

مقدمه

است و در تولید ادکلن، عطر، صابون، شامپو و خوشبوکننده‌های هوا کاربرد فراوان دارد. اسانس آن خاصیت ضد باکتریایی دارد. به طوری که از پیکر رویشی و گل آن در معالجه افراد فلج و بکار انداختن دست و پای آنها استفاده کرده‌اند. همچنین در درمان بعضی از بیماریهای مربوط به مغز از جمله خون گرفتگی عروق مغزی، بیماریهای مربوط به دستگاه عصبی، درمان روماتیسم و به‌عنوان گیاه زینتی و یا تغذیه آن به توسط زنبور عسل برای بالا بردن کیفیت عسل از آن استفاده‌های فراوانی می‌شده است (میرحیدر، ۱۳۷۳؛ آذربخت، ۱۳۷۸؛ آیینه‌چی، ۱۳۷۰).

بررسیها نشان می‌دهد که تاکنون مطالعات کمی پیرامون ویژگیهای فتوشیمیایی این گونه گیاهی صورت گرفته است. اسانس اسطوخودوس دارای حدود ۴۰ درصد لینالیل استات است. همچنین در آن ترکیبهایی نظیر اسید بوتیریک، اسید پروپیونیک و اسید والریک، لینالول آزاد و ژرانیول وجود دارد. جداسازی برخی ترکیبها نظیر لینالیل استات (۶۵-۳۵ درصد)، لینالول، کامفور، ژرانیول، کومارین، فلاونوئید و بورنئول از گیاهان این گونه گزارش شده است (شمس اردکانی و معطر، ۱۳۷۸؛ امامی و همکاران، ۱۳۸۱؛ امین، ۱۳۷۷). با توجه به اینکه عامل سالک روستایی *Leishmania (L) major* در موشهای سفید کوچک آزمایشگاهی نژاد BALB/c ابتدا جلدی و بعد طی روندی تدریجی احشایی و حیوان را از بین می‌برد و با توجه به اینکه اساس درمان سالک تقویت دستگاه ایمنی است، اثر سرکوب‌کنندگی عصاره اسطوخودوس بر روی سیستم ایمنی برای نخستین بار در دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد بررسی شد.

گیاه اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula spica* L. یا لاواندا به معنی "شستشو" از خانواده نعناع *lamiaceae* است. تا بحال ۴۸ گونه از این جنس شناسایی شده که در نقاط مختلف اروپای جنوبی و کشورهای حوزه دریای مدیترانه بخصوص جنوب ایتالیا، یوگسلاوی، یونان، جنوب فرانسه و آفریقای شمالی می‌روید. این گونه در ایران خودرو نمی‌باشد ولی اخیراً در برخی نواحی ایران کشت می‌شود و در بازار گیاهان دارویی ایران به نام اسطوخودوس شناخته شده است. گل‌های آن به رنگ بنفش و به صورت سنبله می‌باشد. قسمت مورد استفاده این گیاه، گلها و سرشاخه‌های گلدار آن است. اسطوخودوس بوی بسیار مطبوعی دارد. طعم آن تلخ است و به علت بوی مطبوع آن در عطرسازی مصرف می‌شود. اسانس اسطوخودوس که از تقطیر گل و سرشاخه‌های گلدار این گیاه بدست می‌آید مایعی است زرد رنگ یا زرد مایل به سبز که دارای بوی مطبوعی است. رویش این گیاه از فصل بهار (اوایل فروردین) آغاز و گلها اواخر بهار (خرداد) ظاهر می‌شوند و تا اواسط تابستان (مرداد) گلدهی ادامه می‌یابد و هوای گرم و خشک به گلدهی آن سرعت می‌دهد. اسطوخودوس گیاهی چند ساله وحشی است. ارتفاع گیاهان چند ساله به ۶۰-۴۰ سانتی‌متر می‌رسد و برگها به رنگ سبز تیره، نیزه‌ای شکل و به‌طور متوسط روی ساقه قرار می‌گیرند (خسروی و خسروی، ۱۳۷۷؛ صمصام شریعت، ۱۳۷۳؛ زرگری، ۱۳۶۹؛ میرحیدر، ۱۳۷۳).

بنابراین قسمتهای مورد استفاده اسطوخودوس سرشاخه‌های گلدار و برگدار آن است. اسانس آن از اجزای اصلی برخی فرآورده‌های بهداشتی و آرایشی

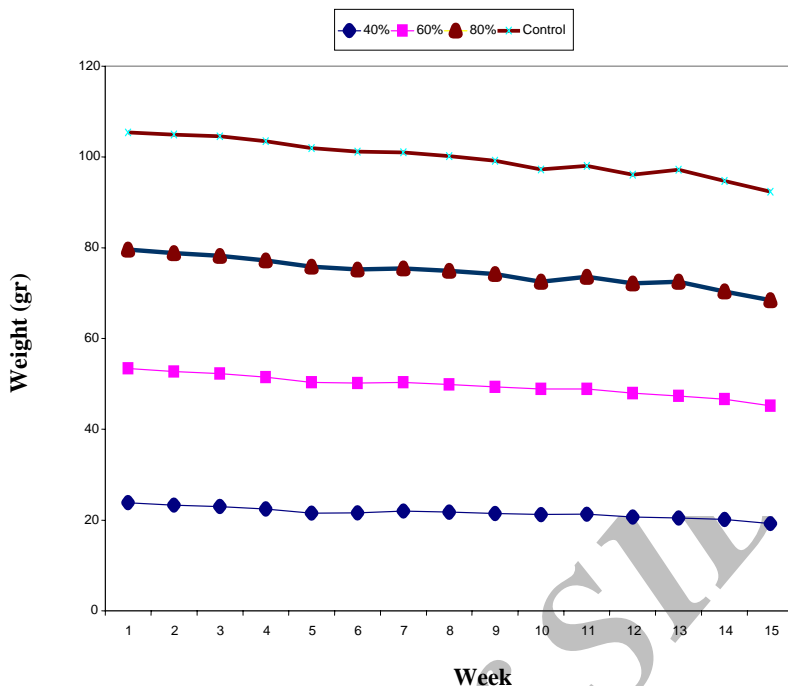
مواد و روشها

۳۰۰ گرم از سرشاخه‌های گلدار اسطوخودوس تهیه و آسیاب شده و در داخل الکل ۸۰٪ قرار داده شدند. ارلن محتوی گیاه بر روی چرخاننده مغناطیسی (stirrer) با مگنت و در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و بعد محتویات آن صاف شد. محلول صاف شده در دمای 37°C قرار داده شد تا آب و الکل آن بخار و عصاره خشک شود. بعد آن را در شرایط استریل و در پایه پماد در غلظتهای ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد تهیه و در داخل یخچال تا زمان استفاده نگهداری شد. تعداد ۴۰ سر موش کوچک و سفید آزمایشگاهی نژاد BALB/c (از مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی) که همه در ۸ هفتهگی تهیه شد در ۴ گروه قرار گرفتند که شامل: گروه شاهد بدون هر گونه دریافت عصاره و گروههای دریافت‌کننده ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد عصاره اسطوخودوس بودند. انگل لیثمانیا عامل سالک روستایی سویه (L) major [MRHO/IR/75/ER] (تهیه شده از گروه انگل‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران) در محیط NNN کشت شده و برای تکثیر انبوه به محیط RPMI₁₆₄₀ غنی شده منتقل شد و چهار بار پاساژ داده شد. در پاساژ چهارم لیتومونادهای فرم «ایستا» به غلظت 1×10^7 رسانده شد و در این حال همزمان همه ۴۰ سر موش با تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر از این لیتومونادها به صورت زیرجلدی و از قاعده دم عفونی شدند. پس از بروز زخم در محل تلقیح انگل در محل قاعده دم موش استعمال یک روز در میان عصاره‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد اسطوخودوس برای گروههای مرتبط (با مالیدن پمادهای تهیه شده بر روی زخم سالک در موش) را آغاز و وزن موش‌ها به‌طور هفتگی پایش و با استفاده از

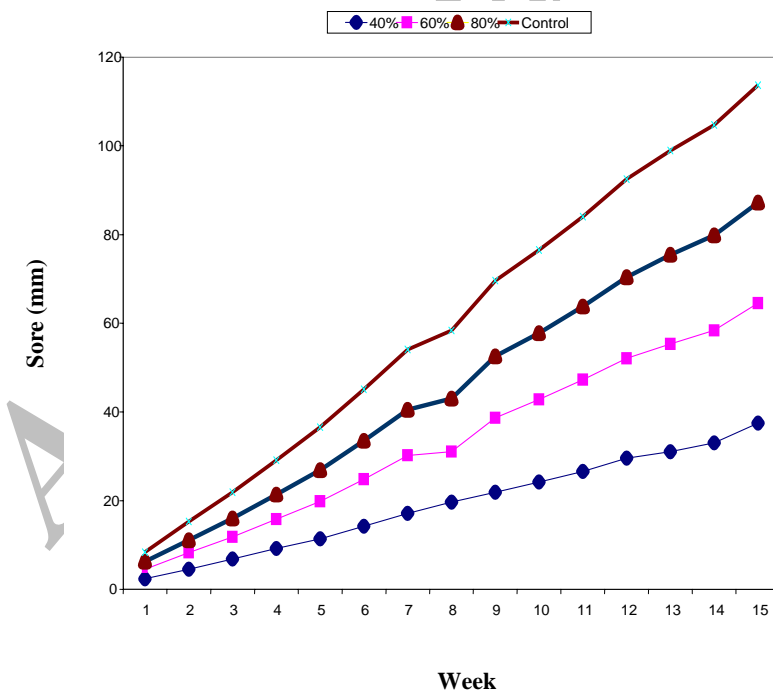
ترازو (Mettler, Switzerland) و تا صدم گرم و اندازه قطر زخم موش‌ها با کولیس ورنیه (Mettler, Switzerland) تا یک‌دهم میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت شد. استعمال عصاره و پایش و ثبت اندازه قطر زخم سالک و وزن موش‌ها تا هفته پانزدهم که همراه با مرگ آخرین موش گروه شاهد بود ادامه یافت و بعد داده‌ها ثبت و با استفاده از بسته نرم‌افزاری spss و آنالیزواریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

موش‌ها پس از آلوده شدن و آغاز چالش با انگل و استعمال پماد تهیه شده از عصاره از نظر اندازه وزن که به‌طور طبیعی پس از سالکی شدن کاهش می‌یابد) و از نظر اندازه قطر زخم (که پس از سالکی شدن افزایش می‌یابد) مورد پایش قرار گرفتند و این پایش تا مرگ آخرین موش از گروه موش‌های شاهد ادامه یافت. میانگین اندازه وزن موشهای دریافت‌کننده عصاره ۴۰ درصد اسطوخودوس با میانگین اندازه وزن موش‌های دریافت‌کننده عصاره‌های ۶۰ و ۸۰ درصد و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار در وزن نشان داد ($P=0.000$). میانگین اندازه وزن موشهای گروه شاهد با میانگین اندازه وزن موشهای دریافت‌کننده عصاره‌های ۴۰ و ۶۰ درصد موشهای دریافت‌کننده عصاره‌های ۴۰ و ۶۰ درصد اسطوخودوس اختلاف معنی‌دار در وزن نشان داد ($P=0.001$)، ولی با میانگین اندازه وزن موشهای دریافت‌کننده عصاره ۸۰ درصد اسطوخودوس اختلاف معنی‌دار در وزن نشان نداد ($P>0.05$) (شکل ۱). میانگین اندازه قطر زخم موشهای دریافت‌کننده عصاره ۴۰ درصد اسطوخودوس با میانگین اندازه قطر



شکل ۱- میانگین و انحراف معیار اندازه وزن موشهای شاهد و دریافت کننده غلظت های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد عصاره اسطوخودوس عفونت یافته به انگل سالک در طول پانزده هفته



شکل ۲- میانگین و انحراف معیار اندازه قطر زخم موشهای شاهد و دریافت کننده غلظت های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد عصاره اسطوخودوس عفونت یافته به انگل سالک در طول پانزده هفته

اسطوخودوس سبب تسریع در کاهش وزن موشها و بیانگر خاصیت سرکوب‌کنندگی دستگاه ایمنی آنهاست و هر چه غلظت عصاره اسطوخودوس بیشتر می‌شود اثر ایمنوساپروسیو اسطوخودوس بیشتر می‌شود، ولی هر چند استفاده از غلظت‌های بالای ۶۰ درصد سبب افزایش سرکوب‌کنندگی آن می‌شود، اما اثر سرکوب‌کنندگی و در نتیجه کاهش وزن موش‌ها محسوس نیست و معنی‌دار نمی‌شود. همچنین با افزایش غلظت عصاره اسطوخودوس اندازه قطر زخم موشها بیشتر و به عبارتی اثر سرکوب‌کنندگی عصاره بیشتر می‌شود، ولی غلظت بیش از ۶۰ درصد هر چند سبب افزایش قطر زخم‌ها می‌شود ولی معنی‌دار نیست. Watson و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد که عصاره اسطوخودوس در لوله آزمایش اثر ضد میکروبی دارد و در مطالعات انسانی‌اش به عنوان محرک و نیروبخش شناخته شده است. همچنین نشان داده شد افرادی که دارای انواع حساسیت‌ها هستند نباید از عصاره این گیاه استفاده کنند. Knobb و همکاران (۲۰۰۰) فرمول جدیدی از ترکیب‌های اسطوخودوس را به عنوان ممانعت‌کننده پاسخ‌های التهابی در حیوانات آزمایش کردند و نشان دادند که در پاسخ به زخم‌های پوستی، جراحات شیمیایی پوست یا تحریکات غیرطبیعی دستگاه ایمنی و یا به عوامل ناشناخته، خاصیت ایمنوساپروسیو از خود نشان می‌دهند. Hajihashemi و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از عصاره هیدروالکلی برگ‌های اسطوخودوس اثر ضد درد و ضد التهابی آن را در موش سوری نشان دادند. همچنین Sonboli و همکاران (۲۰۰۴)، Goren و همکاران (۲۰۰۲) و Abad و همکاران (۲۰۰۰) اثر ضد میکروبی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی (به‌ویژه گرم مثبت‌ها)، قارچ‌ها و همه ویروس‌های DNA و RNA را نشان دادند.

زخم موش‌های دریافت‌کننده عصاره ۶۰ درصد اسطوخودوس و گروه موش‌های شاهد اختلاف معنی‌دار در اندازه قطر زخم نشان داد ($P=0.000$)، ولی با میانگین اندازه قطر زخم موش‌های دریافت‌کننده عصاره ۸۰ درصد اسطوخودوس اختلاف معنی‌دار در قطر زخم نشان نداد ($P>0.05$) (شکل ۲).

بحث

بررسی تجربی گذشته نشان می‌دهد بسته به این که کدام گروه از T-helperها فعالیت و تکثیر بیشتر و در نتیجه ترشحات غالب‌تری داشته باشند سیر انگل لیشمانیا را در بدن مهره‌داران رقم می‌زنند. چنانچه T-helperهای گروه یک ($T-h_1$) غالب شده و $IFN\gamma$ و IL_2 تولید نماید دستگاه ایمنی و ماکروفاژها در برابر انگل تقویت شده و بر انگل غالب می‌شوند و رشد و جولان انگل در بدن متوقف و مهار می‌شود. اما اگر دستگاه ایمنی به سوی تکثیر T-helperهای گروه دو ($T-h_2$) کشیده شود منجر به تولید IL_4 و IL_{10} شده، دستگاه ایمنی و ماکروفاژها سرکوب و انگل لیشمانیا با تکثیر فراوان باعث بروز لیشمانیوز شدید می‌شود. بنابراین اساس درمان سالک، تقویت دستگاه ایمنی است. از آنجا که موش کوچک و سفید آزمایشگاهی نژاد BALB/c پس از عفونت به انگل لیشمانیا سویه [Leishmania (L) major (MRHO/IR/75/ER)] (عامل سالک روستایی) در صورت عدم درمان در مسیری طبیعی، ابتدا حیوان را دچار سالک می‌کند و پس از مدتی تبدیل به لیشمانیوز احشایی شده و باعث تلف شدن حیوان می‌شود (امین، ۱۳۷۷). براساس نتایج، هر چه بر غلظت عصاره اسطوخودوس افزوده می‌شد اثربخشی آن شدیدتر می‌شد. به عبارتی استفاده از عصاره‌های ۴۰ و ۶۰ درصد

- خسروی، س.م. و خسروی، س.ا.ع.، ۱۳۷۷. گیاهان دارویی و نحوه کاربرد آنها برای بیماریهای مختلف در طب سنتی. چاپ سوم، نشر محمد، ۳۲۱ صفحه.
- زرگری، ع.، ۱۳۶۹. گیاهان دارویی ایران. جلد دوم، چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران، ۹۲۴ صفحه.
- شمس اردکانی، م.ر. و معطر، ف.، ۱۳۷۸. راهنمای گیاه درمانی. فرهنگستان علوم پزشکی جمهوری اسلامی ایران، ۲۹۳ صفحه.
- صمصام شریعت، س.ه.، ۱۳۷۳. عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش شناسایی و ارزیابی آنها. انتشارات مانی، اصفهان، ۴۶۱ صفحه.
- میرحیدر، ح.، ۱۳۷۳. کاربرد گیاهان دارویی در پیشگیری و درمان بیماریها. انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی، ۵۲۷ صفحه.
- Abad, M.J., Guerra, J.A., Bermejo, P., Irurzun, A. and Carrasco, L., 2000. Search for antiviral activity in higher plant extracts. *Phytotherapy Research*, 14(8): 604-607.
- Adriana, O., Santosa, T., Ueda-Nakamurab, B.P., Dias Filhoa, B., Valdir, F., Veiga, J.D., Angelo, C.p. and Celso V.N., 2008. Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(2): 204-208.
- Goren, A., Topcu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydogmus, Z. and Pezzuto, J.M., 2002. The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *Stoechas*, Z. *Naturforsch [C]*, 57(9-10): 797-800.
- Hajhashemi, V., Ghannadi, A. and Sharif, B., 2003. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(1): 67-71.
- Knobb, .O. and Bear, L.L.D., 2000. The benefit of US Provisional Application, 60: 100-222.
- Sonboli, A., Salehi, P. and Yousefzadi, M., 2004. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Nepeta crispa* Willd. from Iran. *Z. Naturforsch [C]*, 59(9-10): 653-656.
- Watso, W.H., Cai, J. and Jones, D.P., 2000. Diet and apoptosis, *Annual Review Nutrition*, 20: 485-505.

Adriana و همکاران (۲۰۰۸) اثر ایجاد التهاب اسطوخودوس را بر زخم لیشمانیا آمازوننسیس بررسی کردند.

در مجموع، استفاده از عصاره اسطوخودوس سبب افزایش پاسخهای التهابی و تشدید بیماری سالک شد. به طوری که هر چه غلظت عصاره اسطوخودوس در پماد افزایش می‌یافت، کاهش اندازه وزن موش و افزایش اندازه قطر زخم سالک سریعتر شد، به نحوی که بسیار زودتر از گروه موشهای شاهد موشهای دریافت‌کننده عصاره‌های اسطوخودوس تلف شدند. زخم سالک موش‌هایی که عصاره‌های اسطوخودوس را دریافت می‌نمودند، بسیار درشت بود و به شدت دچار نکروز و بافت‌مردگی شدند و البته تا غلظت ۶۰ درصد اثر تشدیدکنندگی سرکوب ایمنی معنی‌دار و محسوس بود ولی از آن به بعد افزایش غلظت در افزایش اثر تشدیدکنندگی اثری نداشت.

منابع مورد استفاده

- آذربخت، م.، ۱۳۷۸. رده‌بندی گیاهان دارویی ایران. مؤسسه انتشاراتی تیمورزاده، نشر طبیب، ۲۷۷ صفحه.
- آیینه‌چی، ی.، ۱۳۷۰. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۱۱۹۶ صفحه.
- امامی، ا.، شمس اردکانی، م.ر. و نکویی نایینی، ن.، ۱۳۸۱. گیاه درمانی، درمان بیماریها توسط گیاهان (ترجمه). چاپ اول، نشر چوگان، ۲۷۰ صفحه.
- امین، غ.ر.، ۱۳۷۷. گیاهان دارویی سنتی ایران. جلد اول، چاپ فرهنگ، ۲۳۰ صفحه.

Immunosuppressive effects survey of *Lavandula spica* L. extract on Cutaneous Leishmaniasis in BALB/c Mice

A. Fattahi Bafghi¹, A. Mahmoodzadeh Pournaki² and S.H. Hejazian³

1*- Corresponding author, Parasitology & Mycology Department, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran, E-mail: afbafghi@ssu.ac.ir

2- Baghiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Parasitology & Mycology Department, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran

Received: May 2008

Revised: April 2009

Accepted: July 2009

Abstract

Different kinds of *Lavandula* species have been used traditionally throughout history. *Lavandula* extract (fragment oils of its flowers) is used in blood clotting treatment, neurological diseases and rheumatoid. In this research, the effects of suppress the immunosystem of the BALB/c mice, which were infected by cutaneous leishmaniasis, were studied. Sufficient twigs of Lavender flowers were minced and put in ethanol 80%. They were placed into the stirrer with magnets in room temperature for 24 hours, then separated. This compound was, first, sterilized and prepared as topica with concentration of 40, 60 and 80%. It was refrigerated until used. In the lab, 40 BALB/c mice were infected with the parasite *Leishmania* (L) major [MRHO/IR/75/ER]. They were divided into four control groups and a group that received 40, 60, and 80% concentration of the *Lavandula* extract. As soon as the leishmania lesion appeared, *Lavandula* extract was applied every two days. As well, the foot and size of the lesion were measured, the weight was also taken in all mice in the four groups by using ale and *coliss* (Mettler, Switzerland) every week. The mean of the measurement and weight of the mice that were received 40 and 60% of the *Lavandula* extract showed significant difference comparing with the mean of the weight of the mice in control group, but the mean of weight in the mice received 80% of the *Lavandula* extract did not show significant difference with the weight of mice in control group ($P > 0.05$). The mean of lesion size of the mice that received 40 & 60 of *Lavandula* extract showed significant difference with the lesion size in controls groups ($P = 0.000$), but the lesion size of the mice receiving 80 of the *Lavandula* extract did not show significant difference with those mice in control groups ($P > 0.05$). Using of the *Lavandula* extract, the process of weight decrease of the animal increase, and as much as the concentration of the *Lavandula* extract increase, the weight of the animal decrease. However, increasing the concentration more than 80%, showed no remarkable increase in weight of the animal. Totaly, in comparing to control group, the process of mortality was increased with weight decreasing and lesion size increasing, in mice receiving *Lavandula* extract. In addition, the death of the mice receiving *Lavandula* extract was more than the mice in control groups and their lesion size was wider with severe necrosis.

Key words: *Lvandula* extract, cutaneous Leishmaniasis, immunosuppressive effect, BALB/c Mice.