فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۹، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۲٤٦-۲۳۷ (۱۳۹۲)

بررسی تأثیر عصاره آبی دو گیاه *Artemisia sieberi* Besser و *Scrophularia striata* Boiss. بر رشد لیشمانیا ماژور در شرایط *In vitro*

عبدالحسین دلیمی[1*]، محسن اربابی[2] و راضی ناصری‌فر[2]

۱*- نویسنده مسئول، استاد، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، پست الکترونیک: dalimi_a@modares.ac.ir
۲- دانشجوی دکتری، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۹ تاریخ اصلاح نهایی: آذر ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۰

چکیده

لیشمانیازیس جلدی یک بیماری عفونی آندمیک و از معضلات مهم بهداشتی در بسیاری از کشورها ازجمله ایران می‌باشد. به‌دلیل عدم وجود واکسن مؤثر بروز بیماری در اکثر نقاط دنیا رو به افزایش است. استفاده از ترکیب‌های آنتی‌موان پنج ظرفیتی به‌عنوان داروهای خط اول درمان، همراه با محدودیت‌ها و عوارض جانبی متعددی می‌باشد. از این رو نیاز به ساخت داروهای جدید ارزان، قابل دسترس و با عوارض کم جهت جایگزینی ترکیب‌های شیمیایی موجود کاملاً احساس می‌گردد. داروهای با منشأ گیاهی می‌تواند به مرور جایگزین مناسبی باشد. به همین منظور در پژوهش حاضر، تأثیر دو گیاه بومی درمنه *Artemisia sieberi* Besser و تشنه‌داری *Scrophularia striata* Boiss. بر رشد لیشمانیا ماژور در شرایط *In vitro* مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه درمنه و تشنه‌داری در شرایط *In vitro* روی رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در داخل پلیت و رشد آماستیگوت‌ها در ماکروفاژها مورد بررسی قرار گرفت. طبق یافته‌های این بررسی، پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در محیط کشت RPMI تحت تأثیر غلظت‌های ۲۰٪ و ۲۵٪ درمنه، در همان روز اول به‌طور کامل از بین رفتند. در حالی‌که تشنه‌داری در غلظت ۲۵٪ و در روز سوم باعث مرگ انگل گردید. کاهش رشد انگل در محیط کشت RPMI تحت تأثیر درمنه در هر ۳ غلظت به‌طور معنی‌داری بیشتر از تشنه‌داری بود. غلظت‌های ۲۰٪ درمنه در روز دوم و غلظت ۲۵٪ تشنه‌داری در روز سوم باعث از بین بردن کامل آماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور درون ماکروفاژ گردید.

واژهای کلیدی: عصاره آبی، تشنه‌داری (*Scrophularia striata* Boiss.)، درمنه (*Artemisia sieberi* Besser)، لیشمانیا ماژور.

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماریها سابقه طولانی دارد. گرچه قسمت عمده داروهای رایج منشأ شیمیایی دارند، اما برآورد شده‌است که حدود یک سوم کلیه فرآورده‌های دارویی منشأ گیاهی داشته و یا پس از استخراج از گیاهان تغییر شکل یافته‌اند (http://www.who.int/tdr/disease/leish).

در همین راستا، با توجه به تنوع آب و هوایی و در نتیجه فلور گیاهی بسیار متنوع در ایران، امکان شناسایی مواد مؤثره گیاهی در گیاهان مختلف بومی کشور و

Archive of SID

www.SID.ir

استخراج آنها به‌منظور تولید این مواد به مقدار زیاد و در سطح صنعتی وجود دارد. این کار به‌ویژه در مورد گیاهانی که منحصراً زیستگاه آنها در ایران است و تاکنون کمتر مورد بررسی قرار گرفته‌اند، اهمیت ویژه‌ای دارد (رزمجو و همکاران، ۱۳۷۸).

بیماریهای انگلی در زمره شناخته‌شده‌ترین بیماریهایی هستند که همواره گریبانگیر انسان بوده و تلاش‌های زیادی برای شناخت عوامل ایجادکننده، درمان و کنترل آنها صورت گرفته‌است. یکی از بیماریهای مهم انگلی لیشمانیوز است که امروزه گستره آن در حال پیشرفت می‌باشد.

از طرفی مقابله با پدیده مقاومت دارویی دارای اهمیت فراوانی است. شاید داروهای گیاهی بتوانند در کاهش مقاومت به داروهای شیمیایی نقش قابل توجهی ایفا نمایند، به‌طوری که این امر مورد توجه سازمان جهانی بهداشت نیز قرار گرفته است (رزمجو و همکاران، ۱۳۷۸).

گیاه گل میمونی (*Scophularia striata*) با نام محلی تشنه‌داری از تیره *Scophulariaceae* است که اکثراً علفی یا بوته‌ای و بندرت درختی است. گل‌های پنج پر زیگومورف جام گل معمولاً به‌صورت کپسول دارای دانه‌های متعدد می‌باشد، از سرشاخه‌های این گیاه به‌عنوان مقوی معده استفاده می‌شود (Azadbakht, 2000).

درمنه نمونه‌ای از گیاهان بیابانیست که در ایران، فلسطین، سوریه، عراق، ترکیه، افغانستان و آسیای مرکزی می‌روید (Negahban *et al*., 2007). درمنه (*Artemisia*) مهمترین جنس تیره کاسنی است که شامل حدود ٤٠٠ گونه در دنیا می‌باشد. گونه‌های این جنس به لحاظ داشتن خواص دارویی با اهمیت هستند. در ایران حدود ٣٤ گونه از این جنس وجود دارد. گیاهی یکساله یا چندساله از تیره کاسنی یا همان تیره گل آفتابگردان است. به گیاه *Artemisia sieberi* در قدیم *Herba alba* گفته می‌شد (کلمه Herb به معنای گیاه یا علف و کلمه alba به معنای سفید رنگ است). به این گیاه درمنه دشتی می‌گویند. درمنه دشتی به گویش بیابان‌نشینان «ترخ» شهرت دارد. این گیاه بوی بخصوصی دارد و حدوداً سه چهارم از پوشش گیاهی فلات ایران از دامنه‌های البرز تا دشت‌های جنوبی ایران را فرا گرفته‌است. این گیاه بوته‌ای بسیار معطر، عنصر اصلی و غالب اجتماعات گیاهی در استپ‌های خشک و نیمه‌خشک کشور محسوب می‌شود. ارتفاع این بوته بین ۳۰ تا ۵۰ سانتی‌متر، دارای انشعابات متعدد و متراکم و به شکل کپه‌ای می‌باشد (امین، ۱۳۷۰).

به‌نظر می‌رسد که این گیاه دارای مواد مؤثر علیه لیشمانیا است. اثر ضدانگلی این دارو به علت داشتن خاصیت آلکالوئیدی (بربرین) در درمان عفونت کرم‌های گرد و همچنین بیماری مالاریا و اثر ضدقارچی قابل‌توجه آن به اثبات رسیده‌است (Price *et al*., 1999؛ Giao *et al*., 2001). در بررسی مشابهی که در مراکش صورت گرفته، اثر لیشمانیاکُشی این گیاه در غلظت ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر در پایه روغنی بر روی لیشمانیا ماژور (عامل سالک روستایی) و لیشمانیا تروپیکا (عامل سالک شهری) بسیار عالی گزارش شده‌است (Hatimi *et al*., 2001).

با توجه به اهمیت درمان بیماری سالک در کشور ما و نیز عدم پاسخگویی کافی درمانهای موجود و ضرورت دستیابی به یک روش درمانی ساده و مؤثر که به‌صورت موضعی نیز قابل استفاده باشد، این پژوهش با هدف تعیین اثربخشی دو گیاه درمنه (*Artemisia sieberi*) و تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) بر رشد لیشمانیا ماژور در

Archive of SID

www.SID.ir

شرایط *In vitro* و نیز در داخل ماکروفاژهای صفاقی موش به‌منظور بررسی (IC50) دارویی گیاهی انجام شد.

مواد و روشها

این مطالعه به‌صورت تجربی در دانشکده علوم‌پزشکی دانشگاه تربیت مدرس در سال ۸۹-۱۳۸۸ انجام گردید.

تهیه کشت انگل لیشمانیا ماژور

سویه استاندارد لیشمانیا ماژور (MRHO/IR/75/ER) از دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه تهران تهیه و نسبت به کشت آن اقدام گردید. روش کشت مناسب در این تحقیق استفاده از محیط کشت (RPMI-1640) بوده‌است. استفاده از محیط‌های مایع به‌همراه ۱۰ تا ۳۰ درصد سرم گوساله (FCS) باعث ایجاد شرایط بسیار مطلوب برای تکثیر زیاد پروماستیگوت‌های لیشمانیا می‌گردد (De Carvalho & Ferreira, 2001).

تهیه عصاره آبی تشنه‌داری (*Scophularia Striata*) و درمنه (*Artemisia sieberi*)

این گیاهان از دامنه کوه‌های زاگرس جمع‌آوری شدند، پس از تمیز کردن اندام هوایی همراه با ریشه آن را در سایه خشک نموده و توسط آسیاب آن را پودر کرده و در شرایط مناسب و بهینه نگهداری گردید و پس از ارسال به شرکت باریج اسانس کاشان عصاره آبی خالص این گیاه تهیه گردید. برای تهیه عصاره آبی به‌ازای هر گرم پودر، حدود ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون بشر ریخته و پس از جوش آمدن آب مقطر به آن پودر گیاه را اضافه نموده و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده می‌شود، سپس مایع بدست‌آمده توسط قیف بوخنار و با استفاده از کاغذ صاف معمولی صاف گردید. سپس عصاره صاف شده به دستگاه حذف حلال منتقل و تا حدود ۸۰٪ آب عصاره حذف گردید، آن‌گاه بقیه آن در حمام آب گرم در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تحت عمل حذف قرار گرفت. عصاره آبی (با بازده ۱۵٪) پس از فیلترایسون در غلظت‌های مختلف تهیه شد تا مورد استفاده قرار گرفت (رزمجو و همکاران، ۱۳۷۸).

تهیه سریال رقت دارو جهت بررسی *In vitro*

پس از تهیه کشت لیشمانیا و انجام شمارش انگلی با استفاده از لام نئوبار، تعداد ۲۰×۱۰^{۶} انگل در یک میلی‌لیتر تعیین گردید. سپس با استفاده از محیط (RPMI) نسبت به تهیه غلظت‌های مختلف داروهای تشنه‌داری و درمنه (غلظت‌های ۱٪ (1ml/100ml)، ۵٪، ۱۰٪، ۲۰٪ و ۲۵٪) اقدام شد. پلیت‌ها پس از آماده شدن در ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند و پس از ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت با استفاده از لام نئوبار تعداد انگل موجود در یک میلی‌لیتر محیط کشت شمارش شد و با شاهد مورد مقایسه قرار گرفت. نمونه‌های شاهد فقط حاوی محیط RPMI و بدون دارو بودند.

استخراج ماکروفاژ صفاقی و بررسی (IC50) دارو

به‌منظور بررسی (IC50) دارو، از ماکروفاژ موش (Balb/c) استفاده گردید. پس از انتخاب موش آن را وارد ظرف شیشه‌ای حاوی اتر نموده و بعد وارد الکل ۷۰٪ نموده تا غوطه‌ور شود، سپس آن را خشک و در زیر هود فیکس نموده و با تجویز ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک استریل به داخل پریتوان و زدن چند ضربه دوباره آن را کشیده تا ماکروفاژهای سرم موش خارج شوند. یک قطره از محلول حاوی ماکروفاژ روی لام قرار داده و با عدسی

Archive of SID

www.SID.ir

٤۰ بررسی می‌نمایند تا تعداد ماکروفاژها مشخص گردد. باید به‌ازای هر ماکروفاژ حدود ۱۰ انگل محاسبه شود تا داخل ماکروفاژ قرار گیرد، برای این منظور باید حدود یک میلیون انگل در مجاورت ماکروفاژ قرار گیرد. این مخلوط در انکوباتور ۳۷ درجه و فشار ۵٪ CO_2 به‌مدت یک شبانه‌روز قرار داده می‌شود تا فرصتی برای ورود انگل به ماکروفاژ فراهم گردد. ظرف حاوی RPMI را خالی نموده و با آب مقطر استریل شستشو داده و بعد با RPMI حاوی FCS وارد فلاکس نموده و روی ظرف یخ قرار داده تا ماکروفاژهای حاوی انگل کنده شود. حدود ۱۰۰ میکرولیتر ماکروفاژهای حاوی انگل محلول در RPMI را به هر یک از حفره‌های پلیت کشت سلولی اضافه نموده و غلظت‌های مختلف داروی تشنه‌داری را در رقت‌های ۱۰٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ وارد حفره‌ها نموده و آن‌را با شاهد مقایسه می‌نمایند. سپس در روزهای اول، دوم و سوم باید از ماکروفاژ و انگل متأثر از غلظت‌های مختلف دارو لام تهیه و آن را با متانول فیکس نمود و پس از رنگ‌آمیزی با روش گیمسا نسبت به شمارش تعداد انگل در ۱۰۰ ماکروفاژ اقدام تا IC50 دارو بدست آید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات و مقایسه بین گروه‌ها از روش مربع کای به کمک بسته نرم‌افزاری SPSS ver 13 استفاده شد.

نتایج

در این مطالعه غلظت‌های ۱۰٪، ۲۰٪ و ۲۵٪ عصاره آبی دو داروی گیاهی درمنه و تشنه‌داری روی تعداد آماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور درون ماکروفاژهای صفاق موش در محیط RPMI و غلظت‌های ۱٪، ۵٪، ۱۰٪، ۲۰٪ و ۲۵٪ عصاره آبی گیاهان مذکور بر رشد پروماستیگوت‌های کشت داده شده در محیط RPMI در سه روز متوالی مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته‌ها نشان داد که غلظت ۲۵٪ درمنه در کاهش درصد ماکروفاژهای آلوده به آماستیگوت و یا محو کامل آنها نسبت به سایر غلظت‌ها مؤثرتر بوده‌است (P= 0.001). علاوه‌بر این در مقایسه با تشنه‌داری اثربخشی بیشتری دارد (جدول ۱).

مقایسه درصد ماکروفاژهای آلوده به آماستیگوت در محیط‌های کشت تحت تأثیر غلظت‌های سه‌گانه تشنه‌داری و به تفکیک روزهای آزمایش نشان داد که غلظت ۲۵٪ درکاهش و یا محو کامل آماستیگوت‌های آلوده به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر غلظت‌ها از تأثیر بیشتری برخوردار می‌باشد (P = 0.001) (جدول ۲).

در جدولهای ٤ و ۳ تأثیر عصاره آبی غلظت‌های مختلف دو داروی تشنه‌داری و درمنه طی سه روز متوالی بر رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در محیط کشت RPMI به‌طور کلی با یکدیگر مقایسه شده‌است. مقایسه غلظت‌های ۱٪، ۵٪، ۱۰٪، ۲۰٪ و ۲۵٪ عصاره آبی دو داروی درمنه و تشنه‌داری بر میزان رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در داخل پلیت نشان داد که غلظت ۱٪ درمنه در روزهای دوم و سوم باعث کشته شدن کامل پروماستیگوت‌ها گردید. در روز اول درمنه نسبت به تشنه‌داری به‌طور معنی‌داری سبب کاهش رشد انگل گردید (P = 0.001) (جدولهای ٤ و ۳). با افزایش زمان آزمایش اثر تشنه‌داری در کاهش رشد انگل قابل‌توجه بوده‌است. در غلظت ۵٪ کاهش رشد پروماستگوت‌ها در محیط تحت تأثیر درمنه محسوس‌تر از

Archive of SID

www.SID.ir

غلظت ۱٪ می‌باشد. در مورد تشنه‌داری نیز با افزایش زمان رشد انگل به‌طور معنی‌داری کاهش داشته ($P = 0.001$) که نسبت به غلظت ۱٪ بیشتر است (جدولهای ٤ و ۳). در غلظت ۱۰٪ هر دو داروی درمنه و تشنه‌داری در کاهش و یا حذف کامل انگل نسبت به غلظت ۵٪ مؤثرتر بوده‌اند ($P = 0.001$) (جدولهای ٤ و ۳).

در غلظت ۲۰٪ درمنه به‌طور کامل باعث نابودی انگل گردید و تشنه‌داری نیز به‌طور معنی‌داری باعث کاهش رشد پروماستیگوت‌ها شد ($P = 0.001$) (جدول ۳). بنابراین درمنه در غلظت ۲۰٪ بهترین تأثیر را دارا می‌باشد.

در غلظت ۲۵٪ تشنه‌داری در روز سوم باعث مرگ کلیه پروماستیگوت‌ها شد و در روزهای اول و دوم نیز به‌طور کاملاً معنی‌داری باعث کاهش رشد انگل شد ($P= 0.001$) (جدول ٤). بدین ترتیب می‌توان گفت تشنه‌داری در غلظت ۲۵٪ بیشترین اثربخشی را داشته‌است.

جدول ۱- مقایسه درصد ماکروفاژهای آلوده به آماستیگوت لیشمانیا ماژور با استفاده از غلظت‌های مختلف داروی درمنه در محیط کشت RPMI

گروه‌ها	درصد ماکروفاژهای آلوده پس از			P.value بین گروه‌ها
	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	
محیط کشت حاوی ۱۰٪ داروی درمنه	٪۲۷	٪۱	۰	P=0.001
محیط کشت حاوی ۲۰٪ داروی درمنه	٪۲۱	۰	۰	
محیط کشت حاوی ۲۵٪ داروی درمنه	٪۱۵	۰	۰	
محیط کشت بدون دارو	٪۸٦	٪۷۷	٪۳۵	

جدول ۲- مقایسه درصد ماکروفاژهای آلوده به آماستیگوت لیشمانیا ماژور با استفاده از غلظت‌های مختلف داروی تشنه‌داری در محیط کشت RPMI

گروه‌ها	درصد ماکروفاژهای آلوده پس از			P.value بین گروه‌ها
	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	
محیط کشت حاوی ۱۰٪ داروی تشنه‌داری	٪۵۱	٪۷	٪۳	P=0.001
محیط کشت حاوی ۲۰٪ داروی تشنه‌داری	٪٤۳	٪۵	۰	
محیط کشت حاوی ۲۵٪ داروی تشنه‌داری	٪٤۰	٪٤	۰	
محیط کشت بدون دارو	٪۸٦	٪۷۷	٪۳۵	

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- مقایسه رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در غلظت‌های مختلف داروی درمنه در محیط کشت (RPMI) در زمان‌های مختلف

گروه‌ها	خطای استاندارد ± میانگین تعداد پروماستیگوت پس از			P.value بین گروه‌ها
	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	
محیط کشت حاوی ۱٪ داروی درمنه	۱/۷ ± ۱	۰	۰	P=0.001
محیط کشت حاوی ۵٪ داروی درمنه	۱/۱ ± ۰/٦	۰	۰	
محیط کشت حاوی ۱۰٪ داروی درمنه	۰/۵۸ ± ۰/۳۳	۰	۰	
محیط کشت حاوی ۲۰٪ داروی درمنه	۰	۰	۰	
محیط کشت حاوی ۲۵٪ داروی درمنه	۰	۰	۰	
محیط کشت بدون دارو	۵۳۰ ± ۱۵	۵۵۰ ± ۱٦/۵	۷۷۸ ± ۱۹	

جدول ٤- مقایسه رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در غلظت‌های مختلف داروی تشنه‌داری در محیط کشت (RPMI) در زمان‌های مختلف

گروه‌ها	خطای استاندارد ± میانگین تعداد پروماستیگوت پس از			P.value بین گروه‌ها
	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	
محیط کشت حاوی ۱٪ داروی تشنه‌داری	۳۸±۲	۳٤/۳ ± ٤	۲۸/۳ ± ۳/۵	P=0.001
محیط کشت حاوی ۵٪ داروی تشنه‌داری	۱٦/۲±۲	۱۵ ± ۱	٦/۷ ± ۱/۵	
محیط کشت حاوی ۱۰٪ داروی تشنه‌داری	۱۲±۱	۸/۳ ± ٦/٤	٤ ± ۱	
محیط کشت حاوی ۲۰٪ داروی تشنه‌داری	۹±۱	٦/۳ ± ۱/۵	۱ ± ۱	
محیط کشت حاوی ۲۵٪ داروی تشنه‌داری	۱±۱	۱ ± ۱	۰	
محیط کشت بدون دارو	۵۳۰±۱۵	۵۵۰ ± ۱٦/۵	۷۷۸ ± ۱۹	

بحث

معمولاً در درمان انگل‌های تک‌یاخته‌ای ازجمله لیشمانیوز داروهای ضدانگلی مؤثر و ارزان در دسترس نمی‌باشد (Rocha *et al.*, 2005). ترکیب‌های پنج ظرفیتی آنتی‌موان خط اول و آمفوتریسین B داروهای جایگزین در درمان لیشمانیازیس در اغلب کشورها ازجمله ایران می‌باشند (Rocha *et al.*, 2005؛ Mohebali *et al.*, 2009). تجویز این داروها از راه خوراکی فاقد فعالیت درمانی مؤثر می‌باشند. به‌طوری که لازم است به مدت طولانی مصرف شوند. علاوه بر موارد مرگ و میر اثرهای جانبی این ترکیب‌ها عبارت است از: تهوع، استفراغ، دردهای شکمی، اسهال، سرفه، واکنش‌های پوستی مثل کهیر، اریتم، تشنج، برادی کاردی، التهاب و دردهای عضلانی (Bas *et al.*, 2007؛ Fernández *et al.*, 1996). علاوه بر اثرهای جانبی

Archive of SID

www.SID.ir

ذکر شده، این داروها جزء داروهای گران‌قیمت محسوب می‌شوند. ضمن این‌که مقاومت انگل به این ترکیب‌ها یک مشکل جدی به حساب می‌آید و از همین روست که استفاده از داروهای جدید موضوع کاملاً ضروری می‌باشد. بنابراین به‌منظور مقابله با پدیده مقاومت دارویی و کاهش عوارض جانبی و ارائه یک ترکیب شیمیایی مؤثر ارزان، داروهای با منشأ گیاهی که در تمامی نقاط کشور پراکندگی دارند، می‌توانند گزینه مناسبی باشند.

با توجه به سابقه تاریخی تولید و مصرف گیاهان دارویی در کشور، مطالعات زیادی در مورد اثربخشی عصاره ترکیب‌های گیاهی روی لیشمانیوز صورت گرفته‌است. این مطالعات تأثیر عصاره گیاهان مختلف را بر توقف و کاهش رشد انگل نشان می‌دهد (محبعلی و همکاران، ۱۳۷۸؛ کاظمی، ۱۳۸۵؛ طالاری و همکاران، ۱۳۷٦؛ Sharif *et al*., 2006). همچنین در بررسی انجام شده در مراکش اثربخشی درمنه (*A. herba-alba*) بر لیشمانیا در *in vitro* به اثبات رسیده‌است. در این مطالعه اثر ضدلیشمانیایی این گیاه در غلظت ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر در پایه روغنی بر روی لیشمانیا ماژور (عامل سالک روستایی) و لیشمانیا تروپیکا (عامل سالک شهری) بسیار عالی گزارش شده‌است و عصاره آبی آن در غلظت ٤ میکروگرم در میلی‌لیتر فعالیت لیشمانیاکُشی نشان داده‌است (Hatimi *et al*., 2001).

اثر درمنه (آرتیمیزیا سیبریا) روی لیشمانیا ماژور ممکن است به‌واسطه ترکیب‌های شیمیایی موجود در آن ازجمله آلفا و بتا-توژون، متیل‌سیکلوپنتان کربوکسیلیک‌اسید و کامفور باشد. این ترکیب‌ها فعالیت ضدمیکربی، ضدویروسی و ضدانگلی دارند و از همین روست که به‌عنوان ضدانگل‌های گوارشی مصرف سنتی دارد.

همچنین این گیاه دارای خواص حشره‌کشی تدخینی بوده و اثر آن بر روی آفات انباری *Callosobruchus maculatus*، *Sitophilus oryzae* و *Tribolium castaneum* نتایج خوبی داشته‌است (Negahban *et al*., 2007). به نظر بوی تند اسانس این دارو در از بین بردن انگل نقش مهمی داشته باشد.

در مطالعه Moaddeb و همکاران (۲۰۰۵) اثر ضدلیشمانیایی عصاره صاف شده ریشه گیاه شیرین‌بیان (*Persian licorice*) در شرایط آزمایشگاه بر روی پروماستیگوت‌های لیشمانیا گزارش شده‌است.

علاوه‌بر این گیاه گل‌میمونی از ویژگی‌های ضدباکتریال در شرایط *in vitro* روی ایشریشاکلی، پسودوموناس آئورژینوزا و استافیلوکوک اورئوس برخوردار است (شرافتی و همکاران، ۱۳۸۷). تحقیقات بیشتر در مورد اثر ضدانگلی عصاره‌ی آبی این گیاه در شرایط *in vitro* کاملاً ضروریست. طبق بررسی‌های انجام شده سایر گونه‌های اسکوفولاریا، به دلیل داشتن ترکیب‌های گلیکوزیدی ایریلوئیدی در قسمت‌های مختلف و مهار تولید پروستاگلاندین (E2) و انترلوکین‌های مختلف (IL1a، IL2، IL4) با فاکتور TNF و INF-γ، باعث کاهش ادم و ارتشاح سلولی و کاهش تکثیر لنفوسیت‌های T می‌شود (Bas *et al*., 2007؛ Stevenson *et al*., 2002؛ Giner *et al*., 2000؛ Díaz *et al*., 2004؛ Fernández *et al*., 1996؛ Bas *et al*., 2007). علاوه‌بر آن افزایش رشد فیبروپلاست‌ها زمینه را برای ترشح بیشتر کلاژن و در نتیجه ترمیم سریع‌تر زخم فراهم می‌نماید (Stevenson *et al*., 2002).

در ضمن وجود گلیکوترپنوئیدهای مختلف در دیگر گونه‌های اسکروفولاریا باعث کاهش ادم و توقف ارتشاح

Archive of SID

www.SID.ir

سلولی شده و خاصیت ضدالتهابی نیز دارد (Giner *et al.*, 2000). گلیکوزیدهای فنیل‌پروپانوئید مهارکننده فعالیت ماکروفاژها و در نتیجه مهار تولید واسطه‌های شیمیایی التهابی و در نهایت موجب کاهش التهاب می‌شود (Díaz *et al.*, 2004). وجود اسیدهای‌فنولیک با خاصیت ضدباکتریال در برخی گونه‌ها دلیل دیگری بر تأثیر گیاه در التیام زخم‌های پوستی می‌باشد (Fernández *et al.*, 1996).

با این حال تحقیقات در مورد این گیاه هنوز در مراحل ابتدایی بوده و با توجه به مصرف گسترده آن در منطقه غرب کشور که زیستگاه طبیعی آن است، توصیه می‌شود که مطالعات کاملتری روی اجزای گیاه و اثر ضدانگلی آن در طیف وسیع انجام شود، زیرا مطالعه‌ی اثربخشی ضدلیشمانیایی تشنه‌داری تاکنون صورت نگرفته بود و مطالعه حاضر اولین مطالعه بشمار می‌آید.

به‌طور کلی نتایج نشان داد که داروی گیاهی درمنه در غلظت ۲۰٪ از همان روز اول مصرف دارای اثر ضدلیشمانیایی است، ولی تشنه‌داری در غلظت ۲۵٪ از روز سوم باعث نابودی کامل انگل‌ها می‌گردد.

بر همین اساس نتایج پژوهش حاضر فعالیت فارماکولوژیک جدیدی علیه لیشمانیا ماژور مطرح می‌نماید و پیشنهاد می‌شود که عصاره آبی گیاه درمنه در درمان زخم‌ها به‌ویژه زخم سالک مورد استفاده قرار گیرد. سنتز آزمایشگاهی و اصلاح ترکیب شیمیایی عصاره آبی این داروها مزایای زیادی برای توسعه کاربرد داروهای ضدلیشمانیایی جدید خواهد داشت. ضمناً پیشنهاد می‌شود که مطالعات *in vivo* روی حیوانات حساس آزمایشگاهی با استفاده از غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۵٪ داروهای درمنه و تشنه‌داری انجام شود و اثرهای این دو با هم مقایسه شود. البته انجام مطالعات بالینی در خصوص نمونه‌های انسانی نیز با رعایت اصول اخلاق پزشکی توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان برخود لازم می‌دانند تا از مسئولان شرکت باریج اسانس به دلیل تهیه عصاره خالص گیاهان و گروه انگل‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس که امکان اجرای این تحقیق را فراهم نمودند، تشکر و قدردانی نمایند.

منابع مورد استفاده

- امین، غ.ر.، ۱۳۷۰. متداول‌ترین گیاهان دارویی و سنتی ایران. مؤسسه پژوهشهای گیاهان دارویی علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۳ صفحه.
- رزمجو، ا.، زواران حسیتی، ا. و دلیمی‌اصل، ع.، ۱۳۷۸. مطالعه اثر افزودن آرژنین و سیترولین *In vivo* و *In vitro* بر مهار تکثیر انگل لیشمانیا ماژور (L. major) در موش BALB/c. پزشکی کوثر، ٤(٤): ۲٦۹-۲۵۹.
- شرافتی چالشتری، ف.، شرافتی چالشتری ر. و مومنی م.، ۱۳۸۷. اثر ضدمیکربی عصاره آبی و اتانولی گیاه اسکوفولاریا استریاتا بر E. coli در شرایط آزمایشگاهی. ویژه‌نامه طب تکمیلی، ۱۰(٤): ۳۷-۳۲.
- طالاری، ص.ع.، هوشیار، ح. و سیاح، م.، ۱۳۷٦. بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف گیاه هیدراهلیکس و آمپول گلوکانتیم بر پروماستیگوت‌های عامل لیشمانیوز جلدی به روش *in vivo* در کاشان، سال ۱۳۷۳. دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۲۱(۳): ٥٤-٤٦.
- کاظمی، ا. ۱۳۸۵.بررسی تأثیر عصاره الکلی گیاه زرشک بر زخم ناشی از لیشمانیا ماژور در موش Balb/c. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه علوم پزشکی کاشان.
- محبعلی، م.، چناری، ا. و نظری، م.ر.، ۱۳۷۸. تأثیر گیاه دارویی فلوس (*Cassia fistula*) بر روی زخم‌های حاصل از لیشمانیا ماژور در موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی. پژوهنده، ٤(۱): ۱٤-۹.

Archive of SID
www.SID.ir

- Azadbakht, M., 2000. Classification of Medical Plants. Teimorzadeh Publication, Tehran, 420p.
- Bas, E., Recio, M.C., Abdallah, M., Máñez, S., Giner, R.M., Cerdá-Nicolás, M. and Ríos, J.L., 2007. Inhibition of the pro-inflammatory mediators' production and anti-inflammatory effect of the iridoid scrovalentinoside. Journal of Ethnopharmacology, 110(3): 419-427.
- Bas, E., Recio, M.C., Giner, R.M., Máñez, J.M., Escandell, S., López-Ginés, C. and Ríos, J.L., 2007. New insight into the inhibition of the inflammatory response to experimental delayed-type hypersensitivity reactions in mice by scropolioside A. European journal of pharmacology, 555(2-3): 199-210.
- De Carvalho, P.B. and Ferreira, E.L., 2001. Leishmaniasis phytotherapy. Nature's leadership against an ancient disease. Fitoterapia, 72(6): 599-618.
- Díaz, A.M., Abad, M.J., Fernández, L., Silván, A.M., De Santos, J. and Bermejo, P., 2004. Phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia scorodonia*: *In vitro* anti-inflammatory activity. Life science, 74(20): 2515-2526.
- Fernández, M.A., García, M.D. and Sáenz, M.T., 1996. Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of *Scrophularia frutescens* and *Scrophularia sambucifolia*. Journal of Ethnopharmacology, 53: 11-14.
- Giao, P.T., Binh, T.Q., Kager, P.A., Long, H.P., Van Thang, N., Van Nam, N. and de Vries, P.J., 2001. Artemisinin for treatment of uncomplicated falciparum malaria: is there a place for monotherapy. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 65(6): 690-695.
- Giner, R.M., Villalba, M.L., Recio, M.C., Máñez, S., Cerdá-Nicolás, M. and Ríos, J.L., 2000. Anti inflammatory glycoterpenoids from *Scrophularia auriculata*. European Journal of Pharmacology, 389(2-3): 243-252.
- Hatimi, S., Boudouma, M., Bichichi, M., Chaib, N. and Guessous Idrissi, G., 2001. Evaluation *in vitro* de l'activité antileishmanienne *d'Artemisia herbaalba* Asso. Bulletin de la Société de Pathologie exotique, 94: 29-31.
- Moaddeb, A., Ardehali, S. and Panjehshahin, M.R., 2005. *In vitro* growth inhibition of Leishmania promastigotes by *Persian licorice* root extract. Third World Congress on Leishmaniosis. Palermo-Terrasini Sicily, Italy, 10-15 April: 172.
- Mohebali, M., Rezayat, M.M., Gilani, K., Sarkar, S., Akhoundi, B., Esmaeili, J., Satvat, T., Elikaee, S., Charehdar, S. and Hooshyar, H., 2009. Nanosilver in the treatment of localized cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER): an *in vitro* and *in vivo* study. Daru, 17(4): 285-289.
- Negahban, M., Moharramipour, S. and Sefidkon, F., 2007. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 43(2):123-128.
- Price, R., van Vugt, M., Phaipun, L., Luxemburger, C., Simpson, J., McGready, R., Ter Kuile, F., Kham, A., Chongsuphajaisiddhi, T., White, N.J. and Nosten, F., 1999. Adverse effects in patients with acute falciparum malaria treated with *Artemisinin* derivatives. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 60(4): 547-555.
- Rocha, L.G., Almeida, J.R., Macedo, R.O. and Babosa-Filho, J.M.A., 2005. A review of natural products with antileishmanial activity. Phytomedicine, 12(6-7): 514-535.
- Sharif, M., Ziaei, H., Azadbakht, M., Daryani, A., Ebadattalab, A. and Ristami M., 2006. Effect of Methanolic Extracts of *Artemisia aucheri* and *Camellia sinensis* on *Leishmania major* (*In vitro*). Turkish Journal of Medical Sciences, 36(6): 365-369.
- Stevenson, P.C., Simmonds, M.S.J., Sampson, J., Houghton, P.J. and Grice, P., 2002. Wound healing activity of acylated iridoid glycosides from *Scrophularia nodosa*. Phytotherapy Research, 16(1): 33-35.

www.SID.ir

The effect of aqueous extraction of *Artemisia sieberi* Besser and *Scrophularia striat*a Boiss. on *Leishmania major* under *in vitro* conditions

A. Dalimi[1*], M. Arbabi[2] and R. Naserifar[2]

1*- Corresponding author, Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran E-mail: dalimi_a@modares.ac.ir
2- PHD Student, Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: October 2010 Revised: November 2011 Accepted: December 2011

Abstract

Cutaneous leishmaniasis is an endemic infectious disease known as a major health problem in many countries including Iran. Due to the lack of an effective vaccine, the disease is increasing in most parts of the world. Pentavalent antimony compounds as the first line drug against leishmaniasis has numerous side effects. Consequently, the need to introduce new, inexpensive and available drugs with fewer side effects to replace existing chemical compounds is fully felt. Herbal drugs could be a good alternative. In the present work, the effects of two native plants namely *Artemisia sieberi* Besser and *Scrophularia striata* Boiss. against *Leishmania major* were investigated under *in vitro* conditions. For this purpose, different concentrations of aqueous extracts of *Artemisia* and *Scrophularia* were investigated on the growth of promastigotes of *Leishmania* under *in vitro* conditions as well as growth of amastigote of *Leishmania* in mice macrophages. The results indicated that promastigotes in RPMI culture were killed completely under concentrations of 20% and 25% of *Artemisia* in the first day of the experiment; while the parasites were killed by *Scrophularia* at the concentration of 25% within three days. Reduction of the parasite growth in RPMI culture under three concentrations of *Artemisia* was significantly higher than that of *Scrophularia*. Concentrations of 20% of *Artemisia* in the second day and 25% of *Scrophularia* in the third day led to the complete elimination of amastigote of *L. major* in macrophages.

Key words: Aqueous extraction, *Scrophularia striat*a Boiss., *Artemisia sieberi* Besser, *Leishmania major*.

Archive of SID

www.SID.ir