



فصل نامه‌ی داروهای گیاهی

journal homepage: www.journal.iaushk.ac.ir



تأثیر عصاره‌ی متانولی درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.) بر بهبود

زخم‌های پوستی ایجاد شده با انگل لیشمانیا ماژور در Balb/c

معصومه رستمی^{۱*}، حسین نهروانیان^۲، مهین فرهمند^۲، هاجر ضیایی^۳، مهدی شریف^۳،

فاطمه صغری مقصدولو راد^۱

۱. گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران؛

*مسئول مکاتبات (E-mail: Rostami@goums.ac.ir)

۲. بخش انگل شناسی، انستیتو پاستور، تهران، ایران؛

۳. گروه انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران؛

چکیده

مقدمه و هدف: تحقیقات متعددی بر روی خواص ضد میکروبی گیاه درمنه *Artemisia aucheri* انجام شده است. با توجه به شیوع لیشمانیوز جلدی در مناطق مختلف جهان و ایران و نظر به این که ترکیبات پنج ظرفیتی آنتی موان که برای درمان این بیماری به کار می رود دارای عوارض جانبی متعددی می باشد، استفاده از گیاهان دارویی مورد تأکید قرار گرفته است. این تحقیق به منظور بررسی تأثیر عصاره متانولی گیاه دارویی درمنه کوهی بر روی زخم های حاصل از لیشمانیا ماژور در موش آزمایشگاهی نژاد Balb/c انجام گرفت.

روش تحقیق: در این بررسی موش‌ها به ۵ دسته (در هر دسته ۵ سر) شامل گروه شاهد سالم، گروه شاهد آلوده، گروه دریافت کننده گلوکانتیم، گروه دریافت کننده عصاره گیاهی و گروه دریافت کننده سرم فیزیولوژی تقسیم شدند. به تمامی گروه‌ها به جز گروه شاهد سالم، به میزان 2×10^6 از پروماستیگوت های انگل گونه لیشمانیا ماژور MRHO/IR/75/ER به صورت زیر جلدی در قسمت قاعده دم تزریق گردید. پس از ایجاد زخم، ابعاد زخم هر هفته در طی دوره درمان اندازه گیری شد. در پایان دوره، تمامی موش‌ها با در نظر گرفتن ملاحظات اخلاقی از بین رفتند و اندام‌های داخلی آن‌ها از جمله کبد، طحال و غدد لنفاوی جدا گردید و گسترش‌های تهیه شده از آن‌ها از نظر میزان تأثیر عصاره گیاهی بر میزان انگل مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث: عصاره گیاهی مورد نظر می تواند بر روی اندازه زخم، شدت عفونت در ضایعه و هم‌چنین احشایی شدن انگل تأثیر مطلوب بگذارد. این مطالعه برای اولین بار احشایی شدن انگل لیشمانیا ماژور را در موش Balb/c گزارش می‌کند. در طی این مطالعه عوارض جانبی در گروه تحت درمان با عصاره گیاهی مشاهده نشد. گسترش‌های به‌دست آمده از اندام‌های طحال، کبد و غدد لنفاوی نشان دهنده کاهش بار انگل در این اندام‌ها می باشد. عصاره متانولی گیاه درمنه کوهی در مقایسه با گلوکانتیم به عنوان داروی انتخابی درمان لیشمانیا، در مدل لیشمانیوز موشی بسیار موثرتر بود. بنابراین این ترکیب می‌تواند به عنوان یک جانشین مناسب گلوکانتیم در درمان لیشمانیوز در انسان و حیوان معرفی گردد.

توصیه کاربردی/ صنعتی: تأثیر ترکیب گیاهی مورد نظر جهت درمان زخم سالک بیشتر از داروی گلوکانتیم بود. لذا این تحقیق به عنوان یک گام در معرفی خواص این گیاه آن را به عنوان یک ترکیب مناسب جایگزین داروی گلوکانتیم در درمان لیشمانیوز پوستی مطرح می نماید

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۶/۰۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۰۷/۲۰

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: فارماکولوژی

کلید واژگان:

- ✓ آرتمیزینین
- ✓ درمنه کوهی
- ✓ سالک

۱. مقدمه

(Negahbana et al., 2006) و وفور آن در مناطق مختلف کشور (آیت الهی، ۱۳۷۸) در این بررسی اثرات غلظت های مختلف عصاره گیاهی درمنه به شکل موضعی بر روی زخم های ناشی از لیشمانیا ماژور در موش های Balb/c مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش ها

این مطالعه با طراحی تجربی در بخش انگل شناسی انستیتو پاستور تهران صورت گرفت. گیاه مورد استفاده در این بررسی درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*)، در 4 غلظت متفاوت در پایه ای الکل تهیه گردید. غلظت های مورد نظر در ظروف شیشه ای کهربایی رنگ که بر روی هریک از ظروف بسته بندی، نام دارو، غلظت تهیه شده و تاریخ ساخت قید گردیده بود در دمای 4 درجه- ی سانتی گراد نگهداری گردید. به منظور آلوده نمودن حیوانات با انگل لیشمانیا ماژور به صورت تجربی، از سویه ی انگلی MRHO/IR/75/ER(IR/75) متعلق به بخش انگل شناسی انستیتو پاستور تهران استفاده گردید. از محیط مایع 1640 RPMI با استفاده از سرنگ انسولین، از انگل های در فاز ایستا 0/1 میلی لیتر از محلول به قاعده ی دم هر یک از موش های Balb/c انتخاب شده برای هر گروه به صورت زیرجلدی تزریق گردید. پس از گذشت حدود 30 روز زخم در قاعده ی دم موش ها ایجاد می- گردد. نمونه گیری از زخم ها و بررسی میکروسکوپی اسلایدهای تهیه شده، موید آلوده بودن زخم به انگل بود. در این بررسی موش ها به 7 گروه (در هر گروه 5 سر موش) تقسیم شدند. این گروه ها شامل 3 گروه شاهد و 4 گروه مورد بودند که عبارت بود از گروه 1 (گروه شاهد سالم)، گروه 2 (گروه مورد آلوده به انگل لیشمانیا ماژور و دریافت کننده عصاره با غلظت 0.09 mg/kg)، گروه 3 (گروه مورد آلوده به انگل لیشمانیا ماژور و دریافت کننده عصاره با غلظت 0.36 mg/kg)، گروه 4 (گروه مورد آلوده به انگل لیشمانیا ماژور و دریافت کننده عصاره با غلظت 1.44 mg/kg)، گروه 5 (گروه مورد آلوده به انگل لیشمانیا ماژور و دریافت کننده عصاره با غلظت 2.88 mg/kg)، گروه 6 (گروه شاهد آلوده به انگل لیشمانیا ماژور و دریافت کننده سرم فیزیولوژی)، گروه 7 (گروه شاهد آلوده به انگل لیشمانیا ماژور و دریافت کننده داروی گلوکانتیم 28 mg/kg)

بیماری لیشمانیوز دارای تظاهرات بالینی متفاوتی می باشد. یکی از فرم های این بیماری، لیشمانیوز جلدی نام دارد. سالک یا لیشمانیوز جلدی از دسته بیماری های انگلی شایع است که توسط پشه خاکی منتقل شده و در بسیاری از کشورهای گرمسیر و نیمه گرمسیری جهان نیز شیوع دارد. تخمین زده می شود که حدود 12 میلیون مورد لیشمانیوز جلدی در نقاط مختلف جهان وجود داشته باشد و 350 میلیون نفر نیز در معرض ابتلا به این بیماری قرار دارند. در حال حاضر 88 کشور جهان به لیشمانیوز جلدی آلوده هستند. سالیانه حدود 20000 مورد لیشمانیوز جلدی از نقاط مختلف ایران گزارش می شود که میزان واقعی آن را چندین برابر میزان گزارش شده تخمین می زنند (محبعلی، ۱۳۷۵). متأسفانه بر خلاف شیوع قابل توجه این بیماری در ایران، هنوز روش پیش- گیری، کنترل و درمان مناسبی وجود ندارد (صائبی، ۱۳۸۴).

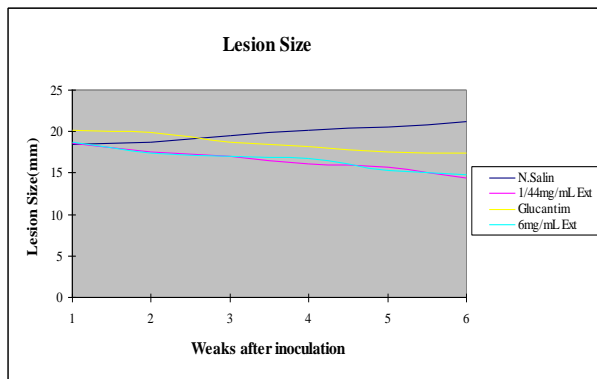
در حال حاضر تحقیقات وسیعی بر روی روش های درمانی لیشمانیوز در حال انجام است. در طب سنتی ایران از گیاهان دارویی برای درمان یا کاهش سطح ضایعه لیشمانیوز جلدی استفاده شده است (امین، ۱۳۸۷).

اثرات ضد انگلی گیاه دارویی درمنه در درمان عفونت کرم های روده ای و همچنین بیماری مالاریا و عفونت های قارچی به اثبات رسیده است (میرحیدر، ۱۳۸۰؛ Negahbana et al., 2006; Farzaneh et al., 2006; Giao et al., 2001).

گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) گیاهی است بوته ای که متعلق به خانواده Asteraceae می باشد. بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیقات، ۱۷ ترکیب عمده در روغن اسانس این گیاه شناسایی و تعیین گردیده است. روغن های اصلی این گونه بر روی عفونت های *Trichomonas vaginalis* مؤثر می باشد. نتایج تحقیقات نشان داده است که این گونه دارای خاصیت ضد قارچی می باشد. همچنین بررسی ها نشان داد که درمنه کوهی دارای شش نوع مونوترپن می باشد (ابرسجی و اکبر پور ۱۳۸۷). با توجه به اهمیت درمان لیشمانیوز جلدی و همچنین اثرات انگل کشی و غیر سمی بودن گیاه درمنه در درمان عفونت های انگلی و قارچی (Giao et al., 2001; Farzaneh et al., 2006;

تأثیر به روش خوراکی، طولانی بودن دوره‌ی درمان و عدم پاسخ درمانی می باشند (Francis et al., 1999)

در پایان دوره درمان در بین ۷ گروه مورد مطالعه، کاهش‌ی در قطر زخم‌های متعلق به گروه ۶ (گروه شاهد آلوده به انگل لیشمانیا ماژور و دریافت کننده سرم فیزیولوژی) مشاهده نگردید. از طرفی نتایج به دست آمده متعلق به گروه‌های دریافت کننده عصاره نشان می دهد که این عصاره گیاهی قادر به کاهش اندازه قطر زخم بوده است. در گروه‌های ۴ (گروه مورد آلوده به انگل لیشمانیا ماژور و دریافت کننده عصاره با غلظت 1.44 mg/kg) و ۵ (گروه مورد آلوده به انگل لیشمانیا ماژور و دریافت کننده عصاره با غلظت 6 mg/kg) اندازه زخم آنها پس از ۶ هفته کاهش ($p < 0.05$) چشم گیری یافت (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه میانگین قطر زخم گروه‌های تحت درمان با عصاره و شاهد

تمامی گسترش‌های تهیه شده از نمونه‌های زخم، کبد، طحال و غدد لنفاوی با رنگ گیمرسا رنگ آمیزی شدند. با بررسی گسترش‌های تهیه شده در گروه ۵ (دریافت کننده عصاره با غلظت 1.44 mg/kg) مشخص گردید این غلظت از عصاره توانایی کاهش چشم گیر از ۱۰۰٪ (گروه ۸) به ۰٪ (گروه ۷) را در گسترش‌های تهیه شده از غدد لنفاوی انگل دارد.

در بررسی گسترش‌های تهیه شده از نمونه‌های زخم متعلق به گروه‌های دریافت کننده عصاره در مقایسه با گروه‌های شاهد کاهش بار انگلی در هر یک از آماستیگوت‌ها مشاهده شد (اشکال ۲ تا ۴). در گروه‌های دریافت کننده سرم فیزیولوژی و گلوکانتیم شاهد تغییرات پاتولوژیکی از جمله میزان بزرگی کبد و طحال بودیم

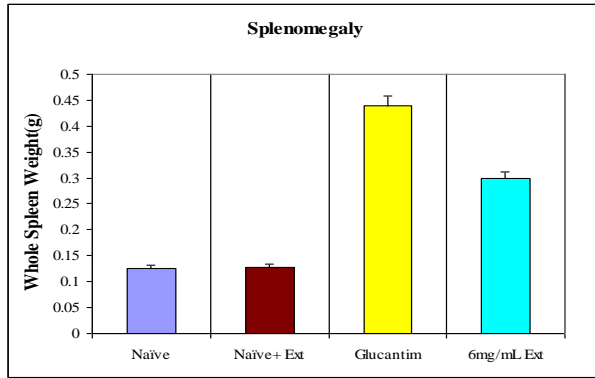
بودند. تمامی گروه‌های مورد نظر با غلظت مختلف تعیین شده عصاره گیاهی برای هر گروه به مدت ۳۰ روز تحت درمان قرار گرفتند.

درمان با اندازه گیری و ثبت قطر زخم موش‌ها، وزن هر یک از موش‌ها و مشخصات ظاهری آن‌ها آغاز شد. جهت ارزیابی درمان پس از پایان هر دوره ۱۰ روزه درمان قطر زخم‌ها با کولیس دیجیتال اندازه گیری گردید و از آن‌ها جهت رویت جسم لیشمن و تأیید لیشمانیوز جلدی گسترش تهیه شد و با گروه‌های شاهد و موارد قبل از درمان مقایسه و نتیجه گیری گردید. درمان به صورت موضعی، یک بار در روز و حداکثر به مدت ۶ هفته صورت گرفت. در پایان دوره درمان نیز با رعایت موازین اخلاقی تمامی موش‌ها کشته شده و احشای آن‌ها (کبد و طحال) به منظور بررسی و مقایسه تغییرات ناشی از دریافت ترکیبات مختلف با یکدیگر، مورد مطالعه قرار گرفت و گسترش‌هایی از این اندام‌ها تهیه گردید. تغییرات قطر زخم‌ها در هر یک از گروه‌های تحت بررسی با استفاده از آزمون‌های آماری ANOVA و Paired t-test در نرم افزار SPSS ver 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

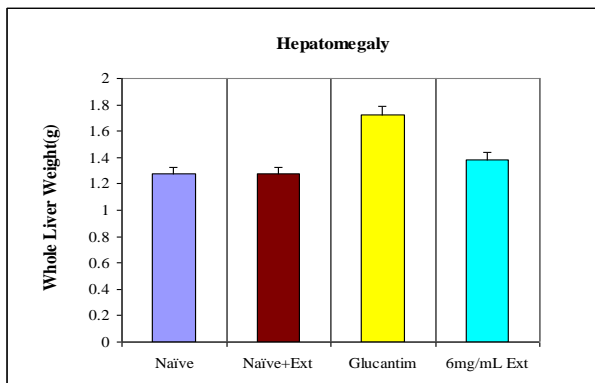
۳. نتایج و بحث

درحال حاضر داروهای شیمیایی مختلفی در درمان سالک به کار می رود که در بین آن‌ها می توان از ترکیبات آنتی موان (پنج ظرفیتی یا سه ظرفیتی)، داروهای ضد مالاریا (کلروکین و کنیاکین)، امتین، مترونیدازول و آنتی بیوتیک‌ها (مونوماکسیم، تتراسایکلین و ریفاپمپین) نام برد. از ترکیبات پنج - ظرفیتی آنتی موان و از متداول ترین داروهایی که جهت درمان لیشمانیوز جلدی در ایران و سایر نقاط دنیا از آن استفاده می شود، گلوکانتیم (متیلگلوکامین آنتی موان) است.

داروی دیگر پنتوستام (سدیم استیوگلوکونات) می باشد. از ترکیبات سه ظرفیتی آنتی - موان، فوآدین می باشد (صائبی، ۱۳۸۴). این داروها به علت تزریق مکرر دارو و دوز بالا علاوه بر تحمیل خسارات اقتصادی بر خانواده‌ها منجر به بروز عوارض جانبی هم‌چون اختلالات کبدی، قلبی و بیوشیمیایی می شوند (صائبی، ۱۳۶۷). به علاوه این ترکیبات دارای محدودیت‌هایی نظیر عدم



شکل ۵. مقایسه میزان اسپلنومگالی بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره و شاهد

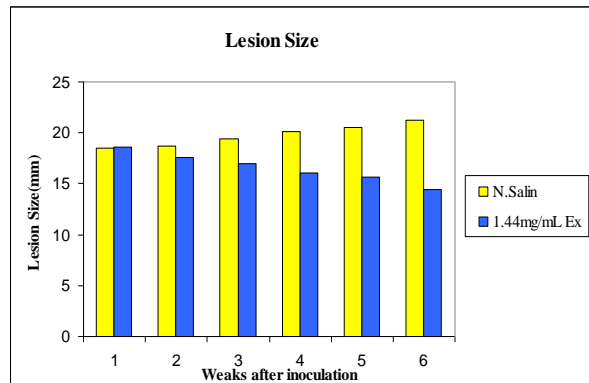


شکل ۶. مقایسه میزان هپاتومگالی بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره و شاهد

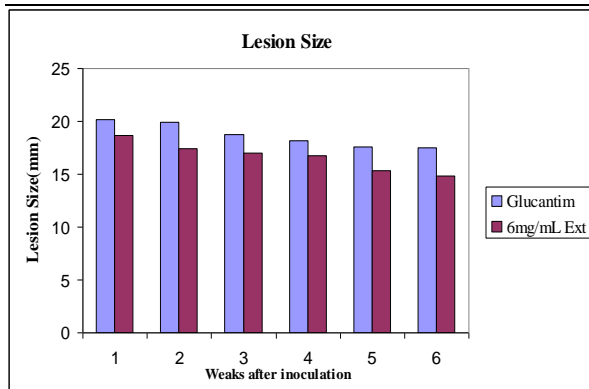
آثار درمانی گوناگونی از گونه‌های مختلف گیاه درمنه گزارش شده است. مصرف گیاه درمنه در رژیم غذایی خرگوش‌های هیپرکلسترومیک میزان کلسترول تام، LDL - کلسترول و تری‌گلیسرید آن‌ها را کاهش و HDL - کلسترول را افزایش داده است (Dinani et al., 2010). همچنین اثرات ضد ویروس (Han et al., 2005)، هپاتیت B، ضد انگل مالاریا (Willcox et al., 2004)، ضد دردی و درمان آسم در گونه‌های درمنه گزارش شده است (Sadeghi et al., 2008).

بر اساس مطالعه‌ی شریف و هم‌کاران (Sharif et al., 2006) در ایران، عصاره‌ی *Artemisa aucheri* بر روی انگل *L. major* در محیط کشت موثر گزارش شده است، طوری که اثر مهارکنندگی غلظت‌های ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر رشد و تکثیر انگل طی ۴۸ و ۷۲ ساعت نشان داده شد و در غلظت‌های ۶۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نیز همان نتیجه مشاهده شد.

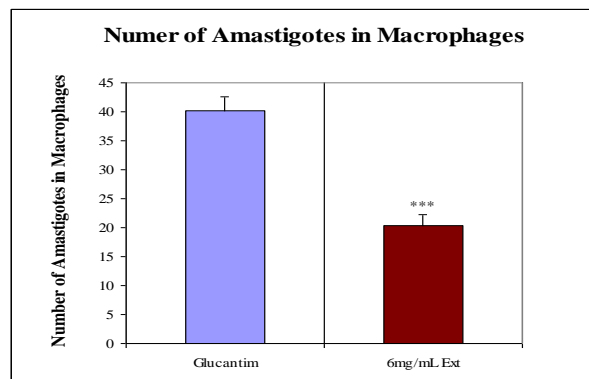
(شکل ۵ و ۶)، در حالی که در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره کاهش میزان بزرگی کبد و طحال مشاهده گردید.



شکل ۲. مقایسه میانگین قطر زخم گروه‌های تحت درمان با عصاره و شاهد



شکل ۳. مقایسه میانگین قطر زخم گروه‌های تحت درمان با عصاره و شاهد



شکل ۴. مقایسه میانگین تعداد انگل در ماکروفاژ پس از شش هفته در گروه تحت درمان با عصاره و شاهد

امین، غ. ر. ۱۳۸۷. متداولترین گیاهان دارویی سنتی ایران. دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده داروسازی. تهران. ۳۰۰ صفحه.

آیت الهی، س. ع.، کمیلی زاده، ح. و روستاییان، ع. ۱۳۷۸. روغن‌های اسانسی گونه‌هایی از آرتیمیزیای بومی ایران. *فصلنامه پژوهشی پژوهنده*، ۱۵: 319-315.

صائبی، ا. ۱۳۶۷. بیماری‌های انگلی در ایران. چاپ چهارم. انتشارات روزبهان. ۲۶۵ صفحه.

صائبی، ا. 1384. بیماری‌های انگلی در ایران (تک یاختگان). چاپ چهارم. انتشارات آبیژ. تهران. ۳۲۵ صفحه.

محب‌علی، م. ۱۳۷۵. بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان. چاپ اول. انتشارات نشر نادی. تهران. ۱۲۸ صفحه.

میرحیدر، ح. ۱۳۸۰. معارف گیاهی (کاربرد گیاهان و پیشگیری و درمان بیماری‌ها). چاپ سوم. انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی. تهران. ۱۶۲ صفحه.

- Dinani, N.J., Asgary, A., Madani, H., Naderi, G. and Mahzoni, P. 2010. Hypocholesterolemic and antiatherosclerotic effect of *Artemisia aucheri* in hypercholesterolemic rabbits. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23: 321-325.
- Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M., Hadian, J. and Tehrani, A. S. 2006. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of *Artemisia* on some soil-borne phytopathogens. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71: 1327-1333.
- Francis, E. G., Julius, P. and Kreier. D. W. 1999. Parasitology. Oxford University Press, Ninth Edition.
- Giao, P., Binh, T., Kager, P., Long, H., Van Thang, N., Van Nam, N. et al. 2001. Artemisinin for treatment of uncomplicated falciparum malaria: is there a place for monotherapy? *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 65: 690-695.
- Han, J., Zhao, Y.L., Shan, L.M., Huang, F.J. and Xiao, X.H. 2005. An experiment on standardized

تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده حاکی از آن است که ارتباط معنی داری بین غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه درمنه و مهار علائم بیماری وجود دارد. نمودارهای ۱، ۴، ۶ و ۷ کاهش معنی داری در میزان بزرگی کبد، طحال و غدد لنفاوی، کاهش بار انگلی در داخل هر یک از ماکروفاژها به عنوان سلول‌های پذیرنده انگل و کاهش اندازه زخم را در این گروه‌ها نشان می‌دهند. در این مطالعه به منظور تعیین میزان احشایی شدن این گونه از انگل لیشمانیا، اندام‌های کبد، طحال و غدد لنفاوی به عنوان اندام‌های هدف تشخیص آماستیگوت، مورد بررسی قرار گرفتند. این عصاره با کاهش بار انگل در نمونه‌های به دست آمده از زخم، کبد، طحال و غدد لنفاوی تأثیر ضد لیشمانیایی خود را نشان داد.

۴. نتیجه گیری

یافته‌های به دست آمده در این مطالعه می‌تواند نقش مهاری این عصاره را در احشایی شدن انگل *L. major* در اندام‌های هدف موش‌های آلوده و مستعد Balb/c از خود نشان دهد. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان دهنده تأثیر مثبت عصاره متانولی گیاه درمنه کوهی بر روی انگل لیشمانیا ماژور بوده و پیشنهاد می‌شود که از عصاره متانولیک این گونه درمنه به عنوان یک ترکیب دارویی جدید موثر در درمان بیماری سالک در مراحل بعدی مطالعات استفاده گردد.

۵. سپاس‌گزاری

نگارنده مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولان بخش انگل‌شناسی انستیتو پاستور و سایر عزیزانی که در انجام این طرح تحقیقاتی ما را یاری رساندند، اعلام می‌دارد.

۶. منابع

ابرسجی، ق. ع. و اکبرپور، ح. ۱۳۸۷. بررسی ارزش علوفه ای و دارویی درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.) در استان گلستان. مقالات گیاهان دارویی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان. گرگان.

cell culture assay in assessing the activities of composite *Artemisia capillaris* tablets against hepatitis B virus replication in vitro. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 11: 54-56.

Negahbana, M., Moharramipoura, S. and Sefidkon, F. 2006. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser. against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 11 (165): 1-10.

Sadeghi Fard, H. and Zareian, P. 2008. Survey on analgesic effect of hydro-alcoholic extract of *Artemisia aucheri* in two models of acute and chronic pain. *Journal Kurdistan University Medical Sciences*, 13: 30-36.

Sharif, M. Zaei, H. Azadbakht, M. Daryani, A. Ebadattalab, A. and Rostami, M. 2006. Effect of methanolic extracts of *Artemisia aucheri* and *Camellia sinensis* on *Leishmania major* (In Vitro). *Turkish Journal of Medical Sciences*, 36: 365-369.

Willcox, M., Rasoanaivo, P., Sharma, V.P. and Bodeker, G. 2004. Comment on: Randomized controlled trial of a traditional preparation of *Artemisia annua* L. (Annual Wormwood) in the treatment of malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98: 755-756.