

Research Paper

Evaluation of Antileishmania Effect of Methanolic Extract of Dandelion Root (Taraxacum Officinale) on Leishmania Major Promastigotes in Vitro Techniques



Roghayeh Norouzi¹ , Abolghasem Siadatpanah² , Farzaneh Mirzaei³ , Ruhollah Fateh⁴ , Mohammad Khalifeh Gholi⁴ ,
*Seyyed Jafar Adnani Sadati^{4,5} 

1. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2. Department of Health Information Technology, School of Ferdows Paramedical, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
3. Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
4. Department of Microbiology Immunology and Parasitology, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.
5. Cellular and Molecular Research Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.



Citation Norouzi R, Siadatpanah A, Mirzaei F, Fateh R, Khalifeh-Gholi M, Adnani Sadati S J. [Evaluation of Antileishmania Effect of Methanolic Extract of Dandelion Root (Taraxacum Officinale) on Leishmania Major Promastigotes in Vitro (Persian)]. Qom University of Medical Sciences Journal. 2021; 15(9):590-597. <http://dx.doi.org/10.32598/qums.15.9.377.2>

 <http://dx.doi.org/10.32598/qums.15.9.377.2>



Received: 18 Sep 2021

Accepted: 22 Nov 2021

Available Online: 01 Dec 2021

Keywords:

Taraxacum, Leishmania Major, Poromastigote, Methanolic Extract, In Vitro Techniques

ABSTRACT

Background and Objectives Cutaneous leishmaniasis is one of the common diseases between humans and animals that is considered a health problem in Iran and many countries around the world. Currently, glucantime is used to treat cutaneous leishmaniasis. Due to its high side effects and resistance, the use of alternative therapies, especially plants and natural compounds, has been highly recommended by researchers. The aim of this study is to investigate the effect of the methanolic extract of dandelion root (Taraxacum officinale) on Leishmania major in vitro techniques.

Methods In this experimental study, the extract was prepared by the Soxhlet method and to evaluate the effect of methanolic extract of dandelion root on L. major parasite at concentrations of 300-1200 mg/ml. Amphotericin B and distilled water were considered as positive and negative controls, respectively. Then, 106 live parasites were added to all tubes, and all groups were kept at 25 ± 1 °C. At 24, 48, and 72 hours, the number of live parasites was counted by Trypan Blue using a neobar slide and light microscope (Hemocytometer method). Then Half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) value for the above extract was calculated using SigmaPlot™ 13 software. All steps of the experiment were done in triplicate and the results were considered as average.

Results The IC₅₀ content of methanolic extract of dandelion roots after 24, 48, and 72 hours on L. major were calculated to be 1.04, 0.9, and 0.68 µg/ml. The highest growth inhibition (100%) was observed at a concentration of 1200 µg/ml after 72 hours of exposure. There was a significant difference between the IC₅₀ extract and amphotericin B drug after 24, 48 and 72 hours (P<0.05).

Conclusion Methanolic extract of dandelion root in different concentrations has an inhibitory effect on the growth of L. major and it is suggested that more and more complete studies be performed on the components of this plant and the lethal effect of the parasite in vivo.

* Corresponding Author:

Seyyed Jafar Adnani Sadati, PhD

Address: Department of Microbiology, Immunology and Parasitology, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

Tel: +98 (913) 2819189

E-Mail: jafaradnani@yahoo.com, Jadanani@muq.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی اثر ضدلیشمانیایی عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک (*Taraxacum Officinale*) بر پروماستیگوت‌های *Leishmania Major* در محیط کشت آزمایشگاهی

رقیه نوروزی^۱، ابوالقاسم سیادت‌پناه^۲، فرزانه میرزایی^۳، روح‌الله فاتح^۴، محمد خلیفه قلی^۵، سید جعفر عدنانی ساداتی^۶

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲. گروه فناوری اطلاعات سلامت، دانشکده پیراپزشکی و بهداشت فردوس، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

۳. گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

۴. گروه میکروپزشناسی، ایمنی‌شناسی و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

۵. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۲۷ شهریور ۱۴۰۰

تاریخ پذیرش: ۰۱ آذر ۱۴۰۰

تاریخ انتشار: ۱۰ آذر ۱۴۰۰

زمینه و هدف: لیشمانیوز جلدی یکی از بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان است که به عنوان یک مشکل بهداشتی در ایران و بسیاری از کشورهای دنیا محسوب می‌شود. در حال حاضر، جهت درمان لیشمانیوز جلدی از گلوکانتیم استفاده می‌شود که با توجه به عوارض بالا و ایجاد مقاومت، استفاده از درمان جایگزین، مخصوصاً استفاده از گیاهان و ترکیبات طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است. هدف از این مطالعه، بررسی فعالیت ضدلیشمانیایی عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک (*Taraxacum Officinale*) بر پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در محیط کشت آزمایشگاهی است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، عصاره به روش سوکسله تهیه و برای بررسی اثر عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک، بر انگل لیشمانیا ماژور غلظت‌های ۱۲۰۰-۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر فراهم شد. آمفوتریسین B به عنوان کنترل مثبت و آب مقطر به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. سپس به تمام لوله‌ها ۱۰۶ عدد انگل زنده اضافه و تمام گروه‌ها در دمای 25 ± 1 درجه سانتی گراد نگهداری و در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تعداد انگل‌های زنده توسط تریپان بلو و با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری (روش Hemocytom-eter) شمارش انجام شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار SigmaPlot™ 13 میزان IC_{50} برای عصاره فوق محاسبه شد. تمام مراحل آزمایش در سه نوبت تکرار و نتایج به صورت میانگین در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: میزان IC_{50} عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک بعد از ۴۸، ۲۴ و ۷۲ ساعت بر پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور ۰/۶۸ و ۰/۹ و ۰/۱۰۴ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد. بالاترین درصد مهار رشد (۱۰۰ درصد)، در غلظت ۱۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بعد از ۷۲ ساعت مواجهه، مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک در غلظت‌های مختلف بر رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور اثر ممانعتی دارد و پیشنهاد می‌شود بررسی‌های بیشتر و کامل‌تری بر اجزای تشکیل‌دهنده این گیاه و اثر کشندگی انگل در شرایط درون‌تنی انجام شود.

کلیدواژه‌ها:

گیاه قاصدک، لیشمانیا ماژور، عصاره متانولی، پروماستیگوت، محیط کشت آزمایشگاهی

مقدمه

لیشمانیوز جلدی^۱ توسط لیشمانیا ماژور، لیشمانیا تروپیکا و لیشمانیا اتیوپیکا ایجاد می‌شود و عفونت معمولاً محدود به پوست و سیستم لنفاوی است [۱]. عامل لیشمانیوز در ایران، لیشمانیا ماژور (نوع روستایی) و لیشمانیا تروپیکا (نوع شهری) است که بیش از ۷۰ درصد موارد لیشمانیا ماژور است [۲].

لیشمانیوز، یکی از بیماری‌های عفونی است که توسط تک‌یاخته درون سلولی از جنس لیشمانیا ایجاد می‌شود [۱]. امروزه سالک در ۹۸ کشور جهان شایع است و حدود ۳۵۰ میلیون نفر در معرض خطر عفونت قرار دارند و سالانه ۱/۵ تا ۲ میلیون مورد جدید اتفاق می‌افتد [۲].

1. Cutaneous Leishmaniasis (CL)

* نویسنده مسئول:

دکتر سید جعفر عدنانی ساداتی

نشانی: قم، دانشگاه علوم پزشکی قم، دانشکده پزشکی، گروه میکروپزشناسی، ایمنی‌شناسی و انگل‌شناسی.

تلفن: +۹۸ (۹۱۳) ۲۸۱۹۱۸۹

رایانامه: jafaradnani@yahoo.com, Jadnani@muq.ac.ir

آن در دی متیل سولفوکساید^۲ ۲ درصد تهیه شد. عصاره‌های رقیق‌شده به وسیله فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرون با قطر ۲۵ میلی‌لیتر ساخت سارتریوس آلمان استریل شد.

کشت انگل لیشمانیا ماژور

پس از تهیه سویه استاندارد پروماستیگوت لیشمانیا ماژور^۳ (MRHO/IR/ER/70) از گروه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، آن را ابتدا در محیط کشت دو فازی Novy-MacNeal-Nicolle medium (N.N.N) کشت داده و برای تهیه تکثیر انبوه به محیط کشت سلولی RPMI 1640 (سیگما-آمریکا) که حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی^۴، صد میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین، ۱۰۰ IU/ml صد پنی‌سیلین (گیبکو-آمریکا) بود منتقل شد. فلاسک‌های محیط کشت داخل انکوباتور ۲۵±۱ درجه سانتی‌گراد منتقل و روزانه با میکروسکوب معکوس (اینورت) بررسی شد.

بررسی تأثیر عصاره متانولی گیاه قاصدک بر پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور و تعیین غلظت مهار میانه^۵

برای بررسی اثر مهاری رشد عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک، بر پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا ماژور، ۱۰۶ عدد انگل در فاز لگاریتمی، تحت مواجهه با غلظت‌های ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰، ۷۰۰، ۸۰۰، ۹۰۰، ۱۰۰۰، ۱۱۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، قرار گرفت. برای هر غلظت و نیز برای کنترل مثبت (آمفوتریسین ۴۰ B µg/ml) و کنترل منفی (آب مقطر)، سه فلاسک در نظر گرفته شد. تمام گروه‌ها در دمای ۲۵±۱ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، تعداد انگل‌های زنده توسط تریپان‌بلو و با استفاده از لام نتوبار و میکروسکوپ نوری (به روش Hemocytometer) شمارش شد. میزان مهار رشد برای هریک از غلظت‌های مختلف عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک بر پروماستیگوت‌های انگل توسط فرمول زیر محاسبه شد:

$$GI = (a-b/a)$$

a: تعداد انگل‌های زنده در نمونه کنترل منفی.

b: تعداد انگل‌های زنده در نمونه حاوی عصاره متانولی گیاه قاصدک است [۷].

در این مطالعه، کلیه داده‌ها در نرم‌افزار اکسل وارد شد تا نتایج حاصل از آن به عنوان میانگین و انحراف معیار گزارش شود و از نرم‌افزار SigmaPlot™ 13 برای محاسبه میزان حداقل غلظتی از عصاره که باعث مهار رشد ۵۰ درصدی و غلظت مهار میانه ۵۰ درصدی انگل می‌شود، استفاده شده است.

لیشمانیوز جلدی روستایی، بیماری مشترک انسان و حیوان بوده و نوع شهری انسان‌دوست است [۴]. ترکیبات آنتیموانی اولین خط دفاعی در درمان لیشمانیوز هستند، ولی این داروها سمیتی ذاتی داشته و نیاز به تکرار تزریق دارند. دُزهای بالای آن نیز منجر به بروز عوارض جانبی مانند اختلالات کبدی، قلبی، کلیوی و تغییرات بیوشیمیایی می‌شود و از طرفی، مقاومت انگل را به‌طور مداوم افزایش می‌دهد [۵]؛ بنابراین ابداع و ارزیابی روش‌های مؤثر درمانی که عوارض کمتر و بهبود سریع‌تر زخم را به دنبال داشته باشد، لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

محققین سال‌هاست که در تلاش هستند تا از داروها و اجزای گیاهی برای درمان لیشمانیوزیس استفاده کنند. یکی از این گیاهان، گل قاصدک است که با نام علمی Taraxacum officinale شناخته می‌شود و در طب سنتی به طَرِ خَشَقُون یا طَرِ شَقُوق معروف است. ریشه این گیاه دارای ماده‌ای تلخ به نام تراگزاسین، کولین، تاراگزاسترول، کمی تانن و نوعی الکلوفید به نام تاکزین و تاراگزول است. ضمناً این گیاه دارای ساپونین، قندهای مختلف و اسیدهای چرب است. مهم‌ترین اثرات این گیاه عبارت‌اند از: رفع مسمومیت، کاهش کلسترول خون، درمان کم‌خونی خلط‌آور، جلوگیری از عفونت‌های میکروبی و قارچی است [۶].

با توجه به خواص مختلف این گیاه و عدم مطالعه آن بر پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور، این مطالعه برای اولین بار با هدف بررسی فعالیت ضدلیشمانیایی عصاره متانولی ریشه گیاه گل قاصدک بر انگل لیشمانیا ماژور در محیط کشت آزمایشگاهی انجام شد.

روش بررسی

تهیه گیاه و عصاره‌گیری

این تحقیق به روش تجربی و در شرایط برون‌تنی انجام گرفت. در این بررسی گیاه گل قاصدک از شهرستان یزد جمع‌آوری و در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یزد، توسط متخصص گیاه‌شناس تأیید شد. جهت تهیه عصاره متانولی، ریشه گیاه قاصدک، در سایه و در دمای اتاق خشک شد. سپس به شکل پودر درآمده و از الک عبور داده شد. دویست گرم از آن را در چهارصد میلی‌لیتر متانول حل کرده و با استفاده از دستگاه سوکسله به مدت چهار ساعت عصاره‌گیری انجام گرفت.

در مرحله بعد، عصاره به‌دست‌آمده با استفاده از دستگاه تقطیر در خلأ و در دمای ۳۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد تا حلال آن تبخیر شده و عصاره تغلیظ شود. عصاره تا زمان استفاده در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه غلظت‌های مختلف عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک

از عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک، غلظت‌های ۱۲۰۰-۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با وزن کردن ماده خشک و حل کردن

2. Dimethyl sulfoxide (DMSO)
3. Leishmania major
4. Fetal Bovine Serum (FBS)
5. Inhibitory concentration (IC50)

جدول ۱. میانگین تعداد انگل‌های لیشمانیا در زمان‌های مورد بررسی در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های مختلف عصاره ریشه قاصدک

P	میانگین $\pm$ انحراف معیار			غلظت (میلی گرم بر میلی لیتر)
	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت	
<.۰۰۰۰۱	۱۵۴۴۶۵/۷۱	۳۸۴۹۸۵/۱۹	۱۲۴۱۰۸۹/۲۸	۳۰۰
<.۰۰۰۰۱	۳۱۴۳۵۷	۱۴۴۲۷۵۶/۷۳	۱۱۴۱۰۰۰/۷۱	۴۰۰
<.۰۰۰۰۱	۱۴۴۳۶۰۴/۱۰	۱۶۴۲۳۳۳/۸۲	۱۵۴۹۰۶/۵۳	۵۰۰
<.۰۰۰۰۱	۲۷۴۲۸۵۱/۸۳	۱۴۴۲۲۰۶/۲	۱۰۴۸۵۳/۳۴	۶۰۰
<.۰۰۰۰۱	۱۲۴۲۳۱۳/۵۲	۱۰۴۱۹۴۷/۳۴	۷۴۷۷۴/۵۴	۷۰۰
<.۰۰۰۰۱	۱۲۴۱۸۸۳/۵۳	۲۲۴۱۵۶۳/۵۴	۶۴۶۹۶/۵۵	۸۰۰
<.۰۰۰۰۱	۱۶۴۱۱۳۹/۸۲	۱۴۴۱۲۶۷/۷۳	۸۴۶۱۷/۸۹	۹۰۰
<.۰۰۰۰۱	۱۴۴۵۳۸/۷۳	۱۴۴۸۴۳/۱۷	۷۴۴۹۴/۹۳	۱۰۰۰
<.۰۰۰۰۱	۱۰۴۱۶۱/۸۱	۱۰۴۵۵۱/۱۴	۶۴۳۴۸/۲۴	۱۱۰۰
۰۰۰۳۵۷	۰	۱۱۴۶۴/۷۸	۵۴۲۱۳/۲۹	۱۲۰۰
	۵۰۴۵۳۸۰/۲۶	۱۸۴۳۴۵/۰۸	۱۱۴۱۱۳۳	کنترل منفی
	۰	۰	۰	کنترل مثبت


 مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

یافته‌ها

لیشمانیوز به عنوان یک مشکل بهداشتی در ایران و بسیاری از کشورهای خاورمیانه، آفریقا، آسیای مرکزی، آمریکای جنوبی و... مطرح است [۸]. در حال حاضر، جهت درمان لیشمانیوز جلدی از گلوکانتیم استفاده می‌شود که با توجه به عوارض بالا و شیوع مقاومت نسبت به این دارو در بسیاری از کشورها، مطالعاتی جهت جایگزینی آن با داروهای دیگر در حال انجام است. تاکنون تأثیر تعداد زیادی از گیاهان دارویی بر پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا مازور مطالعه شده است.

یافته‌های این تحقیق نشان داد که عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک، به‌طور معناداری سبب کاهش تعداد انگل بر حسب زمان و غلظت شد. اثر کشندگی عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک در غلظت ۱۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر پس از ۷۲ ساعت مجاورت با پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا مازور ۱۰۰ درصد بود.

نتایج بررسی میرزایی و همکاران نشان داد که بخش بوتانول گیاه کلوس^۶ بالاترین اثر ضدلیشمانیایی را علیه آماستیگوت‌ها و پروماستیگوت‌های لیشمانیا مازور دارد. غلظت ۱۲۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر، ۹۴ درصد مهار رشد پروماستیگوت‌ها و ۱۰۰ درصد مهار رشد آماستیگوت‌ها را نشان داد و غلظت مهار میانه در پروماستیگوت و آماستیگوت‌ها به ترتیب ۳۶۴/۱ و ۱۵۴/۱ میکروگرم بر میلی لیتر بود [۷].

تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک (۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰، ۷۰۰، ۸۰۰، ۹۰۰، ۱۰۰۰، ۱۱۰۰ و ۱۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) بعد از ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت مجاورت با پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا مازور در شرایط آزمایشگاهی مطالعه شد. آزمون آنالیز واریانس مشاهدات تکرار شده نشان داد که با توجه به اثرات متفاوت عصاره روند کاهش معناداری گیاه قاصدک در تعداد انگل‌های لیشمانیا بر حسب زمان وجود دارد ($P < 0.05$). میزان غلظت مهار میانه بعد از ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بر انگل لیشمانیا مازور ۱/۰۴، ۱/۹ و ۰/۶۸ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد. بالاترین مهار رشد (۱۰۰ درصد)، در غلظت ۱۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بعد از ۷۲ ساعت مواجهه مشاهده شد.

تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک، بر پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا مازور بعد از ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت آنکوباسیون در جدول شماره ۱ و میانگین درصد کشندگی عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک بر پروماستیگوت‌های لیشمانیا مازور در جدول شماره ۲ و تصویر شماره ۱ نشان داده شده است.

بحث

لیشمانیوز جلدی، یکی از بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان است و از طریق نیش پشه خاکی به انسان منتقل می‌شود.

6. Kelussia odoratissima Mozaff

جدول ۲. درصد مهار رشد غلظت‌های مختلف عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک، بر پروماستیگوت‌های انگل لیشرمانیا مازور بعد از ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون

میانگین $\pm$ انحراف معیار			غلظت (میلی گرم بر میلی لیتر)
۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت	
۱۷/۱ $\pm$ ۲۳/۱۶	۸ $\pm$ ۲/۴۶	۳ $\pm$ ۱/۴۹	۳۰۰
۱۹/۱ $\pm$ ۲/۲۸	۱۵ $\pm$ ۲۸/۸۳	۱۶/۱ $\pm$ ۰/۲/۷۲	۴۰۰
۳۳ $\pm$ ۳/۵۷	۲۵/۱ $\pm$ ۲۳/۴۶	۱۹ $\pm$ ۱۸/۸۳	۵۰۰
۴۷ $\pm$ ۳۲/۴۸	۳۱/۱ $\pm$ ۹۵/۸۲	۲۴ $\pm$ ۱/۶۳	۶۰۰
۵۷/۱ $\pm$ ۳/۲۴	۴۰/۱ $\pm$ ۴/۰۸	۳۰/۱ $\pm$ ۹/۶۵	۷۰۰
۶۵ $\pm$ ۲۳/۸۵	۵۱/۱ $\pm$ ۷/۰۳	۳۸/۱ $\pm$ ۲/۹۸	۸۰۰
۷۹ $\pm$ ۴/۹۵	۶۰/۱ $\pm$ ۹/۵	۴۵ $\pm$ ۳/۴۸	۹۰۰
۹۰/۱ $\pm$ ۴/۱/۵۲	۷۴/۱ $\pm$ ۱/۶۹	۵۶/۱ $\pm$ ۳/۴۴	۱۰۰۰
۹۷ $\pm$ ۴۸/۵۳	۸۲ $\pm$ ۹۱/۷۵	۶۹/۱ $\pm$ ۱/۱۷	۱۱۰۰
۱۰۰	۹۸ $\pm$ ۳۸/۷۴	۸۱/۱ $\pm$ ۶/۱۵	۱۲۰۰
۰	۰	۰	کنترل منفی
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	کنترل مثبت

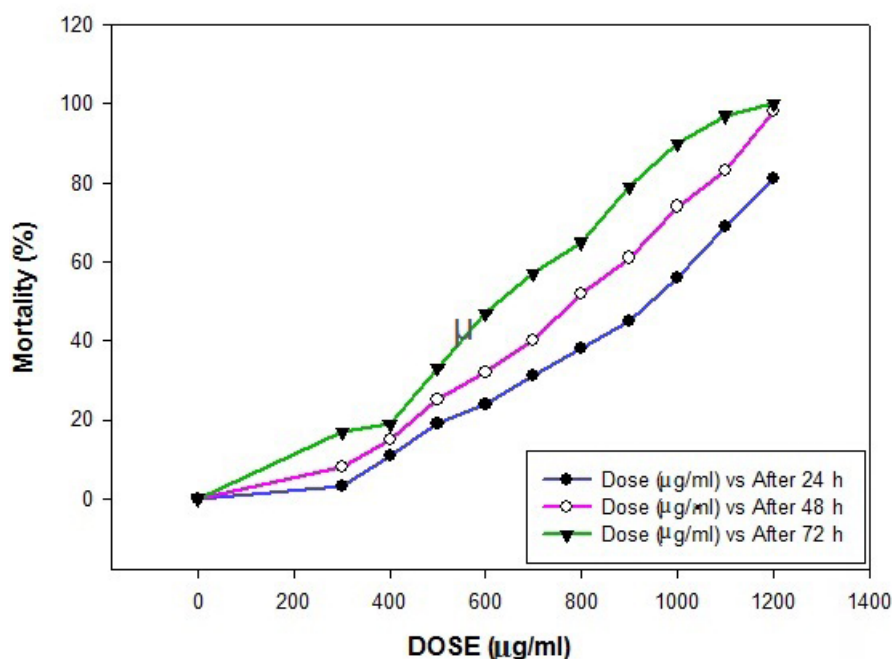
براتی و همکاران، اثر ضدلیشمانیایی عصاره‌های آویشن شیرازی، اسپند و مورد را بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که غلظت مهار میانه عصاره‌های آویشن شیرازی، اسپند و مورد به ترتیب ۷/۴، ۷/۲ و ۵/۸ میلی گرم بر میلی لیتر است و هر سه عصاره تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر مهار رشد پروماستیگوت‌های لیشرمانیا مازور دارد [۱۱]. مقایسه غلظت مهار میانه این مطالعه با نتایج ما نشان می‌دهد که عصاره ریشه گیاه قاصدک، مؤثرتر از عصاره‌های گیاهان آویشن شیرازی، اسپند و مورد است.

در مطالعه دیگری که براتی و همکاران انجام دادند و تأثیر عصاره‌های درمنه کوهی، آنقوزه و قوزه پنبه را بر رشد پروماستیگوت‌های لیشرمانیا مازور در شرایط آزمایشگاهی بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که هر سه عصاره گیاهی از رشد پروماستیگوت‌ها پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون جلوگیری کرد و غلظت مهار میانه عصاره‌های درمنه کوهی، آنقوزه و قوزه پنبه به ترتیب ۳/۶، ۵/۹ و ۷/۵ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد [۱۲]. میزان غلظت مهار میانه مطالعه ما ۱/۰۴، ۰/۹ و ۰/۶۸ میلی گرم بر میلی لیتر است که مقایسه غلظت مهار میانه این مطالعه با نتایج ما نشان می‌دهد که عصاره ریشه گیاه قاصدک، مؤثرتر از عصاره‌های درمنه کوهی، آنقوزه و قوزه پنبه است.

در پژوهشی دیگر، قریوند اسکندری و همکاران، تأثیر ضدلیشمانیایی عصاره الکلی برگ‌های گیاه یونجه سیاه را بر پروماستیگوت‌های لیشرمانیا مازور بررسی کردند و پژوهش آن‌ها

میزان غلظت مهار میانه در مطالعه ما ۱/۰۴، ۰/۹ و ۰/۶۸ میلی گرم بر میلی لیتر است که مقایسه غلظت مهار میانه این مطالعه با نتایج ما نشان می‌دهد که عصاره ریشه گیاه قاصدک مؤثرتر از گیاه کلوس است. شریعتی‌فر و همکاران تأثیر عصاره‌های هیدروالکلی و عصاره آبی زردچوبه و شیرین بیان را بر انگل لیشرمانیا مازور در محیط کشت بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که غلظت دو میلی گرم بر میلی لیتر عصاره زردچوبه، باعث کشته شدن سریع تمام پروماستیگوت‌ها می‌شود و غلظت‌های یک و ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر گیاه شیرین بیان اثری مشابه شاهد منفی داشته است. نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره هر دو گیاه زردچوبه و شیرین بیان در غلظت‌های به کار رفته در محیط کشت، اثر ضدلیشمانیایی دارند، ولی اثر شیرین بیان در مقایسه با زردچوبه خیلی کمتر است و در دُزهای بالاتری انگل را از بین می‌برد [۹].

در مطالعه‌ای که توسط حجازی و همکاران در خصوص درمان لیشرمانیوز پوستی به روش گیاه درمانی در مدل حیوانی با استفاده از عصاره هیدروالکلی حنا، سیر، آویشن و بومادران صورت گرفت، نشان داد که پس از سه هفته از پایان دوره درمان، عصاره هیدروالکلی آویشن و بومادران در التیام زخم تأثیر خوبی داشتند، ولی گیاه حنا و سیر اختلاف معناداری بین میانگین قطر زخم‌ها بین گروه تحت درمان با عصاره‌های گیاهی و گروه تحت درمان با گلوکانتیم نشان نداد [۱۰].



مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

تصویر ۱. میانگین درصد مهاری رشد عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک بر پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا ماژور

در پژوهشی دیگر، دلیمی و همکاران، پروماستیگوت و آماسیتیگوت‌های لیشمانیا ماژور را در محیط کشت سلولی RPMI تحت تأثیر عصاره آبی گیاه درمنه و تشنه‌داری قرار داده و مشاهده کردند که غلظت‌های ۲۰ درصد و ۲۵ درصد درمنه، پروماستیگوت‌ها را در همان روز اول به‌طور کامل از بین بردند. در حالی که تشنه‌داری در غلظت ۲۵ درصد و در روز سوم باعث مرگ انگل شد. کاهش رشد انگل در محیط کشت سلولی RPMI تحت تأثیر درمنه در هر سه غلظت به‌طور معناداری بیشتر از تشنه‌داری بود. غلظت‌های ۲۰ درصد درمنه در روز دوم و غلظت ۲۵ درصد تشنه‌داری در روز سوم باعث از بین بردن کامل آماسیتیگوت‌های لیشمانیا ماژور درون ماکروفاژ شد [۱۷].

مقاویه بودن نتایج این بررسی با بررسی ما، ناشی از متفاوت بودن نوع عصاره‌ها و تفاوت در واحدهای اندازه‌گیری مانند میکروگرم و درصد است. پیرعلی خیرآبادی و همکاران، در یک مطالعه تجربی اثرات اسانس‌های گیاهان مرزه و سیاه‌دانه بر فرم پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور بررسی کردند. ارزیابی آن‌ها نشان داد که بین گروه‌های دریافت‌کننده اسانس‌های مرزه و سیاه‌دانه با داروی گلوکانتیم، اختلاف معناداری در کاهش تعداد انگل وجود داشت ($P < 0.05$) [۱۸].

اوگتو و همکاران فعالیت ضدلیشمانیایی گیاه آلوتورا را بر پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. غلظت مهاری برای عصاره متانولی و آبی به ترتیب ۴۲/۸۲۵ و ۲۷۹/۴۸۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود [۱۹]. در مطالعه ساوادوگو و همکاران، با استفاده از روش‌های اسپکتوفتومتری و

نشان داد که غلظت مهاری عصاره در شرایط آزمایشگاهی بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۱۶۵، ۹۸ و ۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای داروی گلوکانتیم نیز برابر با ۲۷، ۱۲ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد و بین غلظت مهاری عصاره و داروی گلوکانتیم بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اختلاف معناداری وجود داشت ($P < 0.05$) [۱۳].

مقایسه غلظت مهاری عصاره این مطالعه با نتایج ما نشان می‌دهد که عصاره ریشه گیاه قاصدک، مؤثرتر از عصاره الکلی برگ‌های گیاه یونجه سیاه است و البته متفاوت بودن نتایج این بررسی و بررسی ما، ناشی از متفاوت بودن در واحدهای اندازه‌گیری مانند میکروگرم و میلی‌گرم است.

در بررسی ناصری‌فر و همکاران، غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی گیاه تشنه‌داری (گیاه اسکروفولاریا استریاتا) در روز سوم، باعث مرگ پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در محیط کشت سلولی RPMI شده است ($P < 0.05$) [۱۴]. در مطالعه دیگری که توسط باقریان و همکاران، بر انگل در شرایط برون‌تنی انجام شد، نشان داد که غلظت ۴/۱۱ میکروگرم بر میلی‌گرم عصاره گیاه سیر در زمان ۴۸ ساعت باعث مهاری رشد آماسیتیگوت‌های لیشمانیا ماژور شد [۱۵].

سوزنگر و همکاران، تأثیر عصاره‌های ابوخلسا و بومادران را بر رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که روند کاهشی معناداری در تعداد انگل لیشمانیا بر حسب زمان وجود دارد [۱۶].

7. *Scrophularia striata*

کلریمتری به این نتیجه رسیدند که عصاره لانتانا^۸، فعالیت ضدلشمانیایی با غلظت مهار میانه برابر با ۹/۶ است [۲۰]. بررسی متفاوت بودن نتایج، ناشی از تفاوت میان گیاهان، نوع عصاره‌ها و واحدهای اندازه‌گیری مانند میکروگرم، میلی گرم و غیره است.

نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد که تمام غلظت‌های عصاره متانولی ریشه گیاه قاصدک، بر رشد پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا ماژور اثر ممانعتی دارند و بالاترین مهارت رشد (۱۰۰ درصد)، در غلظت ۱۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بعد از ۷۲ ساعت مواجهه، مشاهده شد. با توجه به شیوع لیشمانیازیس و عوارض جانبی داروی‌های مؤثر بر لیشمانیا، باید تحقیقات بیشتر و کامل‌تری روی اجزای تشکیل‌دهنده این گیاه و بررسی اثر کشندگی انگل در شرایط درون‌تنی انجام شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکتری عمومی محمد حسن نیکخواه با کد اخلاق IR.MUQ.REC.1400.034 انجام شده است.

حامی مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت‌نویسندگان

نویسندگان در این مطالعه به شکل مساوی مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی قم بابت حمایت مادی و معنوی تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

- [1] Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. *Lancet*. 2005; 366(9496):1561-77. [DOI:10.1016/S0140-6736(05)67629-5] [PMID]
- [2] McGwire BS, Satoskar AR. Leishmaniasis: Clinical syndromes and treatment. *QJM*. 2014; 107(1):7-14. [DOI:10.1093/qjmed/hct116] [PMID] [PMCID]
- [3] Piroozi B, Moradi G, Alinia C, Mohamadi P, Gouya MM, Nabavi M, et al. Incidence, burden, and trend of cutaneous leishmaniasis over four decades in Iran. *Iran J Public Health*. 2019; 48(S1):28-35. <https://ijph.tums.ac.ir/index.php/ijph/article/view/16417>
- [4] Gabriel Á, Valério-Bolas A, Palma-Marques J, Mourata-Gonçalves P, Ruas P, Dias-Guerreiro T, et al. Cutaneous leishmaniasis: The complexity of host's effective immune response against a polymorphic parasitic disease. *J Immunol Res*. 2019; 2019:2603730. [DOI:10.1155/2019/2603730] [PMID] [PMCID]
- [5] Firooz A, Mortazavi H, Khamesipour A, Ghiasi M, Abedini R, Balighi K, et al. Old world cutaneous leishmaniasis in Iran: Clinical variants and treatments. *J Dermatolog Treat*. 2021; 32(7):673-83. [DOI:10.1080/09546634.2019.1704214] [PMID]
- [6] Martinez M, Poirrier P, Chamy R, Prüfer D, Schulze-Gronover C, Jorquera L, et al. Taraxacum officinale and related species-An ethnopharmacological review and its potential as a commercial medicinal plant. *J Ethnopharmacol*. 2015; 169:244-262. [DOI:10.1016/j.jep.2015.03.067] [PMID]
- [7] Norouzi R, Adnani Sadati J, Yaghoobian R, Mirzaei F, Fateh R, Siadatpanah A. [Evaluation of antitrichomonal effect of methanolic extract of hyssopus officinalis on trichomonas vaginalis in vitro (Persian)]. *Qom Univ Med Sci J*. 2021; 14(12):14-21. [DOI:10.52547/qums.14.12.14]
- [8] Mirzaei F, Norouzi R, Siyatpanah A, Mitsuwan W, Nilforoushzadeh M, Maleksabet A, et al. Butanol Fraction of Kelussia odoratissima Mozaff Inhibits the Growth of Leishmania major Promastigote and Amastigote. *World Vet J*. 2020; 10(2):254-9. [DOI:10.36380/scil.2020.wvj33]
- [9] Shariatifar N, Chamanzari H, Ghanay MS. [The study of Flos plant on promastigote in culture (Persian)]. *Horizon Med Sci*. 2006; 11:5-9. <http://hms.gmu.ac.ir/article-1-196-en.html>
- [10] Hejazi SH, Shirani-Bidabadi L, Zolfaghari- Baghbaderani A, Saberi S, Nilforoushzadeh MA, Moradi SH. [Comparison effectiveness of extracts of Thyme, Yarrow, Henna and Garlic on cutaneous leishmaniasis caused by L. major in animal model (balb/c) (Persian)]. *J Med Plants*. 2009; 8(30):129-36. [DOI:10.1001.1.2717204.2009.8.30.14.7]
- [11] Barati M, Sharifi I, Sharififar F. [In vitro evaluation of antileishmanial activities of Zataria Multiflora Boiss, Peganum Harmala and Myrtus Communis by colorimetric assay (Persian)]. *J Kerman Univ Medical Sci*. 2010; 16(1):32-42. http://jkmu.kmu.ac.ir/article_17245.html
- [12] Barati M, Sharifi I, Sharififar F, Hakimi Parizi M, Shokri A. Anti-leishmanial activity of gossypium hirsutum L., Ferula assafoetida L. and Artemisia aucheri Boiss. Extracts by colorimetric assay. *Antiinfect Agents*. 2014; 12(2):159-64. [DOI:10.2174/22113525113119990005]
- [13] Gharivand Eskandari E, Doudi M, Shoaee P, Ghaffari S, Yaran M. Evaluation of antileishmanial activity of the hydroalcoholic extract of medicago lupulina' leaves against leishmania major (MHOM/IR/75/ER) promastigotes by using MTT and microscopy method and GC/MS for hydroalcoholic extract of this plant' leaves. *J Med Plants*. 2017; 16(61):77-93. [DOI:10.1001.1.2717204.2017.16.61.23.4]
- [14] Naserifard R, Dalimi Asl A, Ahmadi N. [Influence of aqueous extract Scophularia striata on growth of Leishmania major in mice peritoneal macrophages (BALB / c) (Persian)]. *Res Med*. 2013; 36(5):12-8. http://pejouhesh.sbmu.ac.ir/browse.php?a_id=1097&sid=1&slc_lang=en
- [15] Bagherian A, Abbaspour H, Saeidisar S, Mirzaei M, Mirzaei HR, Mirzaei H. [The effect of garlic extract on Leishmania major Amastigotes: In vitro and in vivo studies (Persian)]. *Res Med*. 2015; 38(4):181-6. <http://pejouhesh.sbmu.ac.ir/article-1-1269-en.html>
- [16] Sozangar N, Jeddi F, Reaghi S, Khorrami S, Arzamani K. [Abulkhalsa and yarrow plant effect on Leishmania major in vitro (Persian)]. *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2012; 4(3):329-33. [DOI:10.29252/jnkums.4.3.329]
- [17] Dalimi A, Arbabi M, Naserifar R. The effect of aqueous extraction of Artemisia sieberi Besser and Scrophularia striata Boiss. on Leishmania major under in vitro conditions. *Iran J Med Aromat Plants Res*. 2013; 29(1):237-46. [DOI:10.22092/IJMAPR.2013.2904]
- [18] Pirali-Kheirabadi K, Dehghani-Samani A, Adel M, Hoseinpour F. [The effect of essential oil of Nigella sativa and Satureia hortensis on Promastigot stage of Lishmania Major (Persian)]. *Armaghan-e-Danesh*. 2013; 18(9):687-98. <http://armaghanj.yums.ac.ir/article-1-475-en.html>
- [19] Ogeto TK, Odhiambo RA, Shivairo RS, Muleke CI, Osero BO, Anjili C, et al. Antileishmanial activity of Aloe Secandiflora plant extracts against Leishmania Major. *Adv Life Sci Tech*. 2013; 13:9-18. <https://iiste.org/Journals/index.php/ALST/article/view/8085>
- [20] Sawadogo WR, Le Douaron G, Maciuk A, Bories C, Loiseau PM, Figadère B, et al. In vitro antileishmanial and antitrypanosomal activities of medicinal plants From Burkina Faso. *Parasitol Res*. 2012; 110(5):1779-83. [DOI:10.1007/s00436-011-2699-3] [PMID]