

## ارزیابی اثر درمانی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه استبرق و داروی بوتالکس بر آلودگی هموپروتئوس در کبوتران

مریم سلطانی عینی<sup>۱</sup>، غلامرضا رزمی<sup>۲\*</sup>، امیر افخمی<sup>۳</sup>، امین احمدی<sup>۱</sup>

۱- دانش‌آموخته انگل‌شناسی دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۷ مهر ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: ۱۷ دی ۱۳۹۱

### چکیده

در این تحقیق اثر عصاره آبی و هیدروالکلی گیاه استبرق و نیز داروی بوتالکس بر روی تک‌یاخته خونی هموپروتئوس در کبوتران در دو دوره درمانی مورد بررسی قرار گرفت. در دوره اول ابتدا ۲۴ کبوتر آلوده به هموپروتئوس و ۶ کبوتر سالم با بررسی میکروسکوپی گسترش‌های خونی از بین یک گله انتخاب گردیدند. سپس به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. به گروه‌های آلوده ۱ و ۲ به ترتیب عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه استبرق با دوز  $0/3 \text{ mg/kg}$  به مدت ۷ روز متوالی به صورت خوراکی داده شد و به گروه ۳ داروی بوتالکس به میزان  $2/5 \text{ mg/kg}$  به صورت داخل عضلانی تزریق گردید. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تجویز عصاره‌ها، از ورید بالی کبوتران گسترش‌های خونی تهیه شد و بعد از بررسی میکروسکوپی میزان پارازیتی در گروه مختلف مورد بررسی قرار گرفت. فقط در گروه ۳ درمان شده با بوتالکس میزان پارازیتی به صفر رسیده بود در حالی که در گروه‌های ۱ و ۲ هیچ‌گونه تغییری در میزان پارازیتی بوجود نیامده بود. در دوره دوم درمانی، کبوتران به گروه‌های شش‌تایی تقسیم شده و با غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ برابر غلظت اولیه درمان گردیدند. به گروه‌های ۱ و ۲، دو غلظت ۱۰ و ۱۰۰۰ برابر به مدت ۷ روز به صورت خوراکی داده شد. به گروه ۳ غلظت ۱۰۰ برابر عصاره آبی به صورت داخل عضلانی به میزان  $0/3 \text{ mg/kg}$  تزریق گردید. در پایان این دوره از ورید بالی گسترش‌های خونی تهیه گردید و پارازیتی محاسبه شد. نتایج نشان داد که میزان غلظت و نوع تجویز عصاره آبی استبرق تأثیری بر میزان پارازیتی انگل نداشتند. بر پایه نتایج بدست آمده بنظر می‌رسد که عصاره آبی و الکی استبرق هیچ اثر درمانی برای علیه آلودگی هموپروتئوس در کبوتر نداشتند در حالی که داروی بوتالکس می‌تواند به‌عنوان داروی موثر بر علیه آلودگی هموپروتئوس تجویز گردد.

**کلمات کلیدی:** هموپروتئوس، کبوتر، استبرق، بوتالکس

\* نویسنده مسئول غلامرضا رزمی

آدرس: گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، ایران. تلفن: ۰۵۱۱-۸۷۶۳۸۵۱

پست الکترونیک: [razmi@um.ac.ir](mailto:razmi@um.ac.ir)

## مقدمه

استبرق، یا خرگک، گیاهی از راسته گل‌سپاسی‌سانان (Gentianales)، تیره استبرقیان (Asclepiadaceae)، است. کلمه «استبرق» به معنای ضخیم و کلفت است. این درخت دارای برگ‌های گوشتی و ضخیمی است. در مناطق مختلف آن را با نام‌های مختلفی می‌شناسند. صورت اصلی این نام استبرک بوده است که احتمالاً از ریشه ستر (ضخیم) آن اقتباس شده است (۱ و ۳). در خوزستان به آن «غلب لب»، هرمزگان و جنوب کرمان و سیستان به آن «گرگک» در بوشهر و اطراف آن به آن «خرگک» می‌گویند. استبرق در مناطق گرم و خشک و بیابانی، از جمله در ایران، اردن، سوریه، می‌روید. به صورت خودرو این گیاه در نزدیکی باتلاق‌ها و نیز در جنوب ایران (سواحل خلیج فارس) و مناطقی مثل جنوب خراسان، سیستان و بلوچستان، جنوب کرمان، هرمزگان، بوشهر و خوزستان دیده می‌شود. در قدیم از شیره این درخت برای درمان جذام، آسم، اسهال، تهوع، زخم، کورک و درمان بیماری‌های کبدی استفاده می‌کردند (۸). شیره این درخت در ساقه و برگ و میوه آن وجود دارد که در هنگام قطع این اجزا از درخت این شیره از آن خارج می‌شود. الیاف آن در فضای بین پوسته خارجی و پوسته محافظ دانه‌ها در میوه استبرق قرار دارد. گونه *C. gigantea* درختچه کوچکی است با گل‌های صورتی و برگ‌ها و شاخه‌های پوشیده از گل‌های سفید دارد. شیرابه این درختچه دارای مقادیر کمی ماده بنام گوتاپرچا است. از پوست ریشه گیاه برای درمان سیفیلیس استفاده می‌شود و در دوز کم یعنی با مصرف مقدار جزئی به عنوان تونیک و نیرودهنده و در درمان آسم، اسهال و استفراغ استفاده می‌شود (۶).

ظفر در سال ۲۰۰۵ خاصیت ضد کرمی گل‌های *C. procera* در مقایسه با لوامیزول در محیط آزمایشگاه و در بدن دام مورد بررسی قرار داد. مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که خاصیت ضد کرمی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه بر روی نماتود داخل روده‌ای همونکوس کونترتوس باعث مرگ انگل می‌شود (۱۲).

مطالعات انجام یافته نشان می‌دهد که عصاره برگ، ساقه و میوه این گیاه واجد ترکیبات ضد مالاریا است (۴ و ۷). همچنین عصاره برگ، میوه و ساقه این گیاه در درمان تیلریوز گاوی مورد مطالعه قرار گرفته است (۵). با توجه به گزارشات داده شده درباره تاثیر درمانی این گیاه بر علیه مالاریا انسانی و تیلریوز گاوی، هدف از این مطالعه بررسی اثر درمانی عصاره آبی و هیدروالکلی استبرق و داروی بوتالکس بر آلودگی هموپروتئوس در کبوتر می‌باشد. از آنجایی که تک‌یاخته هموپروتئوس خصوصیات مشابهی با تک‌یاخته‌های تیلریا و پلاسمودیوم دارد، نتایج مثبت این مطالعه می‌تواند منجر به تحقیق بیشتر درباره اثر درمانی عصاره این گیاه بر روی تیلریوز نشخوارکنندگان در ایران گردد.

## مواد و روش‌ها

ساقه و برگ گیاه استبرق از استان‌های سیستان و بلوچستان و هرمزگان جمع‌آوری شده و داروی بوتالکس از داروخانه دامپزشکی تهیه گردید. ساقه و برگ استبرق بعد از خشک نمودن کامل در سایه، با آسیاب برقی به خوبی آسیاب گردید. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی از روش هضمی استفاده شده است. بدین صورت که یک صد گرم از برگ گیاه آسیاب شده را به نسبت ۱ به ۵ (وزن ماده خشک به حجم

### دوره اول درمان

به گروه اول و دوم به ترتیب عصاره آبی و هیدروالکلی استبرق به میزان  $0.3 \text{ mg/kg}$  به صورت خوراکی و در ۷ روز متوالی تجویز گردید. به گروه سوم داروی بوتالکس به میزان  $2/5 \text{ mg/kg}$  به صورت عضلانی در روز اول تزریق گردید. گروه چهارم و پنجم نیز به ترتیب به عنوان گروه‌های کنترل مثبت و منفی در طی ۷ روز تیمار هیچ نوع عصاره و یا دارویی به آن‌ها تجویز نگردید. ۲۴ ساعت بعد از آخرین تجویز عصاره، خون‌گیری از ورید بالی کبوتران گسترش‌های خونی تهیه شد پس از رنگ‌آمیزی با گیمسا میزان پارازیتی با استفاده از میکروسکوپ نوری محاسبه گردید.

### دوره دوم درمان

همانند دوره اول کبوتران آلوده و سالم به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. آنگاه مطابق پروتکل درمانی به گروه‌های اول و دوم، عصاره آبی استبرق به میزان ۱۰ و ۱۰۰۰ برابر غلظت ماده اولیه ( $0.3 \text{ ml/kg}$ ) به صورت خوراکی به مدت ۷ روز متوالی تجویز گردید. به گروه سوم عصاره آبی استبرق به میزان ۱۰۰ برابر غلظت ماده اولیه ( $0.3 \text{ ml/kg}$ ) به صورت عضلانی تزریق شد. گروه‌های چهارم و پنجم به عنوان کنترل مثبت و منفی هیچ دارویی تجویز نشد. بعد از اتمام دوره ۷ روزه، از ورید بالی کبوتران گسترش تهیه شد، آنگاه گسترش‌ها با گیمسا رنگ‌آمیزی کرده و درصد پارازیتی محاسبه شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

نتایج بدست آمده طی دو مطالعه، با آزمون آماری *Paired t test* مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

الکل اتیلیک ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه بر روی دستگاه هم‌زن به آرامی مخلوط می‌گردد. در مورد عصاره آبی نیز به نسبت ۱ به ۵ (وزن ماده خشک به آب مقطر) مخلوط گردیده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه بر روی هم‌زن قرار گرفت تا استخراج عصاره بهتر صورت گیرد. سپس مخلوط حلال و پودر گیاه از صافی عبور داده شد تا عصاره اولیه بدست آید (۲).

### تعیین وزن خشک عصاره

جهت استاندارد نمودن روش و تکرارپذیری آن، وزن خشک عصاره تعیین می‌گردد. بدین صورت که ۳ لوله خالی توسط ترازوی دیجیتالی حساس وزن شده سپس ۱ میلی لیتر عصاره به هر لوله اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید و بعد از خشک شدن کامل و توزین مجدد درصد ماده خشک از طریق میانگین ۳ لوله محاسبه می‌گردد (۲).

### حیوان مورد آزمایش

در این مطالعه ابتدا تعداد ۲۴ کبوتر آلوده به هموپروتئوس با آزمایش میکروسکوپی گسترش‌های خونی از میان یک گله کبوتر تشخیص داده شدند. وزن کبوترهای مورد استفاده  $50.0 \pm 3.0$  گرم بودند.

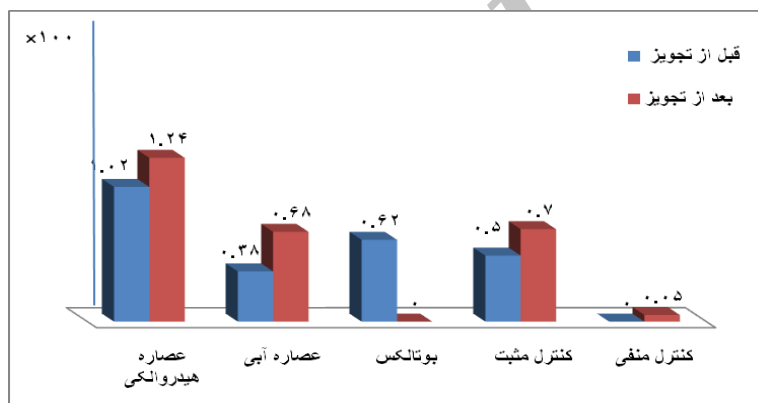
تغذیه کبوتران توسط غذاهای استاندارد و بدون محدودیت در آب و خوراک انجام گرفت. قبل از تجویز دارو، میزان پارازیتی در هر کبوتر محاسبه گردید. سپس ۲۴ عدد کبوتر آلوده در ۴ گروه ۶ تایی تقسیم‌بندی شدند. کبوتران گروه ۱ تا ۳ به عنوان گروه‌های درمان و گروه چهارم گروه کنترل مثبت و گروه پنجم به عنوان کنترل منفی و فاقد آلودگی تعیین شدند.

## نتایج

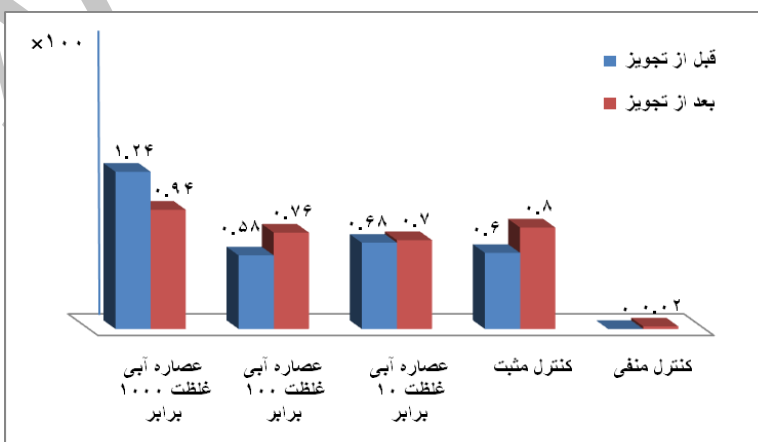
برخلاف گزارشات داده شده درباره تاثیر مثبت درمانی عصاره آبی و الکلی گیاه استبرق بر علیه انگل خونی پلاسمودیوم در انسان (۴) و تیلریا آنولانا در گاو (۵)، در این مطالعه هیچ اثر درمانی از عصاره الکلی و آبی گیاه استبرق بر میزان پارازیتی هموپروتئوس به عنوان یک تک یاخته خونی در کبوتران مشاهده نشد. اگرچه در این بررسی تاثیر قاطع درمانی بوتالکس بر علیه آلودگی هموپروتئوس در کبوتران به اثبات رسید. باتوجه به نتایج بدست آمده به نظر می رسد گزارشات داده شده در خصوص تاثیر عصاره آبی و الکلی استبرق بر علیه مالاریا و تیلریوز گاوی جای سؤال دارد و لازم است مطالعات دقیق تری در این باره صورت گیرد.

نتایج بدست آمده در دوره درمانی اول نشان دهنده تاثیر مثبت داروی بوتالکس در مقایسه عصاره آبی استبرق و عصاره هیدروالکلی استبرق بر علیه آلودگی هموپروتئوس در کبوتر بوده بطوری که همه کبوتران مورد درمان از این آلودگی کاملا پاک شده بودند ( $P < 0.001$ ) (نمودار شماره ۱).

نتایج دوره درمانی دوم مطالعه نشان داد که نوع تجویز و میزان غلظت عصاره آبی گیاه استبرق هیچ تاثیری بر میزان پارازیتی هموپروتئوس در کبوتران ندارد ( $P > 0.05$ ) (نمودار شماره ۲).



نمودار ۱- میانگین پارازیتی هموپروتئوس در کبوتران گروه های مختلف درمانی، کنترل مثبت و منفی مورد آزمایش در دوره اول درمان



نمودار ۲- میانگین پارازیتی آلودگی هموپروتئوس در کبوتران گروه های مختلف درمانی، کنترل مثبت و منفی کبوتران مورد آزمایش در دوره دوم درمان

## بحث و نتیجه‌گیری

هموپروتئوس از جمله تک‌یاخته‌هایی می‌باشد که در پرندگان، دوزیستان، خزندگان و پستانداران وجود دارد. در حال حاضر حدود ۲۰۶ گونه از آن در پرندگان شناخته شده است. این تک‌یاخته بسیار شبیه به عامل مولد بیماری مالاریا است و به همین علت به آن Pseudomalaria نیز می‌گویند. این انگل خونی در مناطق مختلف ایران دارای شیوع بالایی است، توجه به این نکته ضروری است که تک‌یاخته هموپروتئوس خصوصیات مشابهی زیادی با تک‌یاخته‌های خونی در انسان و دام دارد، لذا توصیه به تحقیق بیشتر در زمینه اثر درمانی گیاه *C. procera* می‌تواند اهمیت این گیاه را برای درمان انگل‌های خونی پررنگ‌تر کند (۱۰). از گیاه خشک شده *C. procera* به عنوان یک داروی مفید در علم پزشکی استفاده‌های فراوان می‌شود. شیره این درخت در ساقه و برگ و میوه آن وجود دارد که در هنگام قطع این اجزا از درخت این شیره از آن خارج می‌شود. پوست ریشه گیاه به عنوان داروی ضد سرفه، ضد کرم، مسهل، استفرغ و اگزما در درمان آسم، برونشیت و سوء هاضمه کاربرد دارد. برگ‌های گیاه نیز برای درمان فلجی، تورم مفاصل، آماس و تب مفید است. همچنین شیرابه این گیاه باعث احتقان چشم نیز می‌شود (۷ و ۱۱).

خاصیت ضد کرمی گل‌های *C. procera* در مقایسه با داروی ضدانگلی لوامیزول در محیط آزمایشگاه و در بدن دام مورد بررسی قرار گرفته و مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که خاصیت ضدکرمی عصاره‌های آبی و هیدرو الکلی گیاه روی نماتود داخل روده ای همونکوس کونترتوس باعث مرگ انگل می‌شود. در مطالعاتی که در بدن دام انجام گرفته نشان داده شده که عصاره آبی و هیدروالکلی گل‌های این

گیاه در آلودگی‌های مخلوط از چند نماتود روده‌ای باعث کاهش درصد تعداد تخم‌های مدفوع می‌شود (۹). در مورد اثر لاروکشی گیاه استبرق بر علیه پشه کولکس و آنوفل که ناقلین اصلی مالاریا می‌باشند گزارشاتی آمده است که نتایج حاصل از مطالعات نشان داده که شیرابه آن به عنوان یک کشنده قوی علیه لاروهای *Anophel stephensi* و *Culex quinquefasciatus* می‌باشد (۸). شیرابه *C. procera* دارای ترکیباتی است که خاصیت لاروکشی داشته و سبب مرگ و میر ۱۰۰٪ لاروهای مرحله سوم *Aedes aegypti* بعد از ۵ دقیقه می‌شود و همچنین اثرات سمی شیرابه این گیاه بر روی تفریخ تخم‌ها و رشد لاروها را گزارشاتی وجود دارد (۹). از آنجایی که این گیاه در مناطق وسیعی از جنوب کشور می‌روید بران شدیم ابتدا تاثیر این دارو بر روی یک مدل مشابه این انگل مورد بررسی قرار دهیم. نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد برخلاف گزارشات داده شده درباره تاثیر مثبت درمانی عصاره آبی و الکلی گیاه استبرق بر علیه انگل خونی عصاره این گیاه هیچ اثر درمانی بر میزان پارازیتی هموپروتئوس به عنوان یک تک‌یاخته خونی در کبوتران ندارد. ضمن اینکه در این بررسی تاثیر قاطع درمانی بوتالکس بر علیه آلودگی هموپروتئوس در کبوتر به اثبات رسید. با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد گزارشات داده شده در خصوص تاثیر عصاره آبی و الکلی استبرق بر علیه انگل خونی جای سؤال دارد و قابل اعتماد نمی‌باشد.

## منابع

۱. زرگری، ع. (۱۳۶۸). گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ سوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۴۱۸-۴۱۶.

- proceraan. Ethnobotanical Approach* **68**: 83-95.
11. Warriar, P.K., Nambiar, V.P., Mankuttv, K.C. (1994). *Indian Medicinal Plants Orient*. Longman: 341-45.
  12. Zafar, I., Lateef, M., Jabbar, A., Muhammad, G., Khan, M.N. (2005). Anthelmintic activity of *Calotropis procera* flowers in sheep. *Journal of Ethnopharmacology* **102**: 256 - 61.
۲. صمصام، ش. (۱۳۷۱). عصاره گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش های شناسایی و ارزشیابی آنها، چاپ اول، انتشارات مانی، صفحات ۲۰-۸.
  ۳. میرحیدر، ح. (۱۳۷۳). معارف گیاهی، جلد سوم، انتشارات فرهنگ اسلامی دانشگاه تهران، صفحات ۲۱۸-۲۰۸.
  4. Aikawa, M., Hepler, P.K., Huff, C.G., Sprinz H. (1966). The feeding mechanism of avian malarial parasites. *Journal of Cell Biology* **28**: 355-73.
  5. Durrani, A.Z., Maqbool, A., Mahmmoad, N., Kamal, K., Shakoori, A.R. (2005). Chemotherapeutic trials with *Calotropis procera* against experimental infection with *Theileria annulata* in cross bred cattle in Pakistan. *Journal of Zoology* **41**: 389-98.
  6. Jain, P., Sahu, T.R. (1993). An ethnobotanical study of noradehi sanctuary park of Madhya Pradesh India: Native plant remedies for scorpion sting and snake bite. *Journal of Echology & Taxonomy Botany* **17**: 315-28.
  7. Oudhia, P., Kolhe, S.S., Tripathi, R.S. (198). Extended summaries. First international agronomy congress on agronomy, environment and food security for 21st century; New Delhi, India: Vigyan Bhawan.
  8. Padhy, A., Srivastava, B., Kumara, V.L. (2007). *Calotropis procera* latex affords protection against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology* **113**: 498-502.
  9. Ramos, M.V., Banderia, G.P., de Freitas, C.D., Nogueira, N.A., Alencar, N.M., Sousa, P.A., Carvalho, A.F. (2006). Latex constituents from *Calotropis procera* (R. Br.) disply toxicity upon egg hatching and larvae of *Aedes aegypti* (Linn). *Journal memorias do instituto Oswaldo Cruz* **101**: 503-10.
  10. Sharma, P., Sharma, J.D. (1999). Evaluation of *in vitro* schizontocidal activity of plant parts of *Calotropis*

Archive

## **Therapeutic Effects of Liquid, Hydro Alcohol Extracts of *Calotropis* spp. and Butalex, against *Haemoproteus* spp. Infection in Pigeons**

**Soltani Eini, M.<sup>1</sup>, Razmi, Gh.<sup>1\*</sup>, Afkhami, A.<sup>3</sup>, Ahmadi, A.<sup>1</sup>**

1- Graduated of Veterinary Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received Date: 8 Oct 2012

Accepted Date: 6 Jan 2013

---

### **Abstract**

In this study, the therapeutic effect of liquid and hydroalcohol extracts of *Calotropis* spp. and Butalex on *Haemoproteus* spp. infection in pigeons was evaluated. In the first course of treatment, 24 infected and 6 non-infected pigeons with *Haemoproteus* spp. were selected from a pigeon flock by blood smear examination. Then, the pigeons were divided into 5 groups of six each. The liquid and hydroalcoholic extracts of *Calotropis* were orally administered to groups 1 and 2 with 0.3 mg/kg dose for 7 days. Butalex (anti-Theileria) was intramuscularly injected to the pigeons of Group 3 at once with 2.5 mg/kg dose, and groups 4 and 5 were regarded as control positive and negative with no administration drugs. At the end of the study, the blood smears were again prepared from wing vein in the pigeons of different groups and microscopically examined to calculate the parasitemia rate. The results showed that in group 3 (Butalex treatment), the parasitemia rate of infected pigeons reached zero percent ( $p < 0.005$ ), whereas in groups 2 and 3 the parasitemia rate did not change ( $P > 0.05$ ). In the second course of treatment, the infected and non-infected pigeons were divided into 5 groups of six pigeons each. The liquid extract of *Calotropis* with a concentration of 10 and 1000 times of initial dose was orally administered to groups 1 and 2 for 7 days. The liquid extract with a concentration of 100 times of initial dose was intramuscularly injected. The groups 4 and 5 were regarded as control positive and negative with no administration drugs. At the end of the study, the blood smears were prepared from a pigeon in each of the different groups and microscopically examined to calculate the parasitemia rate. The parasitemia rate in each of the treatment groups did not change either ( $P > 0.05$ ). Based on the results of two courses of treatment, liquid and hydroalcoholic extracts of *Calotropis* spp. did not have any therapeutic effects on *Haemoproteus* spp. in pigeons; however, it was evident that Butalex can be used as an effective drug for the treatment of *Haemoproteus* infection in pigeons.

**Keywords:** Therapeutic effect, *Haemoproteus* spp., Pigeon

---

\*Corresponding author: Razmi, Gh.

Address: Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. Tel: 0511-9873851

Email: razmi@um.ac.ir