به درون بالن دستگاه روتاری منتقل شد که بالن حاوی نمونه به انتهای مبردی که در حمام آب قرار دارد، متصل شد؛ سپس بالن مربوط به جمع‌آوری حلال متصل و با گیره محکم شد؛ در ادامه دما و سرعت چرخش تنظیم شد و جریان آب و جریان خلأ نیز برقرار شد. سپس دستگاه به‌منظور پراندن حلال روشن شد. دستگاه روتاری با گرم کردن محلول موجب تبخیر حلال شده که این حلال تبخیر شده به کمک پمپ خلأ کشیده شد و سپس در مبرد بالایی دستگاه به کمک جریان آب سرد، به مایع تبدیل شده و وارد بالن جمع کننده حلال می‌شود (۱۴)

خشک کردن عصاره:

عصاره‌های تغلیظ شده به‌منظور خشک شدن و تبدیل شدن به پودر به دستگاه فریز درایر منتقل شدند. دستگاه فریز درایر یا خشک‌کن انجمادی به‌واسطه منجمدسازی ماده و سپس کاستن فشار محیطی منجر به منجمدسازی و سپس تبخیر حلال می‌شود که درواقع با تبدیل فاز جامد به فاز گازی عمل می‌کند.

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی تام:

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری می‌شود و نتایج برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان می‌شود. روش فولین سیوکالتو از متداولترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی‌رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهد. به‌طور خلاصه در این روش، ۲۰ میکرونی‌تر از محلول عصاره درون لوله‌آزمایش با ۱/۱۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط می‌شوند. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۲۰ درصد وزنی/حجمی) به محتوای لوله‌آزمایش افزوده می‌شود. لوله‌های آزمایش بعد از تکان دادن، درون حمام آب با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر بررسی می‌شود (۱۴، ۱۵).

همه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری Prism مدل 8 صورت گرفت. تست‌های آماری مورد استفاده شامل one_way ANOVA test با پست تست Tukey استفاده شد. حد معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تأثیر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر سمیت ناشی از درابکین بر رشد سلول‌های نرمال لته (HGF):

همان‌طور که در نمودار و جدول (۱) نشان داده شده است، سلول‌های HGF در مواجهه با درابکین در غلظت IC_{50} باعث کاهش رشد ۴۵ درصد شده است. تیمار سلول‌ها نرمال لته با عصاره زنجبیل در غلظت‌های از پیش تعیین‌شده، باعث مهار سمیت درابکین و افزایش رشد سلول‌های نرمال شده است به‌طوری‌که رشد سلول‌های از ۵۷.۳۷ درصد در کمترین غلظت به ۸۷ درصد در بالاترین غلظت زنجبیل رسیده، که این تأثیر وابسته به دوز بوده است. در مقایسه آماری با گروه کنترل مثبت مشخص گردید که، غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای اختلاف معنی‌داری بودند که به ترتیب $p < 0.01$ و $p < 0.05$ می‌باشد.

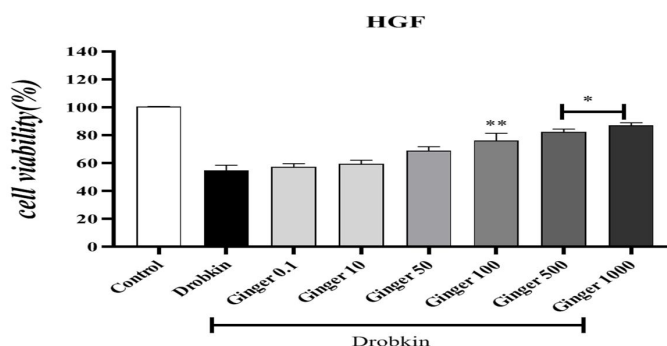
موردسنجش MTT قرار گرفتند. بدین منظور مقداری از پودر MTT توسط محلول PBS رقیق شد و سپس با فیلتر استریل شد، ۵۰ میکرولیتر از آن به پلیت‌ها اضافه گردید و در انکوباتور CO_2 دار قرار داده شدند. پس از گذشت ۴ ساعت، پلیت‌ها از انکوباتور خارج شده، محیط حاوی MTT خارج گردیده و به هر خانه مقدار ۲۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه شد. بعد از حدود ۱۰ دقیقه توسط دستگاه Elisa Reader در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد و OD (جذب نوری) به دست آمد (۱۹، ۲۰).

روش محاسبه IC_{50} :

درصد سلول‌های زنده مانده از هر یک از رده سلولی پوست و لته پس از مواجهه با عصاره هیدروالکلی زنجبیل و درابکین به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. زیرا یک ترکیب سایتوتوکسیک می‌باشد و باعث مرگ سلول‌های مواجهه یافته می‌شود. درصد زنده ماندن سلول‌های سالمی که در اثر مواجهه با ترکیب موردنظر غشاء آن‌ها تخریب نشده‌اند و رنگ به داخل آن‌ها نفوذ نموده است نسبت به گروه شاهد و نیز سایتوتوکسیسته و قدرت مهارکنندگی رشد (IC_{50}) عصاره گیاه نامبرده بعد از انجام تست MTT با استفاده از نرم‌افزار Prism Ver.3 محاسبه شد. بعد از آنکه اطلاعات جمع‌آوری شد داده‌ها با نرم‌افزار SAS مورد آنالیز قرار می‌گیرد.

جدول (۱): میانگین و انحراف معیار گروه‌های مختلف درمانی در رده سلولی HGF

Treatment Groups	HGF
Control	100.6±0.14
Drobkin	54.70±3.84
Drobkin + Ginger 0.1	57.37±2.29
Drobkin +Ginger 10	59.50±2.64
Drobkin +Ginger 50	69.01±2.78
Drobkin +Ginger 100	76.09±5.35
Drobkin +Ginger 500	82.49±1.90
Drobkin +Ginger 1000	87.00±2.0



نمودار (۱): اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی زنجبیل در غلظت‌های (۰/۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) میکروگرم بر میلی‌لیتر به همراه درابکین بر رشد سلول‌های نرمال لته (HGF). $P < 0.05$ ، $** p < 0.01$.

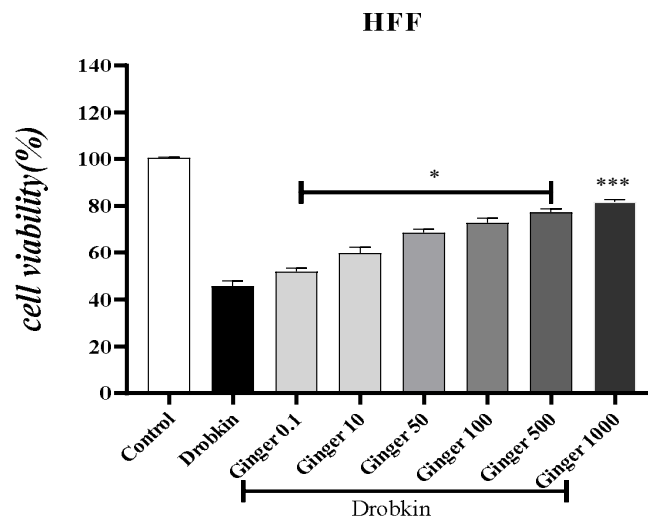
با غلظت‌های مختلف زنجبیل باعث افزایش رشد سلول‌های تا میزان ۸۱ درصد در بالاترین غلظت زنجبیل شده است کخ تاییدی بر وابسته به دز بودن اثر زنجبیل است. در مقایسه با گروه کنترل مثبت نشان داده است که تمامی گروه‌های درمانی اختلاف معناداری را با گروه کنترل مثبت نشان داده‌اند ($P < 0.05$) همچنین بالاترین غلظت زنجبیل نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داده است ($P < 0.001$).

تأثیر عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر سمیت ناشی از درابکین بر رشد سلول‌های نرمال پوست (HFF):

نمودار و جدول شماره (۲) نشان داده‌اند که، مواجهه سلول‌های HFF در غلظت IC_{50} با درابکین باعث کاهش رشد سلول‌ها به میزان ۵۵ درصد شده است. از طرفی دیگر تیمار سلول‌های نرمال با پوست

جدول (۲): میانگین و انحراف معیار گروه‌های مختلف درمانی در رده سلولی HFF

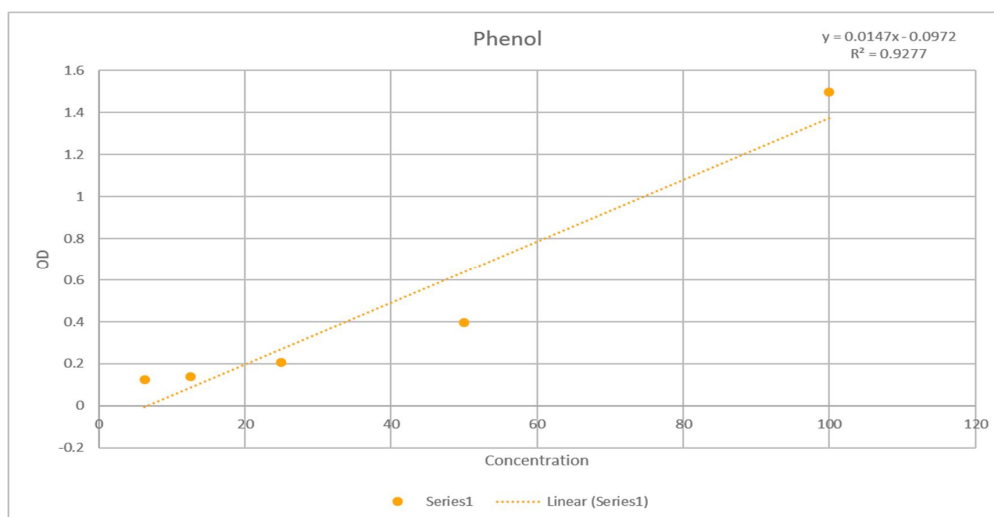
Treatment Groups	HFF
Control	100.6±0.14
Drobkin	45.70±2.32
Drobkin + Ginger 0.1	52.04±1.38
Drobkin +Ginger 10	59.83±2.59
Drobkin +Ginger 50	68.67±1.34
Drobkin +Ginger 100	72.75±2.06
Drobkin +Ginger 500	77.16±1.61
Drobkin +Ginger 1000	81.83±0.8



نمودار (۲): اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی زنجبیل در غلظت‌های (۰/۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) میکروگرم بر میلی لیتر به همراه درابکین بر رشد سلول‌های نرمال پوست (HFF). $p < 0.05$ *, $p < 0.001$ ***

با توجه به جدول و نمودار مشخص می‌شود که بیشترین محتوای فنول کل عصاره هیدروالکلی زنجبیل معادل ۰/۸۸۶ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره خشک آن می‌باشد.

اندازه‌گیری میزان فنل کل در عصاره هیدروالکلی زنجبیل: نمودار (۳) مقدار فنول کل برحسب میلی گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک را برای عصاره هیدروالکلی زنجبیل نشان می‌دهد.

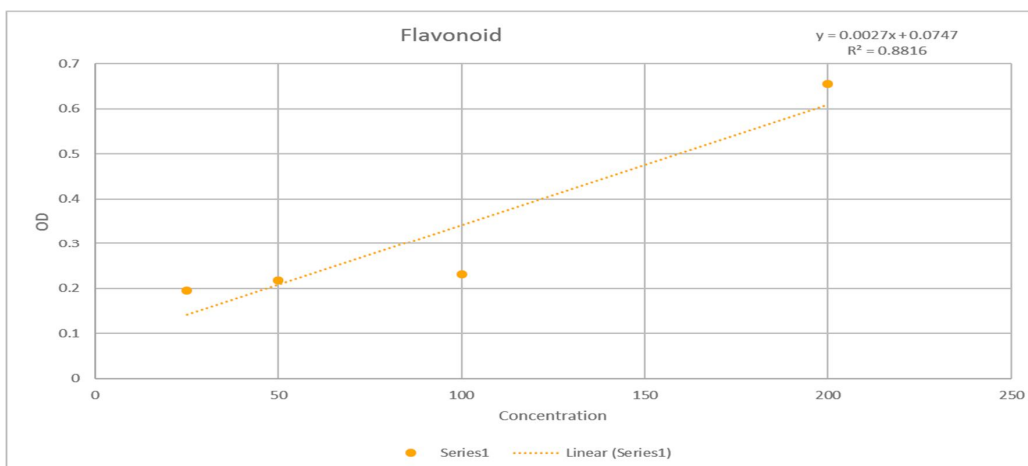


نمودار (۳): میزان اندازه فنل کل عصاره هیدروالکلی زنجبیل

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل موجود در عصاره

هیدروالکلی زنجبیل:

نمودار (۴) مقدار فلاونوئید کل برحسب میلی گرم کوئرستین به گرم وزن خشک برای عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل را نشان



نمودار (۴): میزان فلاونوئید عصاره هیدروالکلی زنجبیل

تأثیر ویتامین C بر سمیت ناشی از درابکین بر رشد

سلول‌های نرمال پوست (HFF):

در جدول (۳) غلظت‌های مختلف ویتامین C به همراه درابکین در غلظت IC_{50} به صورت میانگین و انحراف معیار درصد رشد سلول‌های نرمال پوست محاسبه گردیده است. همان‌طور که در

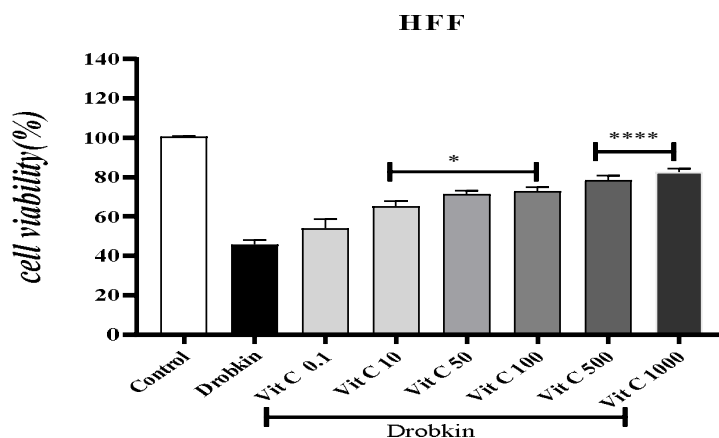
نمودار (۵) نشان داده شده است غلظت ۵۰ میکرومول درابکین بر رشد سلول‌ها تأثیر معنی‌داری داشته است. و باعث کاهش رشد سلول‌ها به میزان ۵۵ درصد شده است و با اضافه شدن ویتامین C در غلظت‌های از پیش تعیین‌شده، رشد سلول‌های نرمال پوست (HFF) از ۵۴ درصد به ۸۲ درصد رسیده است و مشخص گردید ه

اختلاف معنی‌داری داشته است $P<0/05$ و در غلظت‌های (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شده است ($P<0/0001$).

است که ویتامین سی باعث مهار سمیت درابکین شده است. که این اثر وابسته به دوز بوده است. در مقایسه آماری گروه‌های درمان با گروه کنترل مثبت، در غلظت ۰/۱ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است، اما در غلظت‌های (۱۰،۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)

جدول (۳): میانگین و انحراف معیار گروه‌های مختلف درمانی در رده سلولی HFF

Treatment Groups	HFF
Control	100.6±0.14
Drobkin	45.70±2.32
Drobkin + Vit C 0.1	54.04±4.75
Drobkin + Vit C 10	65.16±2.62
Drobkin + Vit C 50	71.34±1.71
Drobkin + Vit C 100	72.75±2.06
Drobkin + Vit C 500	78.49±2.38
Drobkin + Vit C 1000	82.49±1.90



نمودار (۵): اثر محافظتی ویتامین C در غلظت‌های (۰/۱، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) میکروگرم بر میلی‌لیتر به همراه درابکین در غلظت IC₅₀ بر رشد سلول‌های نرمال پوست (HFF). $p<0.05$, $**** p<0.0001$.

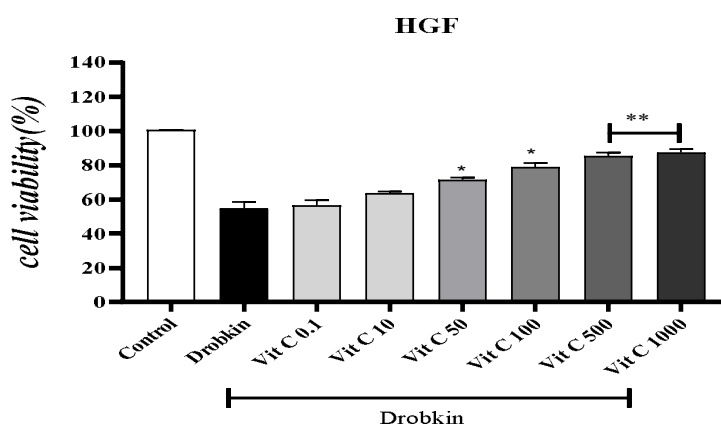
مواجهه سلول‌های لثه تیمار شده با تک غلظت درابکین و ویتامین سی در غلظت‌های مختلف نشان داده است که ویتامین سی به‌صورت وابسته به دوز باعث مهار سمیت درابکین و افزایش رشد سلول‌های لثه می‌شود به‌صورتی که در بالاترین غلظت ویتامین سی میزان رشد سلول‌های ۸۷ درصد بوده است. آنالیز آماری در مقایسه با گروه کنترل مثبت نشان داده است که غلظت‌های ۵۰ به بعد ویتامین سی دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P<0.05$, $p<0.01$).

تأثیر ویتامین C بر سمیت ناشی از درابکین بر رشد سلول‌های نرمال لثه (HGF):

در جدول (۴) غلظت‌های مختلف ویتامین C به همراه درابکین در غلظت IC₅₀ به‌صورت میانگین و انحراف معیار، درصد رشد سلول‌های نرمال پوست محاسبه گردیده است. همان‌طور که در نمودار (۶) نشان داده شده است سلول‌های لثه در مواجهه بادرابکین کاهش رشد قابل‌توجهی داشته است.

جدول (۴): میانگین و انحراف معیار گروه‌های مختلف درمانی در رده سلولی HGF

Tratment Groups	HGF
Control	100.6±0.14
Drobkin	54.70±3.84
Drobkin + Vit C 0.1	56.37±3.19
Drobkin + Vit C 10	63.50±1.06
Drobkin + Vit C 50	71.34±1.49
Drobkin + Vit C 100	78.75±2.37
Drobkin + Vit C 500	85.16±2.35
Drobkin + Vit C 1000	87.33±2.08



نمودار (۶): اثر محافظتی ویتامین C در غلظت‌های (۱/۵۰، ۱/۱۰، ۱/۵۰، ۱/۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) میکروگرم بر میلی لیتر به همراه درابکین در غلظت IC50 بر رشد سلول‌های نرمال لته (HGF). *p<0.05, ** p<0.01.

بدین ترتیب باعث آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها و تخریب سلول می‌شوند (۲۱).

درابکین به عنوان یک ماده شیمیایی مورد استفاده در آزمایشگاه‌ها ریسک خطر بالایی برای کارکنان خود خواهد داشت همچنین باید در تهیه محلول درابکین دقت شود، زیرا که املاح یا محلول‌های سیانید سمی می‌باشند. محلول رقیق‌کننده دارای ۵۰ میلی گرم از KCN در لیتر است که کمتر از مقدار کشنده برای یک فرد ۳۰ کیلویی است. باین وجود باید مراقب بود و از تماس اسید با آن اجتناب کرد، زیرا سیانید هیدروژن با اسیدی کردن آزاد می‌شود. بهتر است نمونه‌ها و مواد تشکیل دهنده، در آب جاری دستشویی دور ریخته شوند (۲۲). پس این مطالعه در راستای این مطالعه بوده به همین جهت بر آن شدیم که در این مطالعه سمیت سلولی این محلول را در رده‌های سلولی نرمال لته (HGF) و پوست (HFF) مورد مطالعه قرار دهیم.

بحث

هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی و بررسی نقش اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی زنجبیل و ویتامین C بر حیات سلولی، سلول‌های نرمال لته (HGF) و پوست (HFF) در مواجه با محلول درابکین بود. سمیت سلولی یا به عبارتی ساده‌تر آسیب به سلول، ناشی از جهش‌هایی است که توسط مواد شیمیایی و یا تشعشعات ایجاد می‌شود و تغییر و تخریب سلول را در پی دارد. رادیکال‌های آزاد مولکول‌ها و اتم‌هایی هستند که به دلیل داشتن الکترون آزاد حاوی انرژی بالایی هستند و قادرند به بافت‌ها و سلول‌ها آسیب برسانند، این مولکول‌ها در غلظت‌های فیزیولوژیکی برای عملکرد نرمال سلول (سیگنالینگ و تنظیم ردوکس) ضروری هستند و در غلظت‌های بالا باعث ایجاد وضعیتی به نام استرس اکسیداتیو می‌شوند به دلیل عدم پایداری تمایل بسیار شدیدی برای واکنش دیگر مولکول‌ها داشته و

در راستای مطالعه قبل در مطالعه حاضر میزان سمیت درابکین بر حیات رده‌های سلولی کاهش معنی‌داری در روند رشد سلول‌ها داشت، سلول‌های نرمال لته و پوست در مواجه با محلول درابکین رشدشان از ۱۰۰ درصد تقریباً به ۴۰ درصد کاهش یافت که این بیانگر سمیت سلولی درابکین است. مانند سایر داروهای شیمیایی آسیب‌زا دیگر در محیط یک تولیدکننده رادیکال آزاد شده و با حمله به جفت الکترون‌های موجود در سلول (پیوندهای دوگانه در حلقه‌های موجود در اسید نوکلئیک هسته) موجب آسیب سلولی می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که باعث کند شدن اکسیداسیون از طرق مختلف مانند مهار رادیکال‌های آزاد، ممانعت از تجزیه پراکسیدها و چلاته کردن فلزات می‌شوند و می‌توانند باعث کاهش اکسیداسیون گردند (۲۳). در چندین مطالعه مختلف اثرات حفاظتی و آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی زنجبیل ثابت شده، تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی زنجبیل برای موش در برابر بیماری و مرگ‌ومیر ناشی از تشعشع گاما به دلیل اثرات فیتوشیمیایی مانند دهیدروژن‌تجرون و زینجرون مؤثر است. همچنین، زنجبیل به‌طور انتخابی از به افت‌های طبیعی در برابر اثرات تومورکشی تشعشعات در موش‌های حامل تومور محافظت می‌کند (۲۴). نتیجه مطالعه‌ای دیگر نشان داد که عصاره هیدروالکلی زنجبیل عمل محافظتی برای معده را در برابر بی‌زاری از طعم نامطبوع ناشی از تشعشع در موش نشان می‌دهد (۲۵). طبق پژوهش‌های انجام شده، *Z. officinale* در بیماری پارکینسون مؤثر است زیرا زینجرون، یک ماده فعال در پراکسید و همچنین سرکوب پراکسیداسیون لیپیدی است (۲۶). همچنین در مطالعات دیگر در سال ۲۰۱۲ صورت گرفت نشان داده شد که زنجبیل دارای اثر محافظتی در نارسایی‌های کلیوی است زیرا خواص ضدالتهابی با کاهش سطح پروتئین واکنشی C سرم و اثرات آنتی‌اکسیدانی با کاهش سطح مالون دی آلدئید نشانگر لیپید پراکسیداز و افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز کلیوی دارد و همچنین زنجبیل از طریق هضم و جذب مناسب، و حفظ گردش خون مناسب، از افزایش تولید ضایعات و درعین‌حال عملکردهای فیزیولوژیکی حمایت می‌کند. از این‌رو انباشته شدن دفعات فیزیکی از بدن خارج می‌شود و تقویت سیستم ایمنی رخ می‌دهد (۲۷). ریزوم گیاه زنجبیل به دلیل ارزش قومی دارویی و مغذی آن به‌طور گسترده در هر دو اهداف دارویی و آشپزی در سطح جهانی استفاده می‌شود. اکثر سیستم‌های سنتی و مکمل از داروهایی مانند آیورودا، سیدا، یونانی، هومیوپاتی، تبتی و چینی و غیره *Z. officinale* را به‌صورت جداگانه یا ترکیبی در هر دو بیماری عفونی و غیرواگیر تجویز می‌کنند (۲۸). بر اساس مطالعات انجام شده این گیاه بیشتر برای ضد میکروب، ضد سرطان، آنتی‌اکسیدان، ضد دیابت، نفروپروتکتیو، محافظ کبد،

فعالیت‌های لاروکشی، ضد درد، ضدالتهابی، تعدیل‌کننده ایمنی بی‌اشتهایی، بیماری‌های آسم، ضعف در عملکرد قلب، تب ناشی از عفونت، سو هاضمه، روماتوئید و کم‌خونی و کم‌درد به کار می‌رود (۲۹). ریزوم تازه *Z. officinale* از طریق کاهش تشکیل پلاک ناشی از HRSV در رده‌های سلولی مخاط تنفسی، اثر ضدویروسی در برابر عفونت ویروس سینسیتال تنفسی انسانی (HRSV) دارد. بنابراین، غلظت بالای زنجبیل می‌تواند سلول‌های مخاطی را برای ترشح IFN- β تحریک کند که مسئول مقابله با عفونت‌های ویروسی از طریق کاهش چسبندگی ویروسی است. این اثر در مدیریت سرماخوردگی (پراتیشیا) و تب مرتبط با آن بسیار مفید است. این گیاه به‌عنوان یک ضدویروس در برابر عفونت ویروسی هیپاتیت C در نظر گرفته می‌شود (۱۶) El-Wahab و همکاران، ثابت کردند که *Z. officinale* در مهار تکثیر ویروس در داخل سلول‌های HepG2 آلوده به ویروس هیپاتیت C با تأثیر بر RNA ویروسی مؤثر است (۳۰). و همچنین، مطالعه دیگری توضیح می‌دهد که این گیاه در کاهش بار ویروس هیپاتیت C مؤثر است. در پژوهش دیگر متوجه شدند آلفا فتوپروتئین و نشانگرهای مرتبط با عملکرد کبد مانند آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در بیماران HCV مصری می‌باشد. بنابر یافته‌های فوق کاربرد زنجبیل را در اختلالات کبدی و شرایط عفونی مرتبط با کبد توصیه کردند (۳۱). پس تمام مطالعات انجام شده هم سو با این مطالعه بوده زیرا در مطالعه حاضر اثرات محافظتی و آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی زنجبیل به‌منظور مهار و کاهش سمیت سلولی ناشی از محلول درابکین در رده‌های سلولی نرمال لته و پوست بررسی شد و مشخص شد که استفاده از عصاره هیدروالکلی زنجبیل موجب افزایش تعداد سلول‌ها گردید. بیشترین اثر محافظتی عصاره هیدروالکلی زنجبیل در حیات سلولی، در رده سلولی لته (HGF) در گروه دریافت‌کننده دوز بالای عصاره (۱۰۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تأثیر معنی‌داری در سطح $P < 0/05$ و اختلاف آماری معنی‌داری در سطح $P < 0/01$ بین تعداد سلول‌ها در گروه دریافت‌کننده در دوز متوسط عصاره (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل مثبت (درابکین) مشاهده شده است ولی در دوز پایین عصاره (۵۰، ۱۰ و ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) هیچ اختلاف آماری معنی‌داری دیده نشده است. همچنین در رده سلولی پوست (HFF) بیشترین اثر محافظتی در دوز بالای عصاره (۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بوده که تأثیر معنی‌داری در سطح $P < 0/001$ ، و همچنین اختلاف آماری معنی‌داری در سطح $P < 0/05$ در دوز متوسط و رو به پایین (۵۰، ۱۰، ۵۰۰، ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل مثبت (درابکین) مشاهده گردید. این نتایج نشان‌دهنده این است که عصاره

هیدروالکلی در دوزهای بالا منجر به کاهش سمیت سلولی درابکین در سلول‌های تیمار شده با درابکین شده است... بر اساس مطالعات کرمیان و اسد بیگی، پلی فنل‌ها از جمله فلاونوئیدها در ساختار شیمیایی خود دارای گروه‌های هیدروکسیل می‌باشند که دهنده قوی هیدروژن به حساب می‌آیند و به عنوان عوامل آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شوند. این ترکیبات با توانایی احیاکنندگی بالا می‌توانند با گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن واکنش دهند و از خسارات استرس اکسیداتیو در بدن جلوگیری کنند (۳۲). در تحقیقات مشخص شد که ساختار این ترکیبات پتانسیل بالایی برای واکنش دادن با پروتئین‌های مختلف از جمله آنزیم‌ها دارند. به این دلیل آن‌ها می‌توانند باعث ممانعت از فعالیت آنزیم‌هایی مانند ایزوفرم‌های مختلف سیتوکروم P₄₅₀، سیکلواکسیژناز، الکل دهیدروژناز، لیپوآکسیژناز و زانتین اکسیداز شوند که در تولید رادیکال‌های آزاد دخالت دارند (۳۳). نتایج این تحقیق نشان داد که گونه مورد مطالعه دارای محتوای فنل و فلاونوئید بالایی می‌باشد.

ویتامین C هم مانند زنجبیل اثرات محافظتی و آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد، اثرات آنتی‌اکسیدانی ویتامین C در مطالعات مختلفی ثابت شده است به‌طور مثال در مطالعه Hemila سال ۲۰۱۷ مشخص شد که ویتامین C یک آنتی‌اکسیدان قوی است که می‌تواند سیستم دفاعی طبیعی بدن را تقویت کند. آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که سیستم ایمنی را تقویت می‌کنند. آن‌ها این کار را با محافظت از سلول‌ها در برابر مولکول‌های مضر به نام رادیکال‌های آزاد انجام می‌دهند. هنگامی که رادیکال‌های آزاد تجمع می‌یابند، می‌توانند حالت معروف به استرس اکسیداتیو را ایجاد کنند که با بسیاری از بیماری‌های مزمن مرتبط است. مطالعات نشان می‌دهد که مصرف بیشتر ویتامین C می‌تواند سطح آنتی‌اکسیدان خون را تا ۳۰ درصد افزایش دهد تا به سیستم دفاعی طبیعی بدن برای مقابله با التهاب کمک کند که این مطالعه با مطالعه ما همسو بوده (۳۴). در مطالعات سال ۲۰۱۹ این امر به اثبات رسید که ویتامین C یک ویتامین ضروری محلول در آب است که نقش مهمی در فیزیولوژی انسان ایفا می‌کند. بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیکی آن شامل توانایی آن برای عمل به عنوان یک آنتی‌اکسیدان یا به عنوان یک کوفاکتور برای طیف گسترده‌ای از واکنش‌های آنزیمی است که در نتیجه به تثبیت ساختار سوم کلاژن، سنتز نوراپی نفرین و جذب آهن کمک می‌کند (۳۵). ویتامین C همچنین یک کوفاکتور برای هیدروکسیلازهای تازه مشخص شده از خانواده دی‌اکسیژنازهای وابسته به Oxoglutarate-2 حاوی آهن است که رونویسی ژن و مسیرهای سیگنال‌دهی سلولی را تنظیم

می‌کند (۳۶). علاوه بر آن ثابت شد که سلول‌های ایمنی غلظت بالایی از ویتامین C را انباشته می‌کنند، که بر عملکرد کلیدی آن در فرآیندهای مختلف در سیستم ایمنی تأکید می‌کند. نکته مهم، درحالی‌که اکثر گونه‌های مهره‌داران می‌توانند اسید اسکوربیک را سنتز کنند، انسان‌ها نمی‌توانند، و بنابراین به مصرف خوراکی ویتامین C وابسته هستند (۳۷). همچنین غلظت‌های بالای ویتامین C به عنوان یک پرواکسیدان عمل می‌کند و باعث ایجاد سمیت سلولی وابسته به پراکسید هیدروژن در سلول‌های سرطانی می‌شود، بدون اینکه بر سلول‌های طبیعی تأثیر منفی بگذارد (۳۸). از این رو مطالعات انجام شده هم‌راستا با تحقیق حاضر می‌باشد بر اساس مطالعات قبل در تحقیق حاضر نیز ویتامین C به عنوان ماده محافظتی و آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که اضافه کردن ویتامین C به رده سلول‌های نرمال لته و پوست دریافت‌کننده درابکین، به ترتیب در رده سلولی نرمال لته بیشترین تعداد سلول‌های زنده اثر در دوزهای بالا (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مشاهده شد و تأثیر معنی‌داری در سطح $P < 0/01$ و سپس در دوزهای متوسط (۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0/05$ به شکل وابسته به دوز منجر به کاهش سمیت سلولی درابکین شد و سطح سلول‌های نرمال لته را افزایش داد، در رده سلولی پوست هم ابتدا بیشترین اثر محافظتی مربوط به دوزهای (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تأثیر معنی‌داری در سطح $P < 0/0001$ و بعد در دوزهای پایین و متوسط (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تأثیر معنی‌داری در سطح $P < 0/05$ به شکل وابسته به دوز منجر به کاهش سمیت سلولی درابکین شد و سطح سلول‌های نرمال پوست را افزایش داد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره هیدروالکلی زنجبیل و ساختار شیمیایی ویتامین C به دلیل داشتن قدرت آنتی‌اکسیدانی بالا می‌توانند سمیت ناشی از محلول سمی درابکین را بکاهند. یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که درابکین در غلظت ۵۰ میکرومولار بر حیات سلولی رده‌های سلولی مورد مطالعه سمیت داشته و مصرف عصاره زنجبیل و ویتامین C در غلظت‌های مختلف سبب افزایش تعداد سلول‌های نرمال لته و پوست شده است و موجب حفاظت سلولی از آسیب ناشی از درابکین می‌گردد.

References

1. Nisar B, Sultan A, Rubab S. Comparison of medicinally important natural products versus synthetic drugs-a short commentary. *Nat Prod Chem Res* 2018;6(2):308.
2. Wintola OA, Afolayan AJ. The antibacterial, phytochemicals and antioxidants evaluation of the root extracts of *Hydnora africana* Thunb. used as antidiarrheic in Eastern Cape Province, South Africa. *BMC Complement Altern Med* 2015;15(1):1-12.
3. Sharifi-Rad M, Epifano F, Fiorito S, Álvarez-Suarez JM. Phytochemical analysis and biological investigation of *Nepeta juncea* Benth. different extracts. *Plants* 2020;9(5):646.
4. Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG, Lightfoot DA. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants* 2017;6(4):42.
5. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxid Med Cell Longev* 2017;2017:1-13.
6. Pui C-H, Yang JJ, Hunger SP, Pieters R, Schrappe M, Biondi A, et al. Childhood acute lymphoblastic leukemia: progress through collaboration. *J Clin Oncol* 2015;33(27):2938.
7. Verschooten L, Claerhout S, Van Laethem A, Agostinis P, Garmyn M. New strategies of photoprotection. *Photochem Photobiol* 2006;82(4):1016-23.
8. Giblin A-V, Thomas J. Incidence, mortality and survival in cutaneous melanoma. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2007;60(1):32-40.
9. Kumar RS, Raj Kapoor B, Perumal P. In vitro and in vivo anticancer activity of *Indigofera cassioides* Rottl. Ex. DC. *Asian Pac J Trop Med* 2011;4(5):379-85.
10. Hemmati S, Gholami-Ahangaran M, Heidari B. The Effect of different concentrations of knotgrass) *Polygonum avicular* (extract on biological parameters of sperm in fowl. *Iran Veterin J* 2020;16(1):114-23.
11. Dugasani S, Pichika MR, Nadarajah VD, Balijepalli MK, Tandra S, Korlakunta JN. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. *J Ethnopharmacol* 2010;127(2):515-20.
12. Khaki A, Khaki AA, Hajhosseini L, Golzar FS, Ainehchi N. The anti-oxidant effects of ginger and cinnamon on spermatogenesis dys-function of diabetes rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2014;11(4):1-8.
13. Safarzadeh E, Shotorbani SS, Baradaran B. Herbal medicine as inducers of apoptosis in cancer treatment. *Adv Pharm Bull* 2014;4(Suppl 1):421.
14. Motafeghi F, Mortazavi P, Salman Mahiny AH, Abtahi MM, Shokrzadeh M. The role of ginger's extract and N-acetylcysteine against docetaxel-induced oxidative stress and genetic disorder. *Drug Chem Toxicol* 2022:1-8.
15. MA E, Hosseinimehr S, Hamidinia A, Jafari M. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sellowiana* fruits peel and leaves. *Pharmacologyonline* 2008;1:7-14.
16. San Chang J, Wang KC, Yeh CF, Shieh DE, Chiang LC. Fresh ginger (*Zingiber officinale*) has anti-viral activity against human respiratory syncytial virus in human respiratory tract cell lines. *J Ethnopharmacol* 2013;145(1):146-51.
17. Shokrzadeh M, Mortazavi P, Moghadami A, Khayambashi B, Motafeghi F. Synergistic Antiproliferative and Anticancer Activity of Carotenoid Lutein or Coenzyme Q10 in Combination with Doxorubicin on the MCF7 Cell Line. *Appl In Vitro Toxicol* 2021;7(4):167-74.

18. Shokrzadeh M, Saravi SS, Mirzayi M. Cytotoxic effects of ethyl acetate extract of *Sambucus ebulus* compared with etoposide on normal and cancer cell lines. *Planta Med* 2009;5(20):316.
19. Motafeghi F, Mortazavi P, Ghassemi-Barghi N, Zahedi M, Shokrzadeh M. Dexamethasone as an anti-cancer or Hepatotoxic. *Toxicol Mech Methods* 2022;1-17.
20. Motafeghi F, Mortazavi P, Mahdavi M, Shokrzadeh M. Cellular effects of epsilon toxin on the cell viability and oxidative stress of normal and lung cancer cells. *Microb Pathog* 2022;105649.
21. Nordberg J, Arnér ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med* 2001;31(11):1287-312.
22. Malkuti J, Arsang Jang S, Mosaferchi S. Health risk assessment due to occupational exposure to hazardous chemicals in the laboratories of medical training centers of Qom University of Medical Sciences. *Iran Occup Health* 2004;11(2):13-25.
23. Imaida K, Fukushima S, Shirai T, Ohtani M, Nakanishi K, Ito N. Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2-stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of γ -glutamyl transpeptidase-positive foci development in the liver of rats. *Carcinogenesis* 1983;4(7):895-9.
24. Baliga MS, Haniadka R, Pereira MM, Thilakchand KR, Rao S, Arora R. Radioprotective effects of *Zingiber officinale* Roscoe (ginger): past, present and future. *Food Function* 2012;3(7):714-23.
25. Haksar A, Sharma A, Chawla R, Kumar R, Arora R, Singh S, et al. *Zingiber officinale* exhibits behavioral radioprotection against radiation-induced CTA in a gender-specific manner. *Pharmacol Biochem Behav* 2006;84(2):179-88.
26. Kabuto H, Nishizawa M, Tada M, Higashio C, Shishibori T, Kohno M. Zingerone [4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-butanone] prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depression in mouse striatum and increases superoxide scavenging activity in serum. *Neurochem Res* 2005;30(3):325-32.
27. Mahmoud MF, Diaai AA, Ahmed F. Evaluation of the efficacy of ginger, Arabic gum, and *Boswellia* in acute and chronic renal failure. *Ren Fail* 2012;34(1):73-82.
28. Grzanna R, Lindmark L, Frondoza CG. Ginger—an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. *J Med Food* 2005;8(2):125-32.
29. Omoya F, Akharaiyi F. Mixture of honey and ginger extract for antibacterial assessment on some clinical isolates. *Int J Pharm Biomed Res* 2011;2(1):39-47.
30. Abd El-Wahab A, El-Adawi H, El-Demellawy M. In vitro study of the antiviral activity of *Zingiber officinale*. *Planta Medica* 2009;75(09):PF7.
31. Abdel-Moneim A, Morsy BM, Mahmoud AM, Abo-Seif MA, Zanaty MI. Beneficial therapeutic effects of *Nigella sativa* and/or *Zingiber officinale* in HCV patients in Egypt. *EXCLI J* 2013;12:943.
32. Karamian R, Asadbegy M. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of three *Onobrychis* species from Iran. *Pharm Sci* 2016;22(2):112-9.
33. Valentão P, Fernandes E, Carvalho F, Andrade P, Seabra R, Bastos M. Hydroxyl radical and hypochlorous acid scavenging activity of small centaury (*Centaureum erythraea*) infusion. A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). *Phytomedicine* 2003;10(6-7):517-22.
34. Hemilä H. Vitamin C and infections. *Nutrients* 2017;9(4):339.
35. Padayatty SJ, Levine M. Vitamin C: the known and the unknown and Goldilocks. *Oral Dis* 2016;22(6):463-93.

36. Lee Chong T, Ahearn EL, Cimmino L. Reprogramming the epigenome with vitamin C. *Front Cell Dev Biol* 2019;7:128.
37. Ang A, Pullar JM, Currie MJ, Vissers MC. Vitamin C and immune cell function in inflammation and cancer. *Biochemical Society Transactions* 2018;46(5):1147-59.
38. Chen Q, Espey MG, Sun AY, Pooput C, Kirk KL, Krishna MC, et al. Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2008;105(32):11105-9.

EVALUATION OF THE ROLE OF HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF GINGER (*ZINGIBER OFFICINALE L.*) AND VITAMIN C ON CELL VIABILITY OF NORMAL GINGIVAL AND SKIN CELLS IN THE PRESENCE OF DRABKIN'S SOLUTION

Mohammad Shokrzadeh¹, Farzaneh Motefaghi², Shaghayegh Shokrzadeh³, Safoura Pourasadollah⁴

Received: 04 September, 2022; Accepted: 06 November, 2022

Abstract

Background & Aims: In today's society, chemicals have many benefits and applications. One of these chemicals is Drabkin's solution which is used in the hematology laboratory. Drabkin's solution is toxic and is harmful to skin health. In this study, considering the chemical composition of vitamin C and the phytochemical properties of ginger plant, we decided to investigate the effects of the hydroalcoholic solution of this plant on the survival of normal skin and gum cells in the presence of Drabkin solution.

Materials & Methods: Protective effects of ginger extract and vitamin C (doses 0.1, 10, 50, 100, 500, and 1000 μ M) on the toxicity caused by Drabkin's solution was measured by colorimetric assay (MTT) to investigate the survival and viability of normal gingival and skin cells. Prism statistical software version 8 and one-way ANOVA and Tukey tests were used for statistical analysis. A significance level of $P < 0.05$ was considered.

Results: The results of this study showed that high concentrations of vitamin C and ginger inhibit the toxicity of Drabkin's solution, so that there was a significant increase in the growth of normalized cells. Drabkin's solution in concentrations higher than 50 μ M has toxicity on the studied cell lines.

Conclusion: The results of this study showed that the consumption of ginger extract and vitamin C in different concentrations increased the growth of normal cells of the gums and skin, and as a result, caused cell protection from the damage caused by Drabkin's solution.

Keywords: Drabkin's Solution, Hydroalcoholic Extract of Ginger, Vitamin C, Normal Gum Cells, Normal Skin Cells

Address: Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

Tel: +989111263448

Email: mslamuki@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2022; 33(2): 233 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2022 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

¹ Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (Corresponding Author)

² PhD of Toxicology, Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Medical Student, Faculty of medicine, Mazandaran university of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Department of Genetics, Nonprofit University of Sana, Mazandaran, Sari, Iran