اثر ضدتوکسوپلاسمایی عصاره‌های اتانولی گیاهان زنیان، افسنطین و غوزه پنبه در شرایط برون‌تنی

شقایق نوزری[۱]، عباس آزادمهر[۲]، محترم آدینه[۱]، فرزانه جوادی‌مرند[۱]، حسن جهانی‌هاشمی[۳]، مرجان نصیری‌اصل[۴]، رضا حاجی‌آقایی[۵]، مجتبی شهنازی[۶]، مهرزاد سرائی‌صحنه‌سرائی[۶،۷*]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
۲- استادیار ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۳- دانشیار، مرکز تحقیقات رشد و تکامل کودکان، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
۴- استاد فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
۵- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج، ایران
۶- دانشیار انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
۷- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
آدرس مکاتبه: قزوین، بلوار شهید باهنر، ساختمان علوم پایه، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
تلفن و نمابر: ۳۳۳۲۴۹۷۱ (۰۲۸)
پست الکترونیک: msaraei@qums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲۳ **تاریخ تصویب:** ۹۴/۹/۲

چکیده

مقدمه: تولید داروهای ضدتوکسوپلاسما با اثربخشی بالا و عوارض جانبی کم از اهداف مهم تحقیقاتی توکسوپلاسماست. یکی از گزینه‌ها، فراورده‌های گیاهی است.

هدف: این مطالعه به منظور تعیین اثر کشندگی عصاره‌های گیاهان افسنطین، زنیان و غوزه پنبه بر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما در شرایط برون تنی عاری از سلول انجام شد.

روش بررسی: تاکی زوئیت سویه **RH** توکسوپلاسما گوندی‌ای با غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره‌های افسنطین، زنیان و غوزه پنبه در مدت زمان‌های ۱۰، ۳۰ و ۴۵ دقیقه به طور جداگانه مجاورت و سپس با بلودومتیلن قلیایی رنگ‌آمیزی شدند. درصد کشندگی عصاره‌ها با تعیین نسبت تاکی زوئیت‌های مرده در مقایسه با کنترل تعیین شد. تمامی آزمایش‌ها به صورت سه‌گانه انجام شد. از روش زیست‌سنجی در موش برای تأیید ۱۰۰ درصد اثر کشندگی عصاره‌ها استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری **ANOVA** و آزمون تعقیبی توکی آنالیز شد.

نتایج: به طور کلی ۱۰۰ درصد تاکی زوئیت‌ها در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره افسنطین و ۲۰۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره زنیان در هر سه زمان ۱۰، ۳۰ و ۴۵ دقیقه کشته شدند. کمترین درصد کشندگی عصاره‌های افسنطین، زنیان و غوزه پنبه به ترتیب ۸/۴ ± ۱۹/۶، ۲/۲۶ ± ۴/۳۰ و ۲/۱ ± ۴/۶۳ درصد بود. به روش زیست‌سنجی در موش ۱۰۰ درصد کشندگی عصاره‌ها تأیید شد.

نتیجه‌گیری: هر سه عصاره اثر کشندگی بر تاکی زوئیت‌ها داشتند. این اثر برای افسنطین و زنیان از غوزه پنبه بیشتر بود. مطالعات بیشتر به منظور شناسایی ترکیبات مؤثره عصاره‌ها توصیه می‌شود.

گل‌واژگان: افسنطین، توکسوپلاسما گوندی‌ای، زنیان، عصاره گیاهی، غوزه پنبه

مقدمه

توکسوپلاسما گوندی‌ای تک یاخته داخل سلولی اجباری، عامل توکسوپلاسموز در انسان و حیوانات و انگلی با انتشار گسترده جهانی است. عفونت‌های اکتسابی به طور معمول با خوردن گوشت خام و نیم پز حاوی کیست‌های بافتی و یا خوردن سبزیجات و آب آلوده شده با اواوسیست‌ها دفع شده با مدفوع گربه سانان اتفاق می‌افتد. عفونت‌های مادرزادی توکسوپلاسما با انتقال از جفت تاکی زوئیت‌ها در عفونت‌های اولیه دوران بارداری روی می‌دهد. توکسوپلاسموز اکتسابی در افراد با کفایت عملکرد ایمنی (Immunocompetent) عمدتاً به صورت لنفادنوپاتی خوش‌خیم و خود محدود شونده بروز می‌کند و ندرتاً سبب تظاهرات شدید مغزی و چشمی می‌شود. در افراد با عملکرد ایمنی مختل شده (Immunocompromised) بویژه بیماران مبتلا به ایدز، توکسوپلاسموز فرصت طلب مهمی است و شایع‌ترین عامل آنسفالیت در این بیماران شناخته شده است. همچنین، توکسوپلاسموز از عفونت‌های مهم مادرزادی است که طیف بالینی گسترده‌ای دارد و از تولد نوزاد بدون علامت آشکار بالینی تا سقط، مرده‌زایی و تولد نوزادان با عوارض شدید مغزی و چشمی (هیدروسفالی یا میکروسفالی، کلسیفیکاسیون مغزی و کوریورتینیت) متفاوت است [۱].

درمان توکسوپلاسموز به طور رایج با ترکیب داروهای پریمتامین و سولفادیازین انجام می‌شود. پریمتامین مهارکننده آنزیم دی‌هیدروفولات ردوکتاز است که یک آنزیم کلیدی مسیر سنتز فولات است. سولفادیازین مهارکننده آنزیم دی‌هیدروپتیروات است که آنزیم دیگری در این مسیر می‌باشد. این داروها و سایر داروهای سنتتیک ضدتوکسوپلاسما علیرغم آنکه اثر مهارکنندگی خوبی بر روی توکسوپلاسما دارند، ولی اثرات جانبی محدودیت اصلی آنهاست. به طور مثال پریمتامین که داروی اصلی ضدتوکسوپلاسماست، بواسطه اثر سرکوب‌کنندگی مغز استخوان سبب اختلال در خون‌سازی می‌شود [۲].

دستیابی به داروی ضدتوکسوپلاسما با اثر بخشی مطلوب و با حداقل عوارض جانبی از اولویت‌های تحقیقاتی توکسوپلاسماست. فراورده‌های حاصل از گیاهان دارویی می‌تواند یکی از گزینه‌ها باشد. در طب سنتی به اثرات ضدانگلی برخی از گیاهان دارویی اشاره شده است [۳]. در سال‌های اخیر گرایش مطالعاتی روزافزونی در زمینه اثربخشی فراورده‌های گیاهان دارویی بر روی انواع بیماری‌ها از جمله بیماری‌های انگلی اتفاق افتاده است. مطالعات آزمایشگاهی و تجربی سال‌های اخیر نیز نشان داده است که برخی عصاره‌ها و فراکشن‌های گیاهی دارای اثرات ضدتک یاخته‌ای قابل توجهی می‌باشند. این مطالعات عمدتاً بر روی انگل‌های مالاریا [۴]، لیشمانیا [۵] و تریپانوزوما [۶] انجام شده است. مطالعات محدودی که در نقاط مختلف کره زمین در زمینه اثرات ضدتوکسوپلاسمایی عصاره‌ها و فراکشن‌های گیاهی انجام شده، اثر بخشی متفاوتی گزارش شده است [۱۷-۷]. علل احتمالی این تفاوت‌ها، می‌تواند به تفاوت در گونه و سویه گیاهان مورد مطالعه و شرایط اقلیمی رشد گیاه مربوط باشد. بنابراین، مطالعات اثر بخشی فراورده‌های گیاهان دارویی رشد یافته در اقلیم‌های مختلف امری ضروری است. علی‌رغم آنکه تنوع گیاهان دارویی ایران ایجاب می‌کند که مطالعات گسترده‌ای در زمینه اثرات ضدانگلی انواع گیاهان دارویی بومی ایران مطالعه شود، ولی مطالعات محدودی انجام شده است [۲۱-۱۸] و تنها یکی از مطالعات مربوط به توکسوپلاسماست که در آن اثر ضدتوکسوپلاسمایی عصاره سیر مورد مطالعه قرار گرفته است [۲۲]. بر این اساس در مطالعه حاضر اثر ضدتوکسوپلاسمایی سه عصاره اتانولی گیاهان بومی ایران شامل زنیان، افسنطین و غوزه پنبه در شرایط برون‌تنی عاری از سلول مورد ارزیابی قرار گرفت. زنیان با نام علمی *Carum copticum* L. گیاهی از خانواده چتریان است. گیاهی علفی بوته‌ای و یکساله است. قسمت مورد استفاده‌ای گیاه میوه آن است. این گیاه دارای اثرات ضداکسیدان، ضدتب، ضدآسم، ضداسپاسم، کاهش‌دهنده پر فشاری خون، مقوی معده و کرم‌کش است. افسنطین با نام علمی *Artemisia absinthium* L. گیاهی چند ساله و علفی و پایا از تیره کاسنی (مرکبان) است و معروف به worm wood می‌باشد. قسمت‌های مورد استفاده افسنطین، برگ و سرشاخه گلدار آن است. این گیاه به علت دارا بودن خواصی از جمله

تقویت قلب، تب‌بر، مدر، ضدعفونی و ضدکرم (اسکاریس لومبریکوئیدس و کرمک) از قدیم‌الایام در طب سنتی مورد استفاده می‌باشد. غوزه پنبه گیاهی با نام علمی *Gossypium hirsutum*، گیاهی علفی از خانواده Malvaceae است. از دانه این گیاه برای درمان اسهال، اسهال خونی، و خونریزی استفاده می‌شود [۳].

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره‌های گیاهی: گیاهان مورد مطالعه (شامل زنیان، افسنطین و غوزه پنبه) از فروشگاه گیاهان دارویی خریداری و توسط توسط متخصص گیاه‌شناسی در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج شناسایی شد. از هر گیاه یک نمونه در پژوهشکده ثبت و نگهداری شد. عصاره‌گیری تحت نظارت متخصص فارماکوگنوزی انجام شد. به طور خلاصه، اندام‌های هوایی گیاهان در دمای اتاق خشک و سپس آسیاب شدند. نیم کیلوگرم از پودر هر گیاه بوسیله دستگاه پرکولاتور با استفاده از اتانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد. سپس حلال عصاره‌ها با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء خارج و عصاره‌ها تغلیظ شدند. عصاره‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۲۳].

آماده‌سازی عصاره‌ها: هر یک از عصاره‌ها با استفاده از دی‌متیل سولفاکساید (Dimethyl sulfoxide =DMSO) کاملاً حل شدند. از عصاره‌های حل شده، غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد و برای ارزیابی اثرات ضدتوکسوپلاسمایی مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه، تکثیر و آماده‌سازی تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندی‌ای: در مطالعه حاضر از تاکی زوئیت‌های سویه RH توکسوپلاسما گوندی‌ای استفاده شد. این سویه به طور دوستانه از گروه انگل‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه و به طریق داخل صفاقی در موش‌های سوری تکثیر داده شد. تاکی زوئیت‌ها از طریق شستشوی صفاقی با نرمال سالین جمع‌آوری و بلافاصله با دور ۲۰۰g به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا خلوص تاکی زوئیت‌های عاری از سلول افزایش یابد. سپس مایع رویی حاصل از سانتریفیوژ به داخل لوله دیگر منتقل و با دور g ۱۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد [۱۴]. رسوب حاصل از سانتریفیوژ سه مرتبه با PBS استریل، PH=7.2 و 0.15 M با دور ۱۰۰۰g هر بار به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب حاصل از آخرین مرحله شستشو با PBS رقیق و با لام نئوبار تعداد تاکی زوئیت‌های آن شمارش شد. در نهایت سوسپانسیون حاوی 10^7 تاکی زوئیت در میلی‌لیتر آماده و برای انجام آزمایش‌ها ارزیابی اثرات ضدتوکسوپلاسمایی عصاره‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی اثرات ضدتوکسوپلاسمایی عصاره‌های گیاهی: این ارزیابی در شرایط برون تنی عاری از کشت سلولی انجام شد. بدین ترتیب که به ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون حاوی تاکی زوئیت‌ها، ۵۰ میکرولیتر از هر عصاره در غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر افزوده شد و پس از انکوباسیون در زمان‌های ۱۰، ۳۰ و ۴۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه با استفاده از بلودومتیلن قلیایی رنگ‌آمیزی شدند [۲۴]. درصد کشندگی عصاره‌ها با تعیین نسبت تعداد تاکی زوئیت‌های کشته شده (رنگ نگرفته) به تعداد کل تاکی زوئیت‌های شمارش شده برای هر یک از عصاره‌ها در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف انکوباسیون برآورد شد. از سوسپانسیون تاکی زوئیت‌ها در PBS و سوسپانسیون تاکی زوئیت‌ها در DMSO به عنوان کنترل استفاده شد. تمامی تجارب به صورت سه گانه انجام و سه بار تکرار شد و میانگین و انحراف معیار برای هر مورد تعیین شد.

زیست سنجی در موش: از روش زیست‌سنجی در موش برای تأیید ۱۰۰ درصد اثر کشندگی عصاره‌ها بر تاکی زوئیت‌ها استفاده شد. در این مطالعه، حداقل غلظتی از هر عصاره که در کمترین مدت زمان انکوباسیون، ۱۰۰ درصد اثر کشندگی بر تاکی زوئیت‌ها داشت، به این روش مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور به سه موش و هر کدام ۵۰ میکرولیتر از نمونه مجاورت داده شده با عصاره به طریق داخل صفاقی تزریق شد. موش‌ها تا یک ماه روزانه تحت نظر قرار گرفتند تا اگر کز کردند و تحرکشان به طور قابل توجهی کاسته شد، از نظر تاکی زوئیت‌ها در مایع صفاقی بررسی شوند. به موش کنترل، تاکی زوئیت‌های بدون مجاورت با عصاره تلقیح شد.

آنالیز آماری: داده‌ها با نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون‌های آماری ANOVA و آزمون تعقیبی توکی آنالیز شد. سطح معنی‌دار در کلیه موارد کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر کشندگی عصاره افسنطین بر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندی‌ای

هر چهار غلظت این عصاره دارای اثر کشندگی بر تاکی زوئیت‌ها بود. در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره، اثر کشندگی ۱۰۰ درصد بود ولی در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، میانگین میزان کشندگی این عصاره در زمان‌های انکوباسیون ۱۰، ۳۰ و ۴۵ دقیقه به ترتیب، ۸/۴ ± ۱۹/۶، ۹/۱ ± ۲۳/۸ و ۱۲ ± ۲۵/۲ درصد بود (جدول شماره ۱). اثر کشندگی این غلظت به طور معنی‌دار از سه غلظت بالا، کمتر بود (P< ۰/۰۰۱). همچنین، تاکی زوئیت‌های مجاورت داده شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با ۱۰ دقیقه انکوباسیون به موش‌ها تزریق داخل صفاقی شدند و تمامی این موش‌ها تا پایان ماه اول پس از تلقیح زنده ماندند.

اثر کشندگی عصاره زنیان بر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندی‌ای

هر چهار غلظت این عصاره دارای اثر کشندگی بر تاکی زوئیت‌ها بود، منتهی فقط در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اثر کشندگی ۱۰۰ درصد بود (جدول شماره ۲). درصد کشندگی عصاره در غلظت ۱۰۰ (۲/۳۶ ± ۹۶/۱۱) از ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به طور معنی‌دار پایین‌تر بود (P<۰/۰۰۱). همچنین، درصد کشندگی عصاره در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به طور معنی‌دار بیشتر از غلظت ۵۰ و در غلظت ۵۰ به طور معنی‌دار بیشتر از ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود (P<۰/۰۰۱). همچنین، تاکی زوئیت‌های مجاورت داده شده با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با ۱۰ دقیقه انکوباسیون به موش‌ها تزریق داخل صفاقی شدند و تمامی این موش‌ها تا پایان ماه اول پس از تلقیح زنده ماندند.

اثر کشندگی عصاره غوزه پنبه بر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندی‌ای

هر چهار غلظت این عصاره اثر کشندگی کمی بر تاکی زوئیت‌ها داشتند. منتهی میانگین درصد کشندگی در بالاترین حد (غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و مدت زمان انکوباسیون ۴۵ دقیقه)، ۵/۲ ± ۱۷/۵ بود (جدول شماره ۳). با افزایش غلظت عصاره‌ها، میانگین اثر کشندگی آنها افزایش داشت و در مقایسه بین گروه‌ها تفاوت‌ها معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱).

جدول شماره ۱- میانگین درصد تاکی زوئیت‌های کشته شده توکسوپلاسما گوندی‌ای پس از مجاورت با عصاره اتانولی گیاه افسنطین بر حسب غلظت و مدت زمان مجاورت در شرایط برون‌تنی عاری از سلول

مدت زمان مجاورت	غلظت عصاره افسنطین (میلی‌گرم/میلی‌لیتر)			
(دقیقه)	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۱۰
۱۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۹/۵۸ ± ۸/۴۰
۳۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۲۳/۸۴ ± ۹/۱۴
۴۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۲۵/۱۹ ± ۱۱/۹۷

جدول شماره ۲- میانگین درصد تاکی زوئیت‌های کشته شده توکسوپلاسما گوندی‌ای پس از مجاورت با عصاره اتانولی گیاه زنیان بر حسب غلظت و مدت زمان مجاورت در شرایط برون‌تنی عاری از سلول

مدت زمان مجاورت (دقیقه)	غلظت عصاره زنیان (میلی‌گرم/میلی لیتر)			
	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۱۰
۱۰	۱۰۰	۸۶/۵۳ ± ۶/۲۹	۱۴/۱۹ + ۶/۹۹	۴/۳۰ ± ۲/۲۶
۳۰	۱۰۰	۹۳/۲۴ ± ۵/۴۸	۱۵/۱۵ ± ۴/۸۰	۵/۰۶ ± ۲/۵۰
۴۵	۱۰۰	۹۶/۱۱ ± ۲/۳۶	۱۵/۷۷ ± ۷/۰۰	۵/۳۵ ± ۳/۴۷

جدول شماره ۳- میانگین درصد تاکی زوئیت‌های کشته شده توکسوپلاسما گوندی‌ای پس از مجاورت با عصاره اتانولی گیاه غوزه پنبه بر حسب غلظت و مدت زمان مجاورت در شرایط برون‌تنی عاری از سلول

مدت زمان مجاورت (دقیقه)	غلظت عصاره غوزه پنبه (میلی گرم/میلی لیتر)			
	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۱۰
۱۰	۱۳/۳۰ ± ۷/۱۵	۶/۵۸ ± ۳/۰۴	۶/۴۴± ۲/۵	۴/۶۳ ± ۲/۱
۳۰	۱۵/۵۹ ± ۹/۸۰	۶/۷۱ ± ۱/۲۳	۶/۴۹ ± ۳/۵۷	۴/۷۲ ± ۲/۲۷
۴۵	۱۷/۴۷ ± ۵/۱۹	۷/۳۶ ± ۲/۵۱	۶/۵۵ ± ۳/۱۷	۴/۹۳ ± ۱/۷۲

بحث

در مطالعه حاضر هر سه عصاره افسنطین، زنیان و غوزه پنبه بر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما اثر کشندگی داشتند، منتهی اثر کشندگی عصاره افسنطین بیشتر از زنیان و اثر کشندگی هر دوی اینها به طور قابل توجهی بیشتر از غوزه پنبه بود. در مطالعات قبلی نیز نشان داده شده است که انواع عصاره‌های گیاهی با درجات مختلف دارای اثرات مهاری یا کشندگی بر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما می‌باشند. به طور مثال، در مطالعه یوآن (Youn) و همکاران (۲۰۰۳) فعالیت ضدتوکسوپلاسمایی ۵ عصاره الکلی گیاهی شامل، *Sophora flavescens* (گونه‌ای از تلخ بیان)، *Pulsatilla koreana* (گونه‌ای از بادلرزان)، *Torilis japonica* (گونه‌ای از هویج)، Ulmus macrocarpa (گونه‌ای از نارون) و *Sinomenium acutum* بر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما گوندی‌ای و نئوسپورا کانینوم در مقایسه با سولفادیازین در محیط کشت سلولی ارزیابی شد که عصاره‌های *T. japonica* و *S. flavescence* مهارکننده‌های بهتری برای هر دو انگل بودند [۷]. در مطالعه جونس براندو (Jones-Brando) و همکاران (۲۰۰۶) چهار تا از مشتقات جدید آرتیمی سینین درمنه (Artemisinin) اثر مهاری بر توکسوپلاسما داشتند و اثر مهاری یکی از مشتقات حداقل دو برابر کمتر از بقیه بود [۹]. در مطالعه چوی (Choi) و همکاران (۲۰۰۸)، ۲ تا از ۱۵ عصاره متانولی مورد مطالعه شامل عصاره‌های زنجبیل (*Zingiber officinale*) و تلخ بیان (*Sophora flavescens Aiton*) فعالیت ضدتوکسوپلاسمایی قوی نشان دادند [۱۷].

در مطالعه جیانگ (Jiang) و همکاران (۲۰۰۸)، اولئورپین (Oleurpein) جدا شده از گیاه زبان گنجشک (*Fraxinus rhychophylla*) اثر ضدتوکسو پلاسما خوبی در in vitro نشان داد. به طوری که selectivity اولئورپین (۸/۹) به مراتب از سولفادیازین (۳/۸) و پریمتامین (۲/۵) بیشتر بود [۱۲]. در مطالعه کاویدا (Kavitha) و همکاران (۲۰۱۲) ۲ تا از ۴ فراکشن عصاره ریشه گیاه *Eurycoma longifolia jack* اثر ضدتوکسوپلاسمایی قویتری داشتند [۱۵].

اثرات آنتی‌بیوتیکی عصاره‌های گیاهی مربوط به ترکیبات مؤثره‌ای است که در آنها وجود دارد. به طور مثال ترکیبات اصلی انواع Artemisia شامل ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها و استرول‌ها است و به عنوان یک منبع مهم ترکیبات بیولوژیک در

تهیه حشره‌کش‌ها، داروی ضدمالاریا، قارچ‌کش‌ها و ضدباکتری‌ها استفاده می‌شود. آرتیمی سینین (Artemisinin) که یک داروی بسیار موثر ضدمالاریاست منشاء گیاهی دارد و از گونه *A. annua* به دست می‌آید [۲۶، ۲۵].

بالاتر بودن اثر کشندگی عصاره‌های افسنطین و زنیان نسبت به غوزه پنبه احتمالاً مربوط به تفاوت ترکیبات اصلی این عصاره‌هاست. مطالعاتی که در زمینه شناسایی ترکیبات اصلی این گیاهان در ایران انجام شده، نشان‌دهنده این تفاوت هاست. به طوری که در مطالعه گودرزی و همکاران ترکیبات اصلی اسانس میوه خشک زنیان (*C. copticum* L)، شامل تیمول (۳۶/۷ درصد)، γ-ترپن (۳۶/۵ درصد) وρ-سیمن (۲۱/۱ درصد) بود. این اسانس فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی در مقابل ۴ باکتری استاندارد سالمونلا تیفی موریوم، سودوموناس آئروژنوزا، اشرشیا کلی انتروپاتوژنیک و استافیلوکوکوس داشت [۲۷]. در مطالعه کاظمی اسکویی و همکاران، ترکیبات عمده اسانس میوه خشک این گیاه شامل تیمول (۷۲/۳ درصد)، ترپانولین (۱۳/۱۲ درصد) و o- سیمن (۱۱/۹۷ درصد) بود که در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سابتلیس اثر ضدباکتریال شدیدی بروز دادند [۲۸]. ترکیبات اصلی اسانس اجزای هوایی گیاه *Artemisia absinthium* جمع‌آوری شده از ارتفاعات البرز گیلان شامل منوترپن‌ها، بتا- پاینن و بتا- توجون بود [۲۹].

در مطالعه حاضر برای تأیید ۱۰۰ درصد اثر کشندگی عصاره‌ها بر تاکی زوئیت‌های سویه RH توکسوپلاسما از روش زیست‌سنجی در موش استفاده شد. به طور معمول اثر کشندگی عصاره‌ها و یا داروها بر تاکی زوئیت‌ها از طریق رنگ‌آمیزی با رنگ تریپان بلو و یا متیلین بلو انجام می‌شود که با رنگ‌آمیزی اولی تاکی زوئیت‌های مرده و با دومی تاکی زوئیت‌های زنده رنگ می‌گیرند. تشخیص رنگ گرفتگی تاکی زوئیت‌ها با مشاهدات میکروسکوپی است که گاهی اوقات قضاوت تاکی زوئیت‌های زنده از مرده مشکل می‌باشد. به همین جهت روش زیست‌سنجی در موش، روش قطعی برای تأیید ۱۰۰ درصد اثر کشندگی عصاره‌هاست. چونکه، دوز کشندگی سویه RH در حد یک تاکی زوئیت می‌باشد. به عبارتی اگر حتی یک تاکی زوئیت توکسوپلاسما زنده بماند، قادر است موش‌ها را در عرض کمتر از یک ماه بکشد.

در مطالعه حاضر، اثر ضدتوکسوپلاسمایی عصاره‌ها از طریق مجاورت مستقیم آنها با تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما در محیط in vitro عاری از سلول ارزیابی شد. به نظر می‌رسد که اثر کشندگی عصاره‌ها متفاوت از داروهای رایج ضدتوکسوپلاسما باشد. داروی پریمتامین از طریق مهار آنزیم دی‌هیدروفولات ردوکتاز سبب تداخل در سنتز تترا هیدروفولیک اسید از فولیک اسید می‌شود. تترا هیدروفولیک اسید برای سنتز DNA و RNA در بسیاری از انواع موجودات زنده از جمله تک یاخته‌ها ضروری است. سولفادیازین نیز مهارکننده آنزیم دی‌هیدروپتیروات است که این آنزیم در سنتز اسید فولیک از پارا- آمینوبنزوئیک اسید نقش دارد. شناسایی مکانیسم عمل کشندگی تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسما توسط عصاره‌های گیاهی به تحقیقات دقیقی نیاز دارد. روشن شدن مکانیسم عمل عصاره‌ها، مستلزم شناسایی و جداسازی ترکیبات آنها و بررسی اثر ضدتوکسوپلاسمایی هر یک به طور جداگانه می‌باشد. هر چند که در برخی مطالعات اثر ضدتوکسوپلاسمایی فراکشن‌های برخی از عصاره‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است و فراکشن‌های با اثربخشی بیشتر شناسایی شده است [۱۵، ۹] ولی مطالعات تکمیلی به منظور شناسایی مولکول‌های مؤثر و مکانیسم عمل آنها به منظور دستیابی به یک داروی جدید ضدتوکسوپلاسما نیاز است.

یکی از کاربردهای احتمالی عصاره‌های گیاهان دارویی با اثر ضدتوکسوپلاسمایی، استفاده از آنها در پیشگیری از توکسوپلاسموز مادرزادی و فعال شدن مجدد توکسوپلاسما در بیماران با اختلال یا تضعیف ایمنی است. جنین مادران سرونگاتیو توکسوپلاسما، مبتلایان به ایدز و افراد تحت درمان داروهای سرکوب‌کننده ایمنی گروه‌های در معرض خطر بالای توکسوپلاسموز می‌باشند. پیشگیری از توکسوپلاسموز در این افراد بسیار اهمیت دارد. در حال حاضر از داروهای سنتتیک برای این منظور استفاده می‌شود که عوارض جانبی مهم‌ترین عامل محدودکننده استفاده از این داروهاست. به نظر می‌رسد که فراورده‌های گیاهی با اثر ضدتوکسوپلاسمایی می‌تواند جایگزین

مناسب داروهای سنتتیک برای پیشگیری از توکسوپلاسموز در این افراد باشد. مطالعه خوش زبان و همکاران نشان داد که تجویز خوراکی عصاره سیر سبب افزایش بقاء موش‌های BALB/c تلقیح شده با سویه RH و کاهش فراوانی انگل در بافت‌های آنها شد [۲۲]. مطالعات پیشگیری‌کننده توکسوپلاسموز با استفاده از فراکشن‌های عصاره‌های با اثرات ضدتوکسوپلاسمایی می‌تواند روشن‌کننده این نقش احتمالی عصاره‌های گیاهی باشد.

نتیجه‌گیری

از مطالعه حاضر نتیجه‌گیری می‌شود که هر سه عصاره اثر کشندگی بر تاکی زوئیت‌ها داشتند. این اثر برای افسنطین و زنیان از غوزه پنبه بیشتر بود. مطالعات بیشتر به منظور شناسایی ترکیبات مؤثره و روشن شدن مکانیسم اثر این عصاره‌ها توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد انگل‌شناسی شقایق نوزری است که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و همکاری مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی این دانشگاه و بخش انگل شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی شهید بابایی قزوین انجام شد. هیچ‌گونه تعارض منافعی در این پژوهش وجود ندارد.

منابع

1. Montoya JG, Boothroyd JC, Kovacs JA. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dol-in R, editors.Mandell,Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 7th ed. Churchill Livigstone. USA. 2010, pp: 3495-526.

2. Deck DH, Winston LG. Sulfonamides, trimethoprim and quinolones. In: Basic and Clinical Pharmacology, Katzung BG and Masters SB (editors), 11th ed, Mc Graw Hill. USA. 2009, pp: 815 - 22.

3. Zargari A. Medicinal plants, Tehran University publications. Volume 3. 1997, p: 894.

4. Thiengsusuk A, Chaijaroenkul W and Na-Bangchang K. Antimalarial activities of medicinal plants and herbal formulations used in Thai traditional medicine. *Parasitol. Res*. 2013; 112: 1475 - 81.

5. Dayakar A, Chandrasekaran S, Veronica J, Sundar S and Maurya R. In vitro and in vivo evaluation of anti-leishmanial and immunomodulatory activity of Neem leaf extract in *Leishmania donovani* infection. *Exp. Parasitol*. 2015; 153: 45 - 54.

6. Santos KK, Matias EF, Tintino SR, Souza CE, Braga MF, Guedes GM, Rolón M, Vega C, de Arias AR, Costa JG, Menezes IR and Coutinho HD. Anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of *Eugenia uniflora* L. *Exp. Parasitol*. 2012; 131: 130 - 2.

7. Youn HJ, Lakritz J, Kim DY, Rottinghaus GE and Marsh AE. Anti-protozoal efficacy of medicinal herb extracts against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol*. 2003; 116: 7 - 14.

8. Youn HJ, Lakritz J, Rottinghaus GE, Seo HS, Kim DY, Cho MH and Marsh AE. Anti-protozoal efficacy of high performance liquid chromatography fractions of *Torilis japonica* and *Sophora flavescens* extracts on *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Vet. Parasitol*. 2004; 125: 409 - 14.

9. Jones-Brando L, D'Angelo J, Posner GH and Yolken R. In vitro inhibition of *Toxoplasma gondii* by four new derivatives of artemisinin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50: 4206 - 8.

10. Choi W, Jiang M, Chu J. Antiparasitic effects of *Zingiber officinale* (Ginger) extract against *Toxoplasma gondii*. *Journal of Applied Biomedicine* 2013; 11: 15 - 26.

11. Al-Zanbagi NA. Effectiveness of Myrrh and Spiramycin as inhibitors for *Toxoplasma gondii*

tachyzoites in vivo. *Mansoura J Forensic Med. Clin. Toxicol*. 2007; 2: 117 - 27.

12. Jiang JH, Jin CM, Kim YC, Kim HS, Park WC, Park H. Anti-toxoplasmosis effects of oleuropein isolated from *Fraxinus rhychophylla*. *Biol. Pharm. Bull*. 2008; 31: 2273 - 6.

13. de Oliveira TC1, Silva DA, Rostkowska C, Béla SR, Ferro EA, Magalhães PM, Mineo JR. *Toxoplasma gondii*: effects of *Artemisia annua* L. on susceptibility to infection in experimental models in vitro and in vivo. *Exp. Parasitol*. 2009; 122: 233 - 41.

14. Al-Zanbagi NA. In vivo effect of some home spices extracts on the *Toxoplasma gondii* tachyzoites. *J. Family Community Med*. 2009; 16: 59 - 65.

15. Kavitha N, Noordin R, Chan KL and Sasidharan S. In vitro anti-*Toxoplasma gondii* activity of root extract/fractions of *Eurycoma longifolia Jack*. *BMC Complement. Altern. Med*. 2012; 12: 91.

16. Chen SX, Wu L, Jiang XG, Feng YY, Cao JP. Anti-*Toxoplasma gondii* activity of GAS in vitro. *J. Ethnopharmacol*. 2008; 118: 503 - 7.

17. Choi KM, Gang J, Yun J. Anti-*Toxoplasma gondii* RH strain activity of herbal extracts used in traditional medicine. *Int. J. Antimicrob Agents*. 2008; 32: 360 - 2.

18. El-Sherbiny GM, El-Sherbiny ET. The Effect of *Commiphora molmol* (Myrrh) in Treatment of Trichomoniasis vaginalis infection. *Iran. Red. Crescent. Med. J*. 2011; 13: 480 - 6.

19. Nahrevanian H, Esmaeili B, Kazemi M, Nazem H and Amini M. In Vivo Antimalarial Effects of Iranian Flora *Artemisia khorassanica* against *Plasmodium berghei* and Pharmacochemistry of its Natural Components. *Iran. J. Parasitol*. 2010; 5: 6 - 19.

20. Sadeghi-Nejad B and Saki J. Effect of Aqueous *Allium cepa* and *Ixora brachiata* root extract on Leishmania major promastigotes. *Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod*. 2014; 9: e15442

21. Hassani S, Asghari G, Yousefi H, Kazemian A, Rafieiean M and Yousofi Darani H. Effects of different extracts of *Eucalyptus camaldulensis* on *Trichomonas vaginalis* parasite in culture medium. *Adv. Biomed. Res*. 2013; 2: 47.

22. Khoshzaban F, Ghazanfari T, Ghaffari Far F, Sharafi M and Ghasemi Nikoo S. The effect of garlic extract on acute toxoplasmosis in mice. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2007; 23: 295 - 306.

23. Azadmehr A, Latifi R, Mosalla S, Hajiaghaee R and Shahnazi M. Immunomodulatory effects of *Ziziphora tenuior* L. extract on the dendritic cells. *Daru* 2014; 22: 63.

24. Johanson, JS and Holliman, RE. Toxoplasmosis. In: Gillespie, S.H. and Hawkey, P.M. (editors). Medical Parasitology A Practical Approach. Oxford University Press Inc. USA. 1995, pp: 33 - 59.

25. Bora KS, Sharma A. The genus *Artemisia*: a comprehensive review. *Pharm. Biol*. 2011; 49: 101 - 9.

26. Ghasemi Pirbalouti A, Firoznezhad M, Craker L, Akbarzadeh M. Essential oil compositions, antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages. *Rev. Bras. Farmacogn*. 2013; 23: 861 - 69.

27. Goudarzi GhR, Saharkhiz MJ, Sattari M, Zomorodian K. Antibacterial activity and chemical composition of ajowan (*Carum copticum* Benth. & Hook) essential oil. *J. Agr. Sci. Tech*. 2011; 13: 203 - 8.

28. Kazemi Oskuee R, Behravan J and Ramezani M. Chemical composition, antimicrobial activity and antiviral activity of essential oil of *Carum copticum* from Iran. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 2011; 1: 83 - 90.

29. Rezaeinodehi A and Khangholi S. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Iran. *Pak. J. Biol. Sci*. 2008; 11: 946 - 9.