# بررسی اثر کشندگی عصاره‌ی متانولی میوه هلیله زرد (*Terminalia chebula* Retz) بر لیشمانیا ماژور در شرایط برون‌تنی

حامد نورمحمدی[۱]، یحیی معروفی[۲]*، منصور دبیرزاده[۳]، عبدالحسین میری[۴]، علی گریلی[۱]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی پزشکی، گروه انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران
۲-استادیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۳-استادیار، گروه انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران
۴-استادیار، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران
* آدرس مکاتبه: سنندج، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دانشکده پزشکی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی
تلفن: ۰۹۱۸۳۷۵۵۸۲۵، نمابر: ۳۶۶۴۶۷۴ (۰۸۷۳)
پست الکترونیک: maroofi.y@gmail.com

**تاریخ دریافت:** ۹۴/۶/۸ **تاریخ تصویب:** ۹۴/۸/۲۰

## چکیده

**مقدمه:** لیشمانیوز جلدی یکی از مشکلات عمده سلامت در بسیاری از کشورها می‌باشد. استفاده از ترکیبات آنتی‌موان پنج ظرفیتی به عنوان داروهای خط اول درمان لیشمانیوز جلدی، همراه با محدودیت‌ها و عوارض جانبی متعددی می‌باشد.

**هدف:** هدف این مطالعه بررسی اثر کشندگی عصاره متانولی میوه هلیله زرد بر لیشمانیا ماژور در شرایط آزمایشگاهی بود.

**روش بررسی:** عصاره میوه هلیله زرد با غلظت‌های µg/ml ۵۰۰ و ۲۵۰، ۱۲۵، ۸۰ به همراه پروماستیگوت‌های لیشمانیا واقع در فاز لگاریتمی در پلیت کشت ۹۶ خانه‌ایی به صورت ۴ بار تکرار افزوده شده و در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. بعد از گذشت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، درصد بقاء پروماستیگوت‌ها تعیین شد. هلیله زرد با غلظت µg/ml ۸۰ و ۲۵۰ به ماکروفاژهای آلوده به انگل افزوده شد. میانگین تعداد آماستیگوت در هر ماکروفاژ در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از افزودن عصاره گیاه محاسبه شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های ANOVA یکطرفه انجام شد.

**نتایج:** میزان بقاء پروماستیگوت‌ها پس از گذشت ۲۴ ساعت در مواجه با بیشترین و کمترین غلظت هلیله زرد (µg/ml ۵۰۰ و ۸۰) به ترتیب ۱۹/۰۱ و ۹۸/۶۵ درصد بود، میزان بقاء در این دو گروه پس از ۴۸ ساعت به ترتیب، ۷/۸۱ و ۹۷/۲۶ درصد و پس از ۷۲ ساعت به ترتیب، ۳۱/۶۱ و ۹۷/۲۶ درصد بود. میزان $IC_{50}$ پس از ۲۴ ساعت µg/ml ۱۱۴/۱۰به دست آمد. میزان کشندگی عصاره گیاه در آماستیگوت‌ها در زمان ۲۴ ساعت برای دو غلظت µg/ml ۸۰ و ۲۵۰ به ترتیب ۴۰/۳۵ و ۲۹/۹۹ درصد و در زمان ۴۸ ساعت به ترتیب ۴۵/۲۱ و ۴۱/۱۱ درصد به دست آمد.

**نتیجه‌گیری:** عصاره میوه هلیله زرد دارای اثر کشندگی بر پروماستیگوت و آماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در شرایط برون‌تنی است.

**گل‌واژگان:** هلیله زرد، پروماستیگوت، آماستیگوت، لیشمانیا ماژور



Archive of SID
www.SID.ir

## مقدمه

لیشمانیوز جلدی دومین بیماری شایع در بسیاری از کشورهای جهان بخصوص مناطق حاره می‌باشد. در حال حاضر لیشمانیوز جلدی در ۸۸ کشور جهان وجود دارد [۱]. به همین دلیل سازمان جهانی بهداشت برای مبارزه و کنترل این بیماری اهمیت ویژه‌ای قائل می‌باشد و آن را جزء مهم‌ترین برنامه‌های خود قرار داده است [۲]. این بیماری توسط نیش پشه خاکی از جنس فلبوتوموس به انسان انتقال می‌یابد و سبب تشکیل فرم‌های بالینی پوستی، مخاطی و یا احشایی می‌شود [۳]. موارد لیشمانیوز پوستی طی سال‌های اخیر همواره به دلیل مهاجرت تدریجی به شهرها، جابه جایی جمعیت، مواجه افراد غیر ایمن، تخریب شرایط محیطی و اکولوژیکی سوء تغذیه و همراهی HIV رو به افزایش می‌باشد [۴]. درمان دارویی لیشمانیوز عمدتاً با استفاده از ترکیبات آنتی موان صورت می‌گیرد [۵]. علاوه بر عوارض این داروها، عود بیماری و مقاومت دارویی در تعدادی از موارد این بیماری گزارش شده است. تلاش برای دستیابی به اشکال دارویی جدید که بتواند ضمن بهبودی سریع‌تر زخم، کم ترین عوارض جانبی را داشته و پس از درمان جوشگاهی برجای نگذارد، ادامه دارد [۶]. استفاده از گیاهان به عنوان دارو به دلیل در دسترس بودن و ارزان بودن از دیرباز مورد نظر بشر بوده است [۷،۸]. هلیله زرد با نام علمی *Terminalia chebula Retz* گیاهی است از خانواده *Combertaceae* که در هند و آسیا به صورت بومی وجود دارد و به طور سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود. این گیاه دارای ترکیبات تانن و فنلی مثل اسید گالیک، اسید الاجیک و گالوتانن و ترکیبات فلانوئیدی و تری‌ترپنی است [۹]. گزارش‌های زیادی در رابطه با اثرات درمانی این گیاه از جمله خواص ضدسرطانی، آنتی‌موتاژنیک، ضدباکتری، ضدقارچی، ضدویروسی و آنتی‌اکسیدانی وجوددارد. هلیله زرد به طور معمول برای درمان تب، سرفه، وبا، اسهال، بیماری‌های پوست، کاندیدیاز، عفونت دستگاه ادراری و عفونت زخم استفاده می‌شود [۱۲-۱۰]. در تعدادی از مطالعات صورت گرفته بر روی خواص درمانی این گیاه خواص التیام‌دهندگی در زخم‌های جلدی اثبات شده است. همچنین مشخص شده که عصاره هلیله زرد می‌تواند تنظیم‌کننده و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی باشد [۹].

این مطالعه با توجه به خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی و همچنین خواص التیام‌دهندگی هلیله زرد و به منظور بررسی اثر کشندگی عصاره متانولی این گیاه بر لیشمانیا ماژور در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت کار تجربی در سال ۱۳۹۴ انجام شد.

### کشت پروماستیگوت لیمشانیا ماژور

سویه استاندارد لیشمانیا ماژور (MRHO/IR/75/ER) از آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد و در محیط RPMI-1640 به همراه سرم جنین ۱۰ درصد غیرفعال شده با حرارت و دمای ۲۱ سانتی‌گراد کشت داده شد.

### تهیه و استخراج عصاره هلیله زرد

میوه گیاه هلیله زرد از عطاری معتبر در شهرستان زابل تهیه شد. تشخیص و تعیین گونه هلیله زرد در دانشگاه فردوسی مشهد با کد هرباریومی ۲۷۱۸ انجام شد. عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون با استفاده از متانول ۸۰ درصد انجام شد. سپس در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و فشار کم با استفاده از دستگاه روتاری اوپورین با مشخصات (IKA WERKE) و مدل (RVO6-ML) حلال تبخیر و عصاره تغلیظ شد. پس از خشک شدن، عصاره بسته‌بندی و در دمای ۰ درجه سانتی‌گراد و تاریکی تا انجام آزمایش‌ها نگهداری شد. با استفاده از سرم فیزیولوژی استوک با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. در ادامه از محلول استوک غلظت‌های µg/ml ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۸۰ تهیه شد.

### افزودن عصاره هلیله زرد به پروماستیگوت‌ها

تعداد $10^6$cell/ml پروماستیگوت انگل که در فاز لگاریتمی رشد قرار داشتند به هر چاهک از پلیت کشت ۹۶ خانه‌ای افزوده شد. سپس عصاره هلیله زرد با رقت‌های µg/ml ۸۰،



Archive of SID
www.SID.ir

۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ به پروماستیگوت‌ها افزوده شد. چاهک بدون عصاره گیاه به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. هم کنترل و هم گروه‌های مورد به صورت ۴ بار تکرار انجام شد. میزان بقاء انگل پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با روش‌های شمارش مستقیم و روش رنگ سنجی MTT تعیین شد.

**روش رنگ سنجی MTT**

MTT Diphenyltetrazolium Bromide 3-(4,5-(Dimethylthizol-2-Y1)-2,5-) یک روش اسپکتروفوتومتری غیر رادیواکتیو برای تعیین تکثیر سلولی، حیات سلولی و تعیین سمیت داروها است. این روش، یک روش رنگ‌سنجی است که طی آن نمک تترازولیوم (MTT) به یک محصول ارغوانی فورمازان نامحلول تبدیل می‌شود. این واکنش احیا توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی انگل صورت می‌پذیرد که به عنوان یک مولفه رشد و زنده بودن پروماستیگوت‌ها در برابر پاسخ دارویی بکار می‌رود، به طوری که کاهش در مقدار MTT احیا شده، نشان‌دهنده سمیت دارو برای انگل می‌باشد [۱۵-۱۳]. رنگ MTT با غلظت نهایی ۰/۵ mg/ml به چاهک‌ها افزوده شد و مجددا پلیت در دمای ۲۱ سانتی‌گراد و تاریکی به مدت ۴ ساعت انکوبه شد. سپس ۱۰۰ µl محلول DMSO به چاهک‌ها افزوده شد و ۱۰ دقیقه بعد جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر قرائت شد. با به دست آوردن جذب نوری نمونه‌ها می‌توان از طریق فرمول زیر درصد بقاء سلول را محاسبه کرد. {[AT-AB]/ [AC-AB] × 100 = درصد سلول‌های زنده}. در این فرمول AB جذب نوری چاهک بلانک، AC جذب نوری چاهک کنترل و AT جذب نوری سلول تیمار شده با دارو است [۱۶].

**کشت آماستیگوت انگل**

ماکروفاژهای صفاقی موش با تزریق ml ۳ بافر PBS استریل به صفاق موش استخراج شد [۱۳]. تعداد $10^5$ ماکروفاژ در هر چاهک پلیت ۱۲ خانه‌ایی که قبلاً در ته هر چاهک لاملی گرد و استریل قرار داده شده بود، به همراه محیط RPMI-1640 و سرم جنین گاوی ۱۰ درصد اضافه شده و در دمای ۳۷ سانتی‌گراد و $CO_2$ ۵ درصد انکوبه شد. بعد از ۲۴ ساعت تعداد $10^6$ پروماستیگوت انگل واقع در مرحله ایستایی به چاهک حاوی ماکروفاژ افزوده شد و مجدداً پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و $CO_2$ ۵ درصد انکوبه شد. ۲۴ ساعت بعد برای حذف پروماستیگوت‌های وارد نشده به ماکروفاژ، مایع رویی دور ریخته شد و محیط کشت تازه به همراه FBS ۱۰ درصد به چاهک‌ها افزوده شد.

**اثر کشندگی عصاره هلیله زرد بر آماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور**

سپس هلیله زرد با غلظت‌های µg/ml ۸۰ و ۲۵۰ به چاهک‌ها اضافه شد. چاهک حاوی ماکروفاژهای آلوده به انگل و بدون عصاره گیاه به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. بعد از زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت لامل‌ها از ته چاهک‌ها برداشته شده و با متانول مطلق فیکس شده و با رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شدند. سپس آماستیگوت‌های موجود در ۱۰۰ ماکروفاژ شمارش شد و میانگین تعداد آماستیگوت در هر ماکروفاژ محاسبه شد.

**محاسبات آماری**

تمامی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنف بررسی شد و سپس داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

## نتایج

**درصد بقاء پروماستیگوت‌های مواجه شده با عصاره هلیله زرد**

درصد بقاء پروماستیگوت‌های مواجه شده با عصاره هلیله زرد در زمان ۲۴ ساعت در غلظت‌های µg/ml (۸۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰) به ترتیب ۱۹/۰۱، ۲۰/۹۲، ۳۹/۷۹، ۹۸/۶۵ درصد، در زمان ۴۸ ساعت به ترتیب ۷/۸۱، ۱۸/۰۱، ۲۰/۳۰، ۹۷/۲۶ درصد و در زمان ۷۲ ساعت پس از کشت به ترتیب ۳۱/۶۱، ۳۸/۸۰، ۴۲/۰۱، ۹۷/۲۶ درصد به دست آمد. میزان



Archive of SID

www.SID.ir

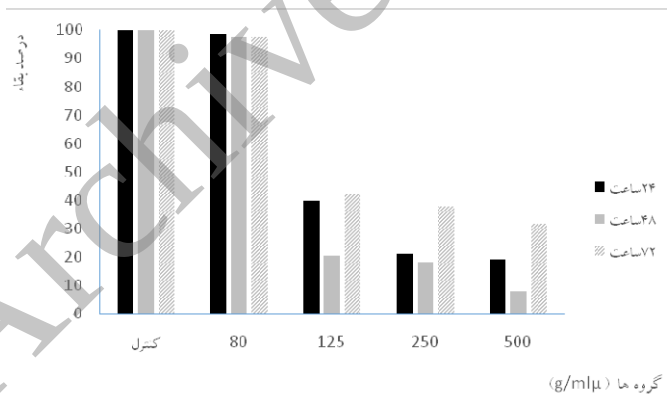
$IC_{50}$ پس از ۲۴ ساعت برای هلیله زرد ۱۱۴/۱۰ µg/ml به دست آمد (نمودار شماره ۱).

**اثر عصاره هلیله زرد بر آماستیگوت**

میانگین تعداد آماستیگوت در گروه کنترل در زمان ۲۴ساعت برابر با ۱۲/۶۴ و در زمان ۴۸ ساعت برابر با ۱۵/۸۶ بود. میانگین تعداد آماستیگوت در ماکروفاژ در گروه تیمار شده با عصاره هلیله زرد با غلظت ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب برابر با ۷/۵۴ و ۸/۶۹ بود. میانگین تعداد آماستیگوت‌ها در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت برابر با ۸/۸۵ و ۹/۳۴ گزرش شد. در جدول شماره ۱ درصد کشندگی هلیله زرد در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت آورده شده است.

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان کشندگی در پروماستیگوت‌ها وابسته به دوز عصاره گیاه و زمان است، طوری که غلظت‌های بالای هلیله زرد دارای اثر کشندگی بیشتری بر پروماستیگوت‌ها بودند. بیشترین میزان کشندگی مربوط به غلظت ۵۰۰ µg/ml در زمان ۴۸ ساعت و کمترین مربوط به غلظت ۸۰ µg/ml در زمان ۲۴ ساعت بود. در زمان ۷۲ ساعت از میزان کشندگی انگل کاسته شد؛ این بدین دلیل است که ما در این تحقیق از فاز لگاریتمی انگل استفاده کردیم، انگل در این مرحله از رشد دارای قدرت تکثیر و رشد بالایی است. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از میزان کشندگی عصاره گیاه کاسته شده و از طرفی به دلیل قرار داشتن انگل در فاز لگاریتمی و فاز تکثیر، میزان بقاء انگل دوباره افزایش می‌یابد. به منظور بررسی اثر کشندگی عصاره هلیله زرد بر آماستیگوت‌ها با توجه به میزان $IC_{50}$ به دست آمده از دو غلظت ۸۰ و ۲۵۰ µg/ml استفاده شد. بیشترین میزان کشندگی در آماستیگوت‌ها مربوط به غلظت ۸۰ µg/ml بعد از ۴۸ ساعت بود. برخلاف انتظار، میزان کشندگی غلظت ۸۰ µg/ml هلیله زرد بیش از غلظت ۲۵۰ µg/ml بود. غلظت ۸۰ µg/ml نزدیک به $IC_{50}$ به دست آمده برای پروماستیگوت‌ها است.




**نمودار شماره ۱- درصد بقاء پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در حضور غلظت‌های مختلف عصاره هلیله زرد در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت**

**جدول شماره ۱- درصد کشندگی هلیله زرد در آماستیگوت‌ها پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت**

| میزان کشندگی (درصد) | | |
|---|---|---|
| زمان / هلیله زرد | ۲۴ ساعت | ۴۸ ساعت |
| ۸۰ (µg/ml) | ۴۰/۳۵ | ۴۵/۲۱ |
| ۲۵۰ (µg/ml) | ۲۹/۹۹ | ۴۱/۱۱ |



Archive of SID
www.SID.ir

تحقیقات و بررسی‌های زیادی در رابطه با اثر بخشی انواع گیاهان دارویی بر لیشمانیوز انجام شده است. در بررسی که توسط شریعتی‌فر و همکاران روی اثر ضدلیشمانیایی میوه فلوس بر پروماستیگوت در محیط کشت انجام شد، نشان داد که در غلظت‌های ۳ تا ۹ درصد هیچگونه رشد انگلی مشاهده نشد [۱۲]. در بررسی دیگری که توسط حجازی و همکاران درخصوص درمان لیشمانیوز پوستی به روش گیاه درمانی با استفاده از عصاره هیدروالکلی حنا، سیر، آویشن و بومادران صورت گرفت، نشان داد که پس از ۳ هفته از پایان دوره درمان، عصاره هیدروالکلی آویشن و بومادران در التیام زخم سالک تأثیر خوبی داشته‌اند [۱۷]. اثرات آنتی‌موتاژنی و ضدویروسی گونه‌های مختلف هلیله (زرد و سیاه) طی پژوهش‌هایی مورد بررسی قرار گرفته است. در بررسی که توسط منوری و همکاران بر روی خواص ضدویروسی هلیله زرد انجام گرفت نشان داد که وقتی غلظت ۲۰۰ µg/ml عصاره یک ساعت بعد از تلقیح ویروس مورد استفاده قرار گیرد تکثیر HSV-1 و آدنوویروس را به ترتیب ۵۰ و ۲۴ درصد کاهش می‌دهد. در حالی که غلظت ۱۰۰ µg/ml هلیله زرد اثر ناچیزی روی تکثیر هر دو ویروس نشان می‌دهد و غلظت پایین‌تر از آن روی هیچکدام مؤثر نبود. در مطالعه منوری به دلیل توکسیسیته بالای هلیله زرد بر روی سلول‌ها از بالاترین غلظت غیرتوکسیک این دارو یعنی ۲۰۰ µg/ml استفاده شد [۱۸]. نتایج منوری با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد. در پژوهش‌هایی که در هند و کره انجام شده است، نشان داده‌اند که هر دو نوع هلیله در تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس ممانعت ایجاد می‌کند [۱۹،۲۰].

## نتیجه‌گیری

عصاره میوه هلیله زرد دارای اثر کشندگی بر پروماستیگوت و آماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در شرایط برون‌تنی است.

## تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد. نویسندگان مقاله بدینوسیله مراتب تقدیر و تشکر را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زابل به دلیل حمایت مالی اعلان می‌دارند.

## منابع

**1.** WHO expertise. Tenth program report of world health organization. 1st ed. Swiss: WHO press; 1990.

**2.** Ahmadi K, Mahmoudzadeh PA and Esfahani AA. Effect of garlic extract on cutaneous leishmaniasisand the role of nitric oxide. *Iranian J. Med. Sci.* 2002; 27: 97 - 100.

**3.** Sharifi I, Fekri A, Aflatonian MR, Nadim A, Nikian Y and Kamesipour A. Cutaneous leishmaniasis in primary school children in thesoutheastern, Iranian city of Bam, 1994-95. *Bull. World Health Organ.* 1998; 76 (3): 289 - 93.

**4.** W.H.O. Control of the leishmania (Report by the Secretariat). W.H.O. EB118/4. 2006, pp: 1 - 7.

**5.** Natera S, Machuca C, Padron-Nieves M, Romero A, Diaz E and Ponte-Sucre A. *Leishmania spp*. proficiency of drug-resistant parasites. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2007; 29 (6): 637 - 42.

**6.** Kobets T, Grekov I and Lipoldova M. Leishmaniasis: prevention, parasite detection and treatment. *Curr. Med. Chem.* 2012; 19 (10): 1443-74.

**7.** Ahmadi M, Fata A, Khamesipour A, Rakhshandeh H, Miramin Mohammadi A, Salehi G and et al. The efficacy of hydro alcoholic extract of Seidlitzia rosmarinus on experimental zoonotic cutaneous leishmaniasis lesions in murine model. *Avicenna J. Phytomed.* 2014; 4 (6): 385 - 91.

**8.** Chan-Bacab MJ, Pena-Rodriguez LM. Plant



Archive of SID

www.SID.ir

natural products with leishmanicidal activity. *Nat. Prod. Rep.* 2001; 18 (6): 674 - 88.

**9.** Rathinamoorthy R., Thilagavathi G. *Terminalia chebula* - Review on Pharmacological and Biochemical Studies. *Int. J. PharmTech Res.* 2014; 6 (1): 97 - 116.

**10.** Sharma P, Prakash T, Kotresha D, Ansari MA, Sahrm UR, Kumar B, and et al. Antiulcerogenic activity of *Terminalia chebula* fruit in experimentally induced ulcer in rats. *Pharm. Biol*. 2011; 49 (3): 262 - 8.

**11.** Saleem A, Husheem M, Harkonen P and Pihlaja K.J. Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of *Terminalia chebula retz* fruit. *J. Ethnopharmacol*. 2002; 81 (3): 327 - 36.

**12.** Shariatifar N, Chamanzari H and Ghanay MS. The study of flos plant on progmastigote in culture. *Ofogh-e-Danesh J.* 2006; 11: 5-9. [Persian]

**13.** Khademvatan S, Adibpour N, Eskandari A, Rezaee S, Hashemitabar M and Rahim F. In silico and in vitro comparative activity of novel experimental derivatives against Leishmania major and Leishmania infantum promastigotes. *Exp. Parasitol.* 2013; 135 (2): 208 - 16.

**14.** Khademvatan S, Gharavi MJ, Rahim F and Saki J. Miltefosine-induced apoptotic cell death onLeishmania major and L. tropica strains. *The orean J. Parasitol.* 2011; 49 (1): 17 - 23.

**15.** Poorrajab F, Ardestani S.K, Foroumadi A, Emami S, Kariminia A, Behrouzi- Fardmoghadam M and et al. Selective leishmanicidal effect of 1,3,4-thiadiazole derivatives and possible mechanism ofaction against Leishmania species. *Exp. Parasitol.* 2009; 121: 323 - 30.

**16.** Ebrahimi sadr P, Ghaffarifar F, Hassan ZM and Beheshti N. The effect of artemether-inducedapoptosis in promastigotes of Leishmania major (MRHO/IR/75/ER) under in-vitro conditions. *Modares J. Med. Sci. Pathol.* 2012; 15 (2): 1 - 10. [Persian]

**17.** Hejazi SH, Shirani-Bidabadi L, Zolfaghari-Baghbaderani A, Saberi S, Nilforoushzadeh MA, Moradi SH and et al. Comparison effectiveness of extracts of Thyme, Yarrow, Henna and Garlic on cutaneous leishmaniasis caused by L. major in animal model (Balb/c). *J. Med. Plants* 2009; 8: 129 - 36. [Persian]

**18.** Monavari M, Hamkar R, Norozbabaei Z, Adibi L, Norozi M and Ziaie A. Antiviral effects of 25 different species of medicinal plants in Iran. *J. Med. Microbiol.* 2007; 2 (1): 49 - 59.

**19.** Kim TG, Kang SY, Jung KK, Kang JH, Lee E, Han HM and Kim SH. Antiviralactivities of extracts isolated from *Terminalis chebula* Retz., *Sanguisorba officinalis* L., *Rubus coreanus* Miq and *Rheum palmatum* L. against hepatitis B virus. National Institute of Toxicological Research, Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, *Korea. Phytother. Res*. 2001; 15 (8): 718 - 20.

**20.** Badmaev V and Nowakowski M. Protection of epithelial cells against Influenza A virus by aplant derived biological response modifier Ledretan-96. *Phytother. Res.* 2000; 14 (4): 245 - 49.

Archive of SID



www.SID.ir