

بررسی اثرات سینرژیستی مخلوط سه عصاره گیاهی بومادران، افسنطین و برگ گردو بر انگل لیشمانيا مژور (MRHO/IR/75/ER) در شرایط آزمایشگاهی

نرگس یکتاییان^{۱*}، محمود رفیعیان^۲، بهمن خلیلی دهکردی^۳، سید حسین حجازی^۴، لیلا شیرانی بیدآبادی^۵
سیدعبدالله حسینی^۱

- ۱- کارشناسی ارشد انگلشناسی پزشکی، گروه انگلشناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
 - ۲- دکترای فارماکوگنوزی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
 - ۳- دکترای انگلشناسی پزشکی، گروه انگلشناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
 - ۴- دکترای انگلشناسی پزشکی، گروه انگلشناسی و قارچشناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان
 - ۵- کارشناسی ارشد حشرهشناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک صدیقه طاهره (س)، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان
- *آدرس مکاتبه: شهرکرد، رحمتیه، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دانشکده علوم پزشکی، گروه انگلشناسی
تلفن: ۰۳۸۱ (۳۳۳۴۶۹۱)، نمایر: ۰۳۸۱ (۳۳۳۰۷۰۹)
پست الکترونیک: nargesyekta20@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۹۰/۱۱/۱۹

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۲۲

چکیده

مقدمه: لیشماییز از مشکلات مهم سیستم‌های بهداشتی می‌باشد. به دلیل عوارض جانبی داروهای مورد استفاده در درمان این بیماری‌ها و همچنین تعایل مردم به استفاده از داروهای گیاهی، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی سه گیاه بومادران، افسنطین و برگ گردو بر انگل لیشمانيا مژور و بررسی اثر سینرژیست مخلوط سه عصاره در محیط *In vitro* طراحی و اجرا شد.

هدف: دسترسی به فرمولاسیون دارویی فاقد مواد شیمیایی مضر و بدون عوارض جانبی و مؤثر.

روش بررسی: بر اساس هدف مطالعه عصاره هر سه گیاه با غلظت‌های ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شدند. سپس این غلظت‌ها در محیط‌های حاوی انگل در حلal بافر PBS به علاوه DMSO دو درصد تزریق شدند و در زمان‌های ساعت صفر، ۶، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ از نظر تعداد انگل مورد بررسی و آنالیز قرار گرفتند.

نتایج: در بررسی تأثیر عصاره‌ها بر انگل‌ها مشخص شد عصاره گیاهان باعث افزایش بی‌حرکتی انگل‌ها شده است که این عدم تحرک ارتباط مستقیم با زمان داشته است. به نحوی که گل‌کاتنیم بعد از ۲۴ ساعت و آمفوتیریسین B بعد از ۳۰ دقیقه در مقایسه با تأثیر عصاره گیاهان که طی ۲۴ ساعت باعث نابودی انگل‌ها شدند.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ترکیب عصاره سه گیاه ذکر شده بر روی انگل لیشمانيا مؤثر بوده است. هر چند مطالعات بیشتر برای نشان دادن این تأثیر در حیوانات آزمایشگاهی و بیماران داوطلب ضروری به نظر می‌رسد.

گل واژگان: لیشمانيا، بومادران، افسنطین، برگ گردو



مقدمه

نشان‌دهنده اثرات ضدتشنجی [۹]، ضدالتهابی [۱۰]، ضدآریتمی [۱۱]، آنتی‌بکتریال، ضدقارچ [۱۲-۱۴]، ضددرد [۱۵]، کاهش‌دهنده فشار خون [۱۶]، کاهش‌دهنده چربی خون، ضدآریتمی قلبی [۱۷] و آنتی‌اکسیدان گیاه می‌باشد [۱۸]. گردو گیاهی از خانواده *Juglandaceae* و جنس *Juglans regia* است. عصاره برگ درخت گردو خاصیت میکروبکشی و باکتریکشی دارد. برگ و پوست گردو مقوی و تصفیه‌کننده خون است. برگ‌ها و پوست آن به خصوص به خاطر ماده تلخ و تانن آن در مداوای بیماری‌های جلدی و خنازیر مفید واقع می‌شوند. برگ گردو برای شست و شوی زخم‌ها و التیام آنها بسیار مفید و جوشاننده برگ درخت گردو درمان کننده سردرد، سرمایزدگی و بیماری‌های پوستی است. برگ تازه درخت گردو حشرات موذی مانند بید و ساس را از بین می‌برد. چون مغز گردو دارای مس می‌باشد بنابراین به جذب آهن در بدن کمک می‌کند، همچنین جوشاننده برگ یا پوست سبز گردو برای تجویز درمان کم خونی و ضعف است [۱۹]. مشتقات گیاهی تهیه شده از گردو در درمان موضعی آکنه، بیماری‌های التهابی، کچلی و عفونت‌های قارچی، باکتریایی و ویروسی به کار می‌رود. خواص ضدبакتریایی، قارچی و ویروسی این گیاه به واسطه وجود ترکیب شیمیایی ۵- هیدروکسی ۱ و ۴ نفتوكوئینون موجود در آن بوده که باعث ایجاد سیکل احیا و واکنش با گلوتاتیون می‌شود [۲۰]. افسطین معروف به *Wormwood* از خانواده گل مرکیان می‌باشد که به علت دارا بودن خواصی از جمله حشره‌کشی، اشتہا‌آوری، زدودن کرم روده و همچنین داشتن ترکیبات تلخ و معطر از قدیم‌الایام در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. امروزه انسان‌س به دست آمده از افسطین در معطر کردن برخی غذاها و نوشیدنی‌ها، در داروسازی، کشاورزی و یا به عنوان ضدبакتری، ضدتب، ضدباروری، ضدمالاریا و تقویت‌کننده قلب و عروق کاربرد دارد و همچنین به علت وجود ترکیبات سمی در گیاه جهت تهیه حشره‌کش و کنه‌کش گیاهی از آن استفاده می‌شود [۲۱]. افسطین از مهم‌ترین ترکیبات گیاهی مؤثر در درمان

لیشمانيوز به طیفی از بیماری‌ها اطلاق می‌شود که عامل آن گونه‌های مختلف لیشمانيا می‌باشد. عامل بیماری، تک یا خته‌ای به نام لیشمانيا از راسته *Kinetoplastida* است، که بر حسب محیط زندگی به دو شکل بدون تاژک یا جسم لیشمین و تاژکدار دیده می‌شود. این انگل در بدن مهره‌داران، در داخل سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای زندگی می‌کند و تکثیر می‌باید. لیشمانياها عمده‌اً توسط گونه‌های پشه خاکی منتقل می‌شوند [۱]. تخمین‌زده می‌شود که در حدود ۱۲ میلیون مورد لیشمانيوز جلدی در نقاط مختلف جهان وجود داشته باشد و ۳۵۰ میلیون نفر در معرض ابتلا به این بیماری قرار دارند. در حال حاضر ۸۸ کشور جهان به لیشمانيوز جلدی مبتلا هستند در ایران میزان بروز لیشمانيوز جلدی به طور متوسط حدود ۳۵ درصد هزار نفر جمعیت است [۲]. استفاده فرآورده‌های دارویی با منشاء گیاهی به دلایل مختلفی مانند کمتر بودن عوارض جانبی، پذیرش بهتر بیمار به علت توصیه طب سنتی و استفاده نسل‌های گذشته و قیمت کمتر گیاهان دارویی و همچنین سازگاری بیشتر با عملکرد فیزیولوژیک طبیعی بدن انسان گسترش‌دهتر شده است [۳]. در این میان برخی از گیاهان مانند برگ گردو، بومادران و افسطین در طب سنتی مصرف فراوان دارند که مطالعات متعددی پیرامون خواص ضدمیکروبی آنها صورت گرفته است [۴-۷]. بنابراین تصمیم بر آن شد که در این تحقیق اثرات سه گیاه فوق بر روی لیشمانيا و تریکوموناس مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گیرد. بومادران یکی از گیاهان متعلق به خانواده *Astraceae* است. در حقیقت این گیاه از مشهورترین گیاهان دارویی است که به فراوانی در طب کهن برای درمان بیماری‌ها به طور عام و زخم‌ها و سوختگی‌ها به طور خاص مورد استفاده قرار می‌گرفته است [۸]. مهم‌ترین ترکیبات موجود در این بخش شامل روغن فرار، ترکیبات پلی‌فنولی، برخی انواع فلاونوئیدها، لاکتون‌ها، بتایین‌ها، ترکیبات استیلن، رزین، تانن، آشیلين، فسفات، نیترات، نمک‌های پتاسیم و اسیدهای آلی است. مطالعات انجام شده روی این گیاه

تهیه و کشت انگل لیشمانیا

سویه استاندارد لیشمانیا مژور با کد MRHO/IR/75/ER پروماستیگوت از بخش انگل شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که در ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری می شد تهیه گردید. پس از ذوب کردن به محیط استوک Navy Mack Neal Nicole (NNN) منتقل شده تا به حد کفايت رشد کند. جهت انبوه سازی به محیط RPMI-1640 به همراه آنتی بیوتیک انگل انتقال یافت و به فاصله ۴ - ۳ روز کشت مکرر انجام شد. پس از تولید انبوه در مرحله ایستا و انتقال به محیط تازه به همراه ۱۰ درصد گلیسرول در ویال های مناسب تقسیم و به مدت ۲۴ ساعت در ۲۰- درجه سانتی گراد و پس از آن در ۱۹۵- درجه سانتی گراد نگهداری می شدند.

گروه های مربوط به بررسی انگل لیشمانیا

- ۱- محیط حاوی گلوکاتنیوم تنها ($(^{(۳)}\text{MIC}= 10 \mu\text{g/ml})$ و انگل لیشمانیا حل شده در حلال بافر PBS به علاوه DMSO دو درصد (کترل -)
- ۲- محیط حاوی آمفوتیریسین B تنها ($(^{(۴)}\text{MIC}= 0.7 \mu\text{g/ml})$ و انگل لیشمانیا حل شده در حلال بافر PBS به علاوه DMSO دو درصد (کترل -)
- ۳- محیط حاوی انگل لیشمانیا تنها حل شده در حلال بافر PBS به علاوه DMSO دو درصد (کترل +)
- ۴- محیط حاوی انگل لیشمانیا تنها (شاهد)
- ۵- محیط کشت لیشمانیا و عصاره هر یک از سه گیاه با غلظت های ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر حل شده در حلال بافر PBS به علاوه DMSO دو درصد
- ۶- محیط کشت لیشمانیا و عصاره هر یک از سه گیاه به صورت دو به دو با غلظت ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر حل شده در حلال بافر PBS به علاوه DMSO دو درصد جهت شمارش انگل ها از لام نثیوار استفاده شد. تمامی محیط ها در ابتدای کشت (ساعت صفر) و سپس در ساعات ۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ از نظر زنده ماندن و تحرک انگل بررسی شدند.

مالاریا در طب قدیم بوده است. از طرفی این گیاه در درمان شیستوزوما اثر پروفیلاکسی داشته و در چین و آفریقا در درمان کلونورکیس نیز به کار می رفته است. ممانعت از رشد توکسپلاسم گوندی و درمان لیشمانیا نیز از کاربردهای مهم افسنطین محسوب می شود. همچنین خاصیت ضدقارچی (آسپرژیلوس فومیگاتوس) و ضد میکروبی آن (ضد لپتوسپیرا) به اثبات رسیده است [۲۲]. مهم ترین قسمت گیاه که خاصیت درمانی دارد گلهای آن می باشند. از ترکیبات مؤثره موجود در عصاره این گیاه می توان از ترکیبات معطر، مونوترپین و کتون که خاصیت ضد التهاب و ضد میکروبی دارد، مانند اوکالپیول، مایرسين، لینالول، کاریوفنیل، پنین، کافور، بومیل استات، لیمومن، ساینیل استات، سیس کریزانتنیل، سیس اوپوكسی او سیمن، بورنیل استات، ترکیبات تلخ و سمی مانند کاما جولین و توجون را نام برد [۲۳، ۲۴].

مواد و روش ها

تهیه عصاره گیاهان

خار و خاشاک و قسمت های غیرقابل استفاده از گیاهان تهیه شده جدا و پس از تمیز کردن، در سینی های مخصوص و در درجه حرارت اتاق و در سایه خشک و با آسیاب الکتریکی خرد و از الک شماره ۱۰ عبور داده شد. پودر به دست آمده به نسبت یک به سه با الکل اتیلیک ۸۰ درجه مخلوط شده، تا حدی که ۳ - ۲ سانتی متر روی پودر را پوشاند. محلول حاصل در مدت خیساندن، هر چند ساعت یک بار به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر تکان داده شد تا مواد مؤثره آن بهتر خارج شود. بعد از ۷۲ ساعت این محلول از کاغذ صافی و اتمن شماره ۱ عبور داده شد. این عمل دو مرتبه هر دفعه به مدت ۲۴ ساعت تکرار شد. محصول حاصل تا حد خروج تمام الکل با دستگاه تبخیر در خلاء دور تقطیر و در حرارت ۴۰ درجه سانتی گراد تغليظ و جهت خشک شدن در آون ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. عصاره بومادران، افسنطین و برگ گردو به دست آمده آماده بهره برداری در مراحل بعدی شد.



بومادران، افستانین و برگ گردو بود که پس از تزریق این غلظت‌ها و بررسی تعداد انگل‌ها در زمان‌های مختلف مشخص شد که تنها اثر ترکیبی عصاره بومادران و افستانین بر روی انگل لیشمانیا در مقایسه با محیط شاهد از لحاظ آماری معنی‌دار بوده و تأثیر سایر ترکیب‌ها معنی‌دار نبوده است.

در شکل شماره ۱ نمودار IC₅₀ عصاره بومادران ارایه شده است و همان‌طور که مشاهده می‌شود غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره این گیاه پس از ۲۴ ساعت تقریباً نیمی از انگل‌های لیشمانیا را از بین برده است. که بر این اساس در بررسی اثر سینزrیست عصاره گیاهان مورد بررسی در این مطالعه بر روی انگل لیشمانیا از غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای گیاه بومادران استفاده شده است.

در شکل شماره ۲ نمودار IC₅₀ عصاره گیاه افستانین ارایه شده است و بر این اساس غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاه افستانین در مدت زمان ۲۴ ساعت نیمی از انگل‌های لیشمانیا را از بین برده است. لذا در بررسی اثر سینزrیست ترکیب عصاره هر سه گیاه در این مطالعه برای گیاه افستانین این غلظت به کار رفته است.

شکل شماره ۳ نمودار IC₅₀ عصاره برگ گردو را نشان می‌دهد و همان‌طور که مشاهده می‌شود نیمی از انگل‌های لیشمانیا در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره این گیاه پس از ۲۴ ساعت از بین رفته‌اند. که بر این اساس در بررسی اثر سینزrیست عصاره گیاهان مورد بررسی در این مطالعه بر روی انگل لیشمانیا از غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای برگ گردو استفاده شده است.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

با توجه به اندازه‌گیری متغیرهای کمی مورد بررسی در زمان‌های متوالی، از روند GLM Repeated Measure (within group) ANOVA که یک مقایسه درون گروهی است، استفاده شد. از همزمان این دو آزمون و با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ آنالیز شد.

نتایج

تأثیر عصاره گیاهان مورد مطالعه بر انگل لیشمانیا به صورت خلاصه در جدول شماره ۱ گزارش شده است. آزمون آنالیز واریانس مشاهدات تکرار شده نشان داد روند کاهشی معنی‌داری در تعداد انگل‌های لیشمانیا بر حسب زمان وجود دارد ($p < 0.05$) که نشان‌دهنده تأثیر عصاره گیاهان بر کاهش تعداد انگل‌های لیشمانیا می‌باشد. همچنین این آزمون نشان داد که عصاره گیاهان تأثیرات متفاوتی داشته‌اند ($p < 0.05$). آزمون مقایسات چندگانه نشان داد که گیاه برگ گردو تأثیر کمتری نسبت به گیاه بومادران داشته است ($p < 0.05$). ولی دو گیاه بومادران و افستانین تأثیر یکسانی داشته‌اند ($p > 0.05$).

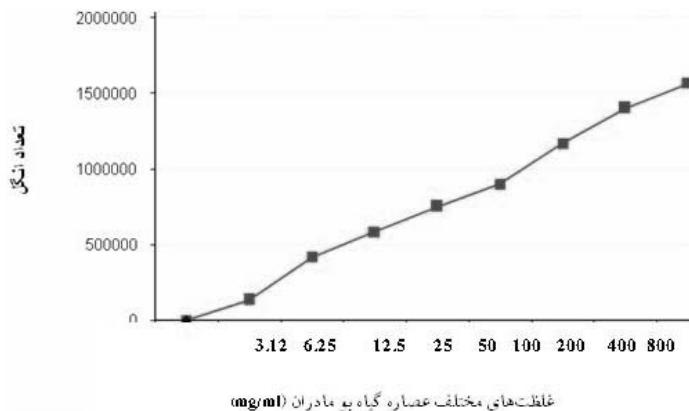
در جدول شماره ۱ میانگین تعداد لیشمانیا در زمان‌های مورد بررسی در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های ترکیبی عصاره هر سه گیاه مورد بررسی در این مطالعه را نشان می‌دهد. همان‌طور که پیشتر ذکر شد با توجه به نمودارهای IC₅₀ به دست آمده غلظت‌های مورد استفاده در این قسمت شامل غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای هر سه گیاه

جدول شماره ۱ - میانگین تعداد انگل‌های لیشمانیا در زمان‌های مورد بررسی در محیط‌های کشت حاوی ترکیب عصاره هر سه گیاه مورد مطالعه

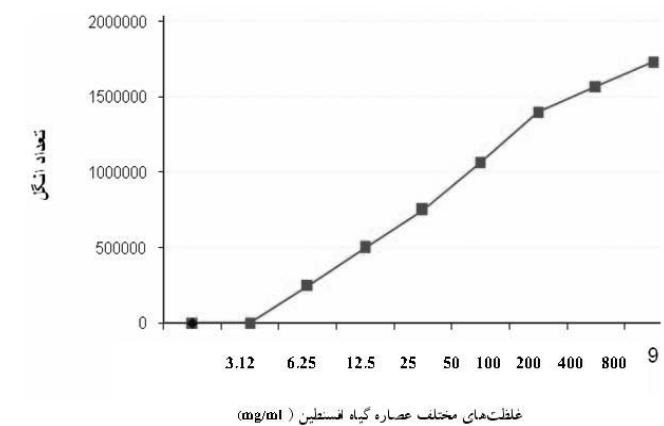
P-value	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت	۶ ساعت	ساعت صفر	ترکیب عصاره‌ها
.	.	.	۱۳/۳ ± ۱۲/۶	۳۳/۳ ± ۱۴/۴	۲۰/۷۷ ± ۸/۴	بومادران + افستانین
۴۱/۷ ± ۲۸/۹	۶۶/۷ ± ۲۸/۹	۹۰ ± ۲۶	۱۲۰/۳ ± ۲۶/۴	۲۰/۷۷ ± ۸/۴	بومادران+برگ گردو	
۶۶/۷ ± ۲۸/۹	۹۰ ± ۲۶	۱۱۷/۷ ± ۲۸/۹	۱۵۶/۷ ± ۴۰/۴	۲۰/۷۷ ± ۸/۴	برگ گردو + افستانین	
۹۰ ± ۲۶	۱۱۶/۷ ± ۲۸/۹	۱۴۰ ± ۵۲/۹	۱۹۰ ± ۵۲/۹	۲۰/۷۷ ± ۸/۴	عصاره هر سه گیاه	

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معيار گزارش شده‌اند. تمامی نتایج $\times 10^4$

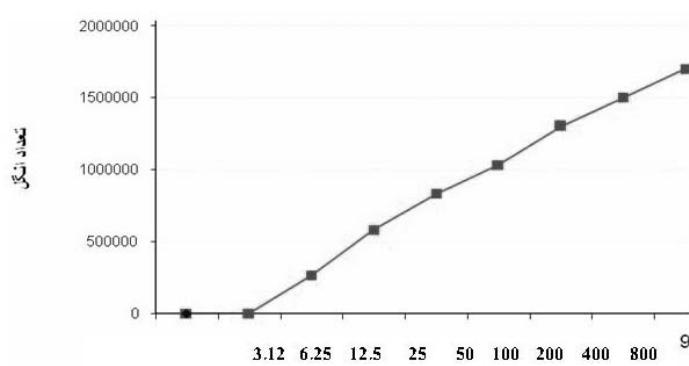




نمودار شماره ۱- نمودار I_{C50} تأثیر عصاره گیاه بومادران در غلظت‌های مختلف بر روی انگل لیشمانيا



نمودار شماره ۲- نمودار I_{C50} تأثیر عصاره گیاه افسنطین در غلظت‌های مختلف بر روی انگل لیشمانيا



نمودار شماره ۳- نمودار I_{C50} تأثیر عصاره گیاه برگ گردو در غلظت‌های مختلف بر روی انگل لیشمانيا



بحث

داشته‌اند ($p < 0.05$) و مشخص شد که گیاه برگ گردو تأثیر گذاری نسبت به گیاه بومادران داشته است ($p < 0.05$). ولی دو گیاه بومادران و افستانین تأثیر یکسانی داشته‌اند ($p > 0.05$). ساویا (Savoia) و همکاران تأثیر مواد مختلف از جمله بره موم را بر رشد انگل لیشمانیا مژور در *In-vitro* بررسی و آثار درمانی غلظت‌های مختلف آنرا بر لیشمانیا مشاهده نمود [۲۵]. موستونین (Mustonen) و همکاران در تحقیقی به نقش بره موم در کشتن آماستیگوت‌های لیشمانیا دونوانی از طریق آزاد شدن اسید نیتریک و فاکتور نکروزدهنده تومور از ماکروفازها در *In vitro* اشاره کرده‌اند [۲۶]. کلینگاردت (Klinghardt) و همکاران به نقش بره موم در مهار بیماری‌های پرتوزوئری همچون تریکوموناس، آمیبیاز، توکسوپلاسموز و زیاردیوز اشاره کرده‌اند [۲۷]. شیرانی و همکاران با بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی آویشن، بومادران و بره موم در بهبود زخم‌های ناشی از انگل لیشمانیا، مؤثر بودن این عصاره‌ها را در بهبود زخم‌ها گزارش کرده‌اند [۷]. نتایج مطالعه درودگر و همکاران با بررسی تأثیر انسانس گیاه درمنه (*Artemisia sieberi*) بر زخم‌های حاصل از لیشمانیا مژور در موش نشان داد که بهبودی کامل بعد از پایان دوره ۳۰ روزه درمان در هیچ‌کدام از موش‌های تحت درمان با غلظت‌های موربد بررسی درمنه مشاهده نشد و آزمایش‌های میکروسکوپی نمونه‌های گرفته شده از موش‌های موربد بررسی مثبت بود. انسانس درمنه در غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ درصد در درمان زخم لیشمانیا مژور مؤثر نمی‌باشد و امولسیون گیاهی درمنه در کاهش قطر زخم‌ها و کاهش معنی‌دار اجسام لیشمین زخم موش‌ها پس از پایان دوره درمانی بی‌تأثیر بود [۲۸]. نتایج مطالعه آسمار و همکاران نشان داد که عصاره تخلیص شده گیاه وینکا در غلظت‌های مختلف باعث کاهش قابل توجهی در تعداد پروماستیگوت‌های لیشمانیا مژور می‌شود. همچنین استفاده از این عصاره تخلیص شده در فاز کلروفرمی به صورت تزریقی در جلوگیری از پیشرفت زخم ناشی از لیشمانیا مژور در موش‌های *Balb/c* در مقایسه با شاهد تیمار نشده بسیار مؤثر بوده به طوری که از نظر آماری دارای

افزایش مشاهده در تعداد انگل‌های لیشمانیا در بررسی محیط شاهد (بدون وجود عصاره بومادران) معنی‌دار بود. در حالی که بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه بومادران بر روی انگل لیشمانیا مشخص کرد که تمامی غلظت‌های بررسی شده این عصاره باعث کاهش تعداد انگل‌های لیشمانیا شده است که در مقایسه این غلظت‌ها با محیط شاهد با توجه به نتایج به دست آمده اثر کاهشی غلظت‌های ۴۰۰، ۸۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). در سایر غلظت‌ها (۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵) کاهش تعداد انگل‌ها با توجه به محیط شاهد معنی‌دار نبوده است ($p > 0.05$). در بررسی تأثیر عصاره برگ گردو بر انگل لیشمانیا در محیط شاهد (بدون وجود عصاره برگ گردو) در تعداد انگل‌ها افزایش مشاهده شده بود که این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار بود. در غلظت‌های (۴۰۰، ۸۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰) عصاره باعث کاهش تعداد انگل‌های لیشمانیا شده است که از نظر آماری و در مقایسه این غلظت‌ها با محیط شاهد با توجه به نتایج به دست آمده تنها اثر کاهشی غلظت‌های ۸۰۰، ۴۰۰ و ۲۰۰ در مقایسه معنی‌دار می‌باشد. در سایر غلظت‌ها (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵) کاهش تعداد انگل‌ها در مقایسه با محیط شاهد معنی‌دار نبوده است ($p > 0.05$).

در بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه افستانین بر روی انگل لیشمانیا مشخص شد تمامی غلظت‌های این عصاره باعث کاهش تعداد انگل‌های لیشمانیا شده است که تمامی این تأثیرات از نظر آماری و در مقایسه با محیط اثر کاهشی غلظت‌های ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ و ۵۰ معنی‌دار می‌باشد. (۳/۱) کاهش تعداد انگل‌ها با توجه به محیط شاهد معنی‌دار نبوده است ($p > 0.05$). در مقایسه تأثیر عصاره گیاهان موربد مطالعه بر انگل لیشمانیا روند کاهشی معنی‌داری در تعداد انگل‌ها بر حسب زمان مشاهده شد ($p < 0.05$) که نشان‌دهنده تأثیر عصاره گیاهان بر کاهش تعداد انگل‌های لیشمانیا می‌باشد. همچنین نشان داده شده که عصاره گیاهان تأثیرات متفاوتی



انگل‌ها داشت و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$). در سه مطالعه ذکر شده فوق گیاهان مختلفی بر روی انگل لیشمانیا مورد بررسی قرار گرفته شده و تأثیر این گیاهان بر لیشمانیا معنی‌دار بوده است. همانند مطالعه حاضر که تأثیر سه گیاه بومادران، افسنطین و برگ گردو بر انگل لیشمانیا معنی‌دار بود. ($p < 0.05$).

تشکر و قدرانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده است.

اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد [۲۹]. نتایج مطالعه طالاری و همکاران با عنوان تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه *Hedera Helix* و گلوکانتیم بر عامل لیشمانیوز احساسی در *In vitro* نشان داد که در تمام لولهای شاهد طی روزهای مطالعه انگل‌ها زنده بودند اما درصد انگل‌های زنده و زمان زنده بودن آنها در غلظت‌های مختلف گلوکانتیم متفاوت بود. به گونه‌ای که غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آن پس از یک ۲۵ روز فقط ۲/۵ درصد آنها را از بین برداشت و در غلظت‌های ۲۵ میلی‌گرم عصاره گیاه عشقه پس از یک روز کلیه انگل‌ها از بین رفتند. در این مطالعه غلظت‌های مختلف گیاه عشقه نسبت به غلظت‌های مشابه گلوکانتیم اثر کشنیدگی بیشتری بر روی

منابع

1. Azizi M et al. Common Disorders in Iran. Second Edition. Khosravi Publications. Winter 1384.
2. Droudgar A, Mahbobi S, Nematyan M, Sayah M., Droudgar M. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in the Kashan city in 1386. Koomesh. Spring 1388; 10 (3): 177 - 83. [Persian].
3. Corns CM, Herbal remedies and clinical biochemistry.Hum. Psychpharmacol; Mumtaz scan *Pharmaceutical Biology* 2003; 41 (8): 608 – 13.
4. Cowan MM, Plant productsas antimicrobial agent.Clinical microbiology reviews. *Clin. Microbiol Rev.* 1999; 12 (4): 564 - 82.
5. Azadbakht M, Classification of herbal medicines. Teimorzadeh Publications. Tayeb publication. First printing. Spring 1387, p: 58.
6. Pereira J A, Oliveira A I, Sousa A, Valenta P ,Paula B.compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicol.* 2007; (45): 2287 – 95.
7. Shirani-Bidabadi L, Mahmoudi M, Saberi S, ZolFaghari A, Nilforoushzadeh MA, Abdoli H, Moatar F, Hejazi SH, The Effectiveness of Mix Extracts of Thyme, Yarrow and Propolis on
8. Chevallir A. The encyclopedia of medicinal plants. London: Darling Kindersley 1995, pp: 102 -5.
9. Heidari MR, Ebrahim S, Mehrabani M, pardakhti A,VafaZadeh J. [Effects of methanolic extract of *Achillea wilhemssii*Koch on seizure induced by picrotoxin in mice. *Journal of Babol University of Medical Sci.* 1384; 28 (7); 7 - 13. [Persian].
10. Rashidi Tehran Moghadam M, Mozaffari AR, Study of anti-inflammatory and healing effects of *Achillea illefolium* in the treatment of Indomethacin-induced gastric ulcer in rat. *Journal of Babol University of Medical Sci.* 2005; 8 (4); 9 - 13. [Persian].
11. Karamenders C, Apaydin S. Antispasmodic effect of *Achillia nobilis* L Subsp Sipylea (O.Schwarz) Bassaler on the rat isolated duodenum *J. Ethnopharmacol.* 2003; 84 (2 - 3); 175 - 9.
12. Magiatis P, Skaltsounis AL (chinovL), Haroutounian SA. Chemical composition and in



- vitro antimicrobial activity of the essential oils of three greek. *Achillia Spices* 2002; 57: 287 - 90.
- 13.** Abbasoglu U, kusmenolgu S. Antibacterial and antifungal studies on Achillia L. SPICES. Gazi University Eczacilik Fakultesi Dergisi 1994, 3177 -81 (in Spain).
- 14.** Ayatollahi Mousavi SA, Abdollahi H, Kazemipour N. Investigation of antifungal activity of 10 methanol extracts of medicinal herbs. *Journal of Kerman University of Medical Sci.* 1997; 3: 9 - 13. [Persian].
- 15.** Arzi A & Akhavan M. The effect of hydroalcoholic extract of *Achillia millefolium* on analgesic effect of Morphin in rat. *Journal of Babol University of Medical Sci.* 1380; 12 (3): 11 - 14. [Persian].
- 16.** Farokhafal KH, Fatehi M, Hasanabad Z. Evaluation of cardiovascular effects of five native plants in south Khorasan. *Tabibe Sharqh.* 1384; 7 (1): 31 - 38 [Persian].
- 17.** Asgari S, Naderi GH, Sadeghi M, Sabet B, Mohamadifard N. Antihypertensive and antihyperlipidemic effect of *Achillia wilhelmsii*. *Drug Exp Clin Res.* 2000; 4: 89 - 93.
- 18.** Sokmen A, Sokmen M, Daferea D, Polissiou M. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and extracts of *Achillia bieberstenii* Afan. *Phytother. Res.* 2004; 18 (6): 451 - 6.
- 19.** Anderson FJ. An illustrated history of the herbals. Columbia university press. Chemesova, I., Belenovskaya, L. K. and Stukov, A. N. 1987, Rastitelle'nye Resursy: pp: 3 - 100.
- 20.** Jean V, Plant health, Cure disease by plants. Translated by Ahmad Emami, MR ShamsArdekani, Nekoei -Naini N, Rahekamal publication. Tehran. 1381, pp: 358 - 61.
- 21.** Abroise-Thomas P. Current data on major novel antimalaria drugs: Artemisinin derivatives, *Bulletin of the National Academy of Medicine (France)* 1999; 183 (4): 797 - 800.
- 22.** Kager PA, de Vries PJ. Why is malaria in Vietnam under control, but Africa is threatened with a malaria disaster. *Netherlands Journal of Medicine* 2000; 144 (8): 357 - 361.
- 23.** Morales MR, Denys J, James C, Simon E. Seasonal Accumulation of Artemisinin in *Artemisia Annua* L. ISHS Acta Horticulturae 344: International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants , 2005.
- 24.** Ramezani M, Fazli-Bazzaz BS, Saghafi-Khadem F, Dabaghian A. Antimicrobial activity of four *Artemisia* species of Iran, *Fitoterapia* 2004 Mar; 75 (2): 201 - 3.
- 25.** Savoia D. In vitro activity of different substances on the growth of *Leishmania major*. XIX Annual Meeting. Rome, Italy: Italian Section Society of Protozoologists, 1998.
- 26.** Atalay S, Gülnar V-Ü, Moschos P, Dimitra D, Münevver S, Erol D. Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub. Mor. (Asteraceae). Article first published online: 27 OCT 2003 DOI: 10.1002/ptr. 1274.
- 27.** Klinghardt DK. Lyme disease: a look beyond antibiotics. *Explor. Infect. Dis.* 2005; 14: 6 - 11.
- 28.** Doroudgar A, Arbabi M, Razavi MR, Mohebali M, Sadr FAD, Tashacor Z, Effect of *Artemisia sieberi* extract on leishmania major ulcers in Balb/c mice. *Feyz Fall* 2007; 11 (3 (Serial 43)): 52 - 6.
- 29.** Asmar M., Farahmand Beygi M, Aghighi Z, Ghaemi N, Ayatelahi A, In vitro and in vivo evaluation of therapeutic effects of vinca major alkaloidson *Leishmania major*. *Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Res.* Summer 2002; 1 (2): 1 - 8.
- 30.** Talari S A, Doroudgar A, Ouzougi J, In vitro effect of various concentrations of *Hedera Helix* extract and Glucantime on visceral Leishmaniosis. *KAUMS Journal FEYZ* 1997; 1 (2): 61 - 7.

