● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ پانزدهم، شمارهٔ ٤، ص ۳۳۵-۳۲۹، ۱۳۸۷

مقالهٔ پژوهشی

بررسی اثربخشی عصاره حنا بر زخم سالک در موش سوری نژاد BALB/c

دکترعلی فتاحی‌بافقی*[1]، دکترحسین فلاح‌زاده[2]، دکترمحمدحسین مصدق[3]

خلاصه

مقدمه: برگ حنا از گذشته‌های دور مصارف تجاری، صنعتی و پزشکی فراوانی داشته است. پژوهش حاضر با هدف تعیین اثربخشی عصاره حنا برزخم سالک انجام شد.

روش: در این بررسی برگ نرم شده حنا تهیه و عصاره‌گیری با استفاده از الکل ۸۰ درجه و با روش پرکولاسیون انجام شد. عصاره بدست آمده با دستگاه تقطیر در خلأ تغلیظ و پس از آن فرآوری در شرایط استریل و در پایه پماد در غلظت‌های ۴۰، ۶۰، ۸۰ درصد تهیه و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. هم‌زمان ۴۰ سر موش کوچک و سفید آزمایشگاهی نژاد BALB/c با انگل لیشمانیا ماژور عامل سالک روستایی سویه [MRHO/IR/75/ER] آلوده شده و در چهار گروه شاهد و دریافت کننده غلظت‌های ۴۰، ۶۰، ۸۰ درصد عصاره حنا مجزا شدند. استعمال عصاره حنا بلافاصله پس از ایجاد زخم سالک به‌طور یک روز در میان آغاز شد. همچنین پایش وزن و قطر زخم سالک در موش‌های گروه چهارگانه به‌طور هفتگی انجام و این کار تا مرگ آخرین موش از گروه شاهد ادامه یافت. سپس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش‌های آنالیز واریانس و آزمون مقایسه‌های چندگانه، تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: میانگین اندازه وزن موش‌های دریافت کننده غلظت ۴۰ و ۶۰ درصد حنا با هم اختلاف معنی‌داری نشان دادند (P=۰/۰۰۰) ولی با میانگین اندازه وزن موش‌های دریافت کننده غلظت ۸۰ درصد حنا اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (P=۰/۱۱۴). میانگین اندازه وزن موش‌های گروه شاهد نیز با میانگین وزن موش‌های دریافت کننده غلظت‌های متفاوت حنا اختلاف معنی‌داری نشان نداد. میانگین اندازه قطر زخم موش‌های دریافت کننده عصاره ۴۰ درصد حنا با میانگین اندازه قطر زخم موش‌های دریافت کننده‌های ۶۰ و ۸۰ درصد حنا و با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند (P=۰/۰۰۰).

نتیجه‌گیری: در مجموع استفاده از عصاره حنا سرعت کاهش وزن را کاهش داد ولی خیلی محسوس نبود. این عصاره همچنین گسترش و افزایش میانگین اندازه قطر زخم سالک را به‌طور محسوسی کاهش داد به‌طوری که موش‌های شاهد تلف شده در مقایسه با موش‌های دریافت کننده عصاره حنا اندازه قطر زخم‌ها بسیار بزرگ‌تر بود، گرچه سرانجام همه موش‌ها تلف شدند.

واژه‌های کلیدی: عصاره حنا، لیشمانیوز پوستی، موش BALB\c، درمان

۱-استادیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۲-استادیار گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۳-استادیار گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی ● **آدرس پست الکترونیک:** afbafghi@ssu.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۱/۲۷ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۸۷/۳/۲۲ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۷/٤/۵

مقدمه

گیاه حنا با نام علمی *Lawsonia inermis* از خانواده حنا به‌صورت درختچه‌ای به طول ۷-۶ متر در نواحی گرمسیری آفریقا (مراکش، مصر، تونس و الجزایر) و در آسیا (هند، ایران و...) می‌روید. این گیاه در ایران در استان‌های کرمان و سیستان و بلوچستان بومی شده و کاشته می‌شود. برداشت

Archive of SID

www..ir

محصول از سال دوم و سوم آغاز می‌شود. برگ‌های آن محصول مورد استفاده بوده که معمولاً سالی ۳-۲ بار از نیمه تابستان تا نیمه پاییز برداشت و پس از خشک و آسیاب شدن روانه بازار می‌شود. افزون بر آنکه در صنعت برای رنگ کردن چوب، پشم و چرم به‌کار می‌رود در رنگ کردن پوست و موی انسان کاربرد دارد. در پزشکی سنتی برای ضخیم‌کردن پوست کف دست و پا و رفع زخم‌های لای انگشتان پا، زیر سینه و کشاله ران اثر قاطع دارد. برای درمان جذام، بهبود سوختگی‌ها، رفع جوش‌های دهان، رویاندن موی سر، درمان اگزما، خارش پوست و رفع بیدزدگی پوشاک استفاده می‌شده است. همچنین بررسی‌ها نشان داده که حنا اثر ضدباکتریایی قوی، ضدقارچی، ضدتومر به‌ویژه آنتی‌کارسینوسارک‌ها و ضداسپاسم نیز دارد (۷-۱).

با همه آزمایش‌هایی که برروی حنا به‌عمل آمده هنوز ترکیبات آن به‌طور کامل مشخص نشده است. به‌طور متوسط ۸-۷ درصد تانن، ۶ درصد مواد چرب، ۱/۲ درصد اسانس، ۳-۲ درصد مواد رزینی و ۲ در هزار از یک ماده رنگی قابل تبلور است. ماده رنگی حنا لاوسون به فرمول $C_{10}H_{603}$ و به وزن مولکولی ۱۷۴/۱۵ می‌باشد که در گرمای ۱۹۶-۱۹۵ درجه سانتی‌گراد تجزیه می‌شود، افزون بر آنکه دارای مانیتول و موسیلاژ نیز می‌باشد (۱۰-۸ و ۲ و ۱). بررسی‌ها نشان می‌دهد تاکنون مطالعات کمی پیرامون ویژگی‌های فتوشیمیایی این‌گونه صورت گرفته است. به نقل از Mandal و همکاران، در مطالعه محقق بر روی گیاهان تیره حنا برگ‌های این گیاه با توجه به اندک بودن بررسی‌های علمی در زمینه اثرات فارماکولوژیک آن و گزارش برخی پژوهش‌ها مبنی بر مؤثر بودن بر التیام جراحات، جوش‌ها و زخم‌ها مد نظر قرار گرفته است (۱۱). با توجه به اینکه عامل سالک روستایی *Leishmania major* در موش کوچک سفید آزمایشگاهی نژاد BALB/c ابتدا به فرم جلدی (سالک) ظاهر می‌شود سپس طی روندی تدریجی احشایی (کالا آزار) می‌شود و با کم شدن وزن حیوان و افزایش قطر زخم سبب تلف شدن حیوان می‌گردد. پژوهش حاضر با هدف تعیین اثربخشی عصاره حنا در درمان و ترمیم زخم سالک برای نخستین بار در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد انجام شد.

روش بررسی

ابتدا به میزان لازم از برگ تازه گیاه حنا (Lawsonia inermis) تهیه، آسیاب و در اتانول ۸۰ درجه حل شد و عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون انجام گرفت. سپس عصاره بدست آمده با دستگاه تقطیر در خلا تغلیظ و پس از آن فرآوری و در شرایط استریل و در پایه پماد در غلظت‌های ۴۰، ۶۰، ۸۰ درصد تهیه و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد (۲،۷).

هم‌زمان ۴۰ سر موش ماده کوچک و سفید آزمایشگاهی نژاد BALB/c (از مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی) در ۸ هفتگی تهیه شد که در یک گروه شاهد بدون دریافت هرگونه دارو و سه گروه دریافت‌کننده ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد عصاره حنا قرار گرفتند.

انگل لیشمانیا عامل سالک روستایی سویه Leishmania major [MRHO/IR/75/ER] (گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس) در محیط NNN کشت داده شد و برای تکثیر انبوه به محیط RPMI-1640 غنی‌شده منتقل گردید و پس از چهار بار پاساژ پروماستیگوت‌ها در مرحله "ایستا" به غلظت 1×10^{7} رسانده شد و در این حال هم‌زمان همه ۴۰ سر موش با تزریق یک‌دهم میلی‌لیتر از این پروماستیگوت‌ها به‌صورت زیر جلدی قاعده دم عفونی شدند.

پس از بروز زخم در محل تلقیح در محل قاعده دم موش، استعمال یک روز در میان عصاره‌های ۴۰، ۶۰، ۸۰ درصد حنا برای گروه‌های مورد آغاز و اندازه قطر زخم سالک با استفاده از کولیس ورینه (Switzerland) و وزن

Archive of SID

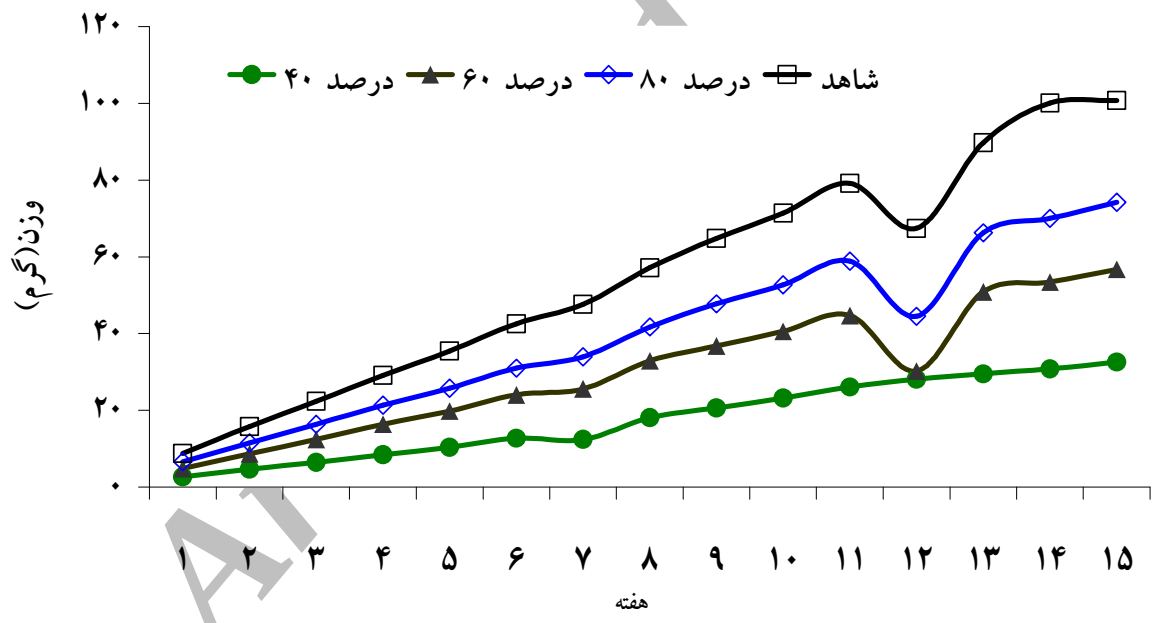
www..ir

موش‌ها با استفاده از ترازو (Switzerland) به‌طور هفتگی انجام گرفت. این پایش وثبت داده‌ها تا مرگ آخرین موش از گروه شاهد ادامه یافت (۱۲). سپس داده‌ها ثبت و با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با روش آزمون‌های مقایسه‌ای چندگانه و آنالیز واریانس، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

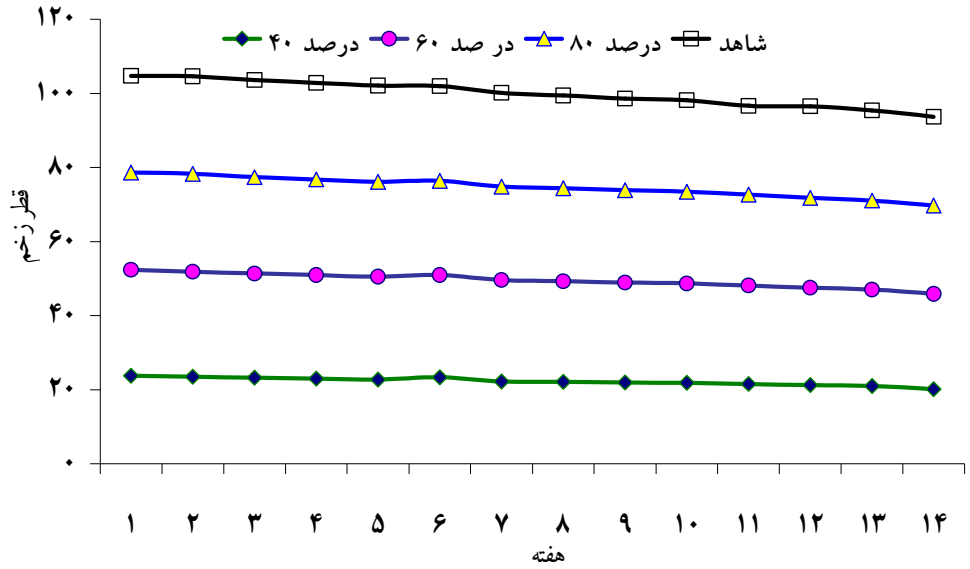
بر اساس نتایج به دست آمده از نظر میانگین وزن هیچ‌یک از گروه‌های دریافت کننده عصاره ۴۰٪، ۶۰٪ و ۸۰٪ حنا با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (P>۰/۰۵). در میان سه گروه دریافت کننده عصاره حنا میانگین وزن گروه دریافت کننده عصاره ۴۰٪ با میانگین وزن گروه دریافت کننده عصاره ۸۰٪ اختلاف معنی‌داری نشان نداد و تنها گروه دریافت کننده عصاره ۴۰٪ با گروه دریافت کننده عصاره ۶۰٪ حنا از نظر میانگین وزن اختلاف معنی‌دار داشتند (P=۰/۰۰۰) (نمودار ۱).

در ارتباط با میانگین اندازه قطر زخم، گروه‌های دریافت کننده عصاره ۴۰٪ و ۸۰٪ حنا با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند (P=۰/۰۰۰) در حالی که گروه دریافت کننده عصاره ۶۰٪ حنا با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. مقایسه گروه‌های دریافت کننده عصاره حنا با هم تفاوت معنی‌داری از نظر میانگین اندازه زخم بین هر سه گروه نشان داد (P=۰/۰۰۰) (نمودار ۲).



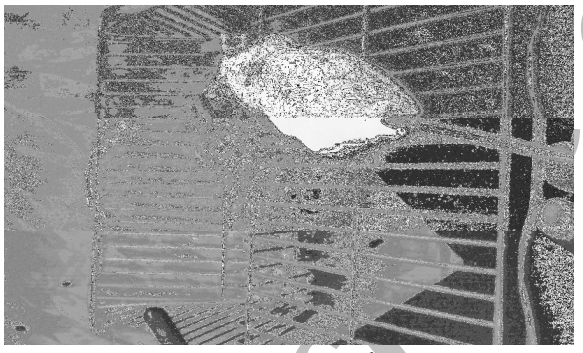
نمودار ۱: *میانگین و انحراف معیار اندازه وزن موش‌ها در طی پانزده هفته*

www..ir



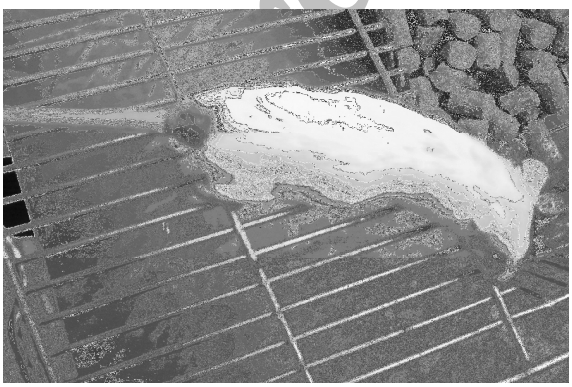
نمودار ۲: *میانگین و انحراف‌معیار اندازه قطر زخم موش‌ها طی پانزده هفته*

گروه شاهد



گروه عصاره ۸۰ درصد حنا

گروه عصاره ۶۰ درصد حنا



گروه عصاره ۴۰ درصد حنا

شکل ۱: *اندازه زخم در موش‌های گروه‌های مختلف*

www..ir

بحث

با توجه به اینکه استعمال داروهای مذکور اغلب تزریقی و به شدت دردآور می‌باشد و به دلیل عوارض سوء جانبی بر روی اعضاء بدن نظیر کلیه‌ها و کبد از یک طرف و همچنین بروز مقاومت در گونه‌های انگل لیشمانیا از طرف دیگر از اثربخشی این داروها کاسته شده است. ضرورت کشف واکسن‌های مؤثر و جدید بر علیه بیماری و استفاده از حشره‌کش‌های مختلف بر ضد پشه خاکی‌ها جهت کنترل لیشمانیوز به‌شدت احساس می‌شود (۱۳). موش کوچک و سفید آزمایشگاهی نژاد BALB/c مدل مناسبی برای بررسی اثربخشی انواع ترکیباتی است که نامزد دارویی برای درمان سالک می‌باشند زیرا پس از آلوده شدن به انگل لیشمانیای عامل سالک روستایی حیوان به فرم جلدی لیشمانیا دچار می‌شود و در صورت عدم درمان بیماری به فرم احشایی تبدیل شده و باعث مرگ حیوان می‌شود (۱۴،۱۵). براساس نتایج بدست آمده در استفاده از عصاره حنا برای درمان زخم سالک هر چه به غلظت حنا افزوده می‌شود اثربخشی افزایش می‌یابد ولی استفاده از غلظت ۸۰ درصد به بالا اثری در توقف کاهش اندازه وزن موش‌ها ندارد. در تحقیق حاضر میانگین اندازه کاهش وزن موش‌های دریافت کننده عصاره حنا با میانگین اندازه کاهش وزن گروه موش‌های شاهد تفاوت چندانی نداشت یعنی استفاده از عصاره حنا سبب کاهش وزن موش‌ها نشد. اما هرچه بر غلظت عصاره حنای استعمال شده برای زخم سالک اضافه می‌شد اثربخشی آن محسوس‌تر و باعث کاهش اندازه قطر زخم موش‌ها می‌شد. همچنین استفاده از غلظت‌های بالا (۸۰ درصد) و پایین (۴۰ درصد) حنا به‌طور محسوس و معنی‌داری میانگین اندازه قطر زخم سالک موش‌ها را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد ولی غلظت‌های میانی (۶۰ درصد) عصاره حنا کاهش محسوس و معنی‌داری ایجاد نکرد. Sharma نیز در بررسی خود اثر عصاره حنا را بر توقف رشد باسیل سل نشان داد (۱۶). علی و همکاران نیز فعالیت ضدالتهابی، ضددرد و ضدعفونت برای عصاره حنا مطرح کرده‌اند (۱۷). در پژوهش حاضر در مجموع استفاده از عصاره حنا سرعت کاهش میانگین اندازه وزن را در موش‌های تحت درمان در مقایسه با موش‌های شاهد کاهش داد ولی این اثر چندان محسوس نبود بدان معنی که موش‌های دریافت کننده عصاره حنا کاهش در میانگین اندازه وزن را به‌صورت کندتری داشتند. از طرف دیگر گسترش و افزایش میانگین اندازه قطر زخم سالک در موش‌های دریافت کننده عصاره‌های حنا به‌طور محسوسی در مقایسه با موش‌های گروه شاهد کمتر بود به‌طوری که زمانی که موش‌های شاهد تلف شدند اندازه قطر زخم‌های بسیار بزرگ‌تری در مقایسه با موش‌های دریافت کننده عصاره حنا داشتند. موش‌های آلوده و دریافت کننده عصاره حنا زخم‌های مرطوب اما کوچک و بدون ترشح داشتند و کاهش اندازه وزن آنها سبب تلف شدن تدریجی آنها شد، ولی در هر صورت سرانجام همه موش‌ها تلف شدند.

Archive of SID

www..ir

Effectiveness of Lawsonia inermis Extract on Cutaneous Leishmaniasis Lesion in BALB/c Mice

Fatahi Bafghi A., Ph.D.[1*], Fallahzadeh H., Ph.D.[2], Mosadegh M.H., Pharm.D.[3]

1. Assistant Professor of Medical Parasitology, Shahid Sadughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran
2. Assistant Professor of Biostatics, Shahid Sadughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran
3. Assistant Professor of Toxicology, Shahid Sadughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran

* Corresponding author email: abafghi@ssu.ac.ir

(Received 15 April 2008 Accepted 25 June 2008)

Abstract

Background & Aims: Henna (*Lawsonia inermis*) leaf has long been used for industrial, commercial and medical purposes. The present study was performed to determine the efficacy of henna on cutaneous leishmaniasis lesion in BALB/c mice.

Methods: Sufficient amount of henna leaves were prepared, grounded, and dissolved in 80% alcohol and the extract was prepared by percolation method. The dry extract was sterilized and prepared in ointment base at 40, 60, and 80% concentrations. At the same time, 40 mice (BABL/c, 8 weeks old) were infected by *Leishmaniasis Major* [MRHO/IR/75/ER] through the injection of 0.1 ml promastigotes subcutaneously in their tail base. Then animals were divided into one control group (without receiving any drug) and three experimental groups receiving respectively 40, 60, and 80% concentrates of henna extract every two days and immediately after the appearance of the lesion. Weekly monitoring of weight and lesion diameter was recorded. Data analysis was done through SPSS software.

Results: In regard to the mean weight, the groups receiving 40% extract and 60% extract showed significant difference with each other (P=0.000) but not with the group receiving 80% extract. There was also no significant difference between control group and case groups in mean weight. Lesion diameter in 40% extract group had significant difference comparing to the control group and 60% and 80% extract groups. Mean lesion size of the mice receiving 40% henna extract compared with mice receiving 60% extracts showed significant difference (P=0.000).

Conclusion: Totally, henna extract reduced the rate of weight decrease but it was not significant. However, the mean lesion size of mice receiving henna extract was significantly reduced as compared with that of control group.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, Henna Extract, BALB/c Mice, Treatment

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2008; 15(4): 329-335

Archive of SID

www..ir

References

1. Zargari A. Medicinal plants. Vol.2, 5th ed., Tehran University Publications,Tehran, 1990; PP354-6 [Persian].
2. Zargari A. Treatment with plants, Pharmacogenosis. Vol. 2, 5th ed., Tehran University Publications, Tehran, 1990; PP7-67 [Persian].
3. Mirhossein H., Moaref G. Applicatin of plants in the treatment and prevention of diseases. Daftar Nashre Farhange Eslami Publication, Tehran, PP18, 194 [Persian].
4. Rojhan M.S. Cure with medicinal plants. Tehran Khayam Publications, Tehran 1992; PP5-82 [Persian].
5. Samsam Shariat S.H. Analysis and identification of medicinal plants content. Isfahan Mashal Publications, Isfahan, 1989; PP1-56 [Persian].
6. Amin Gh. Medicinal plants of Iran. Institute of Iranian Drugs researches, Faculty of Pharmacology, Tehran Medical Sciences University, Tehran, 1991; P66 [Persian].
7. Samsam Shariat S.H. Extraction of effective substances of medicinal plants. Isfahan Mani Publications, Isfahan, 1992; PP3-56 [Persian].
8. Latif A. Isolation of vitamin K-activity compound from the leaves of Lawsonia sp. Chemical composition of the air-dried leaves. *Indian J Agr Sci* 1991; 29(2-3):
9. L. Mackenzie Miall, Thee Merck Index Schaums Solved Problems Series 2000 Solved Problems in**,** 1976, No.5239.
10. Taylor and Francis A.S, Les Actualites pharmaceutiques, 1985. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology* ISSN: 17697344, No. 218.
11. Mandal S., BoominathanR., Devi B.P. Anti-inflammatory, analgesic and antipyeretic properties of clitoria ternatea root *Fitoterapia* 2003; 74(4): 345-9.
12. Abedi S. Induction of immunity against Leishmania major infection by prior inoculation of L.gerbilli in BaLB/C mice. M.Sc. thesis of parasitology. Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, 1996; PP8-15 [Persian].
13. Fatahi Bafghi A. Evaluation of cell mediated immunoresponses against GP_{63} and LPG molecules purified from Leishmania (L) major [MRHO/IR/75/ER] in BALB/C mice and non-heal human patients. Ph.D. thesis of Medical and Clinical Parasitology. Faculty of Mediacal Sciences, Tarbiat Modares University, 2003; PP17-27 [Persian].
14. WHO, 2000, Information Fact Sheet No. 116 revised.
15. Fattahi Bafghi A, Vahidi A, Anvari M.H. Effect of Nigella Sativa extract on cutaneous Leishmaniasis in BALB/C mice, Proceedings of the international conference of the world association for the advancement of veterinary parasitology, 2005; 20, 80.
16. Sharma VK. Tuberculostatic activity of henna (Lawsonia inermis Linn.) *Tubercle* 1990; 71(4): 293-5.
17. Ali BH, Bashir AK, Tanira MO. Anti-inflammatory, antipyretic, and analgesic effects of Lawsonia inermis L. (henna) in rats. *Pharmacology* 1995; 51(6):356-63.

Archive of SID

www..ir