



# اثرهای ضدانگلی گیاه بومادران

دانش‌آموزان: حنا زعفرانلو، نازنین دهقانی، زینب کاظمی، سولماز جعفری

دانش‌آموزان منطقه کهریزک استان تهران

استاد راهنما: نرگس مروی مقدم

دانشجوی دکتری حشره‌شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی

## چکیده

لیشمانیوز بیماری انگلی مشترک بین انسان و حیوان است که تنوع بالینی گسترده دارد و انگلی تک یاخته‌ای متعلق به جنس لیشمانیا آن را ایجاد می‌کند. درمان لیشمانیوز انسانی هنوز با استفاده از ترکیب‌ها آنتی‌موان ۵ ظرفیتی و پرعارضه، مانند داروی گلوکانتیم‌آ صورت می‌گیرد. مقاومت نسبت به این ترکیب باعث شده است تا ضرورت تلاش برای دستیابی به داروی جدیدی بیشتر شود. این پژوهش با هدف تعیین میزان اثر ضد لیشمانیایی عصاره گیاهی تنباکو و اسانس بومادران بر انواع خارج سلولی (پروماستیگوت<sup>۴</sup>) لیشمانیا ماژور<sup>۵</sup> انجام شده است. بررسی اثر این عصاره تنباکو و بومادران در محیط کشت آزمایشگاه در مجاورت با غلظت‌های متفاوت صورت پذیرفته است. این عصاره‌ها بر سرعت تکثیر انگل لیشمانیا نتایج مختلفی را نشان داد. بدین ترتیب که غلظت ۱۰٪ سرعت تکثیر انگل را کم می‌کند، در حالی که غلظت ۵۰٪ در صد باعث افزایش این سرعت می‌شود. در تکثیر انگل لیشمانیا در عصاره تنباکو و اسانس بومادران عوامل مهاری و ممانعت‌کننده‌ای وجود دارند که این عوامل مهاری در غلظت ۵۰٪ در صد بیشترین تأثیر را دارند.

کلیدواژه‌ها: عصاره تنباکو، اسانس بومادران، پروماستیگوت.

## مقدمه

لیشمانیوز عفونت انگلی گسترده طیفی است که مواردی از عفونت‌های انسانی آن از سراسر جهان به غیر از استرالیا و نواحی قطبی گزارش شده و متأسفانه تاکنون واکسن یا داروی مناسبی برای مهار انگل و اشکال مختلف بیماری و نیز روش شیمیایی مناسبی در مبارزه با ناقل آن ارائه نشده است (۴).

کشور ایران در میان ۱۱ کشوری قرار گرفته است که طبق گزارش‌های سازمان بهداشت جهانی بیش از ۵۵-۵۱ درصد جهانی لیشمانیوز جلدی در آن‌ها گزارش شده است. ایران در منطقه خاورمیانه از نظر ابتلا به لیشمانیوز جلدی در رتبه نخست و از نظر ابتلا به لیشمانیوز احشایی در رتبه چهارم قرار دارد (۲).

تاکنون اقدامات درمانی مختلفی در درمان سالک (لیشمانیوز پوستی) به کار رفته است که به‌طور کلی شامل درمان فیزیکی یا جراحی و درمان دارویی است. درمان فیزیکی و جراحی شامل کرایوتراپی<sup>۶</sup> (سرمدرمانی پوست)، گرمای موضعی، کورتاژ و لیزر آرگون است. درمان دارویی شامل درمان سیستمی و موضعی است. مهم‌ترین داروهای سیستمی عبارت‌اند از آنتیموان‌های پنج ظرفیتی (گلوکانتیم و پنتوستام)<sup>۷</sup>، کلروکین<sup>۸</sup>، پنتامیدین<sup>۹</sup>، مترونیدازول<sup>۱۰</sup>، کتوکونازول<sup>۱۱</sup>، داپسون<sup>۱۲</sup>، ایتراکونازول<sup>۱۳</sup>، تربینافین<sup>۱۴</sup> و ریفامپیسین<sup>۱۵</sup> است که بیشترین طیف درمانی سالک را در بر می‌گیرند (۶). مهم‌ترین درمانی که امروزه برای انواع لیشمانیوز به کار می‌رود، ترکیبات ۵ ظرفیتی آنتیموان هستند که شامل سدیم استیویوگلوکونات (پنتوستام) و مگلو مین آنتی موانات (گلوکانتیم) اند.

مواردی از این بیماری نیز وجود دارد که به دلیل مقاومت به درمان پاسخ نمی‌دهند. از طرفی، به علت وجود عوارض متعدد دارویی، تلاش برای دستیابی به داروی جدیدی که بتواند ضمن اینکه زخم را سریع‌تر بهبود بخشد، کم‌ترین عوارض جانبی را داشته باشد و پس از بهبودی جوشگاهی

بر جای نگذارد، ادامه دارد (۶، ۱). بنابراین، پژوهش روی گیاهان دارویی برای یافتن دارویی مناسب برای از بین بردن انگل لیشمانیا و بیماری لیشمانیوز از اهمیت بالایی برخوردار است.

ترکیبات طبیعی و مواد مشتق از گیاهان به‌صورت گسترده‌ای در مقابله با میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به کار می‌روند (۳). استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌های انگلی به دوران باستان بازمی‌گردد که مثالی از آن استفاده از پوست درخت گنه‌گنه به‌عنوان داروی ضد مالاریاست (۵). این پژوهش به‌منظور ارزیابی تأثیر عصاره تنباکو و بومادران بر تکثیر انگل لیشمانیا انجام شده است.

## مواد و روش‌ها کشت انگل لیشمانیا ماژور

انگل استفاده شده در این تحقیق لیشمانیا ماژور است. ابتدا از زخم فعال موش سفید آزمایشگاهی (نژاد BALB/c) مبتلا به لیشمانیوز جلدی ناشی از لیشمانیا ماژور نمونه برداشته شد و به محیط کشت NNN (Nicolle-Novy MacNeal) منتقل شد. لوله‌های حاوی محیط کشت به مدت ۵ روز انکوبه شدند. به‌منظور کشت و تولید انبوه پروماستیگوت، انگل‌ها در محیط کشت مایع RPMI1640 پاساژ داده شدند.

پژوهش روی  
گیاهان دارویی  
برای یافتن  
دارویی مناسب  
برای از بین بردن  
انگل لیشمانیا  
و بیماری  
لیشمانیوز از  
اهمیت بالایی  
برخوردار است



شکل ۱. دستگاه عصاره‌گیری سوکسله

**تهیه اسانس گیاه بومادران و تنباکو**  
 اسانس گیاه بومادران در مرکز پژوهش سرای  
 کاوش توسط محققان و با دستگاه کلونجر<sup>۱۶</sup>  
 و هم‌چنین عصاره گیاهان خرزهره و تنباکو  
 نیز توسط دستگاه سوکسله<sup>۱۷</sup> گرفته شد.



شکل ۲. تصویر دستگاه سوکسله و کلونجر برای عصاره و اسانس‌گیری

### یافته‌ها

### کشت پروماستیگوت‌ها با غلظت‌های مختلف اسانس بومادران و عصاره تنباکو

در این پژوهش عصاره گیاه خرزهره، اسانس

جدول ۱. درصد تعداد پروماستیگوت‌های انگل بعد از ۲۲ ساعت پس از افزودن غلظت‌های ۱/۱۰ و ۱/۲ اسانس

#### بومادران و تنباکو

غلظت اسانس‌ها و عصاره‌ها	تعداد انگل ۴۸ ساعت پس از کشت		تعداد انگل ۲۲ ساعت بعد از کشت	
	%۱۰	%۵۰	%۱۰	%۵۰
اسانس گیاه بومادران	%۸۰	%۱۵	%۷۵	%۱۲/۵
عصاره گیاه تنباکو	%۳۰	%۲۰	%۱۲/۵	%۰

جدول ۲. تعداد پروماستیگوت‌های انگل بعد از ۲۲ و ۴۸ ساعت پس از افزودن غلظت‌های

#### ۱/۱۰ و ۱/۲ اسانس بومادران و تنباکو

غلظت اسانس‌ها و عصاره‌ها	تعداد انگل ۴۸ ساعت پس از کشت		تعداد انگل ۲۲ ساعت بعد از کشت	
	%۱۰	%۵۰	%۱۰	%۵۰
کنترل	۱۲۵۰۰۰۰	۲۵۰۰۰۰۰	۱۰۰۰۰۰۰	۱۰۰۰۰۰۰
اسانس گیاه بومادران	۱۰۰۰۰۰۰	۳۷۵۰۰۰	۷۵۰۰۰۰	۱۲۵۰۰۰
عصاره گیاه تنباکو	۳۷۵۰۰۰	۵۰۰۰۰۰	۱۲۵۰۰۰	۰

جدول ۳. درصد کاهش تعداد پروماستیگوت‌های انگل بعد از ۲۲ و ۴۸ ساعت پس از اضافه کردن غلظت‌های ۱/۱۰ و

#### ۱/۲ اسانس بومادران و تنباکو

غلظت اسانس‌ها و عصاره‌ها	تعداد انگل ۴۸ ساعت پس از کشت		تعداد انگل ۲۲ ساعت بعد از کشت	
	%۱۰	%۵۰	%۱۰	%۵۰
اسانس گیاه بومادران	%۹۹/۲۵	%۹۹/۸۵	%۹۹/۲۵	%۹۹/۸۷
عصاره گیاه تنباکو	%۹۹/۷	%۹۹/۸	%۹۹/۸۷	%۱۰۰

به علت وجود

عوارض

متعدد

دارویی،

تلاش برای

دستیابی

به داروهای

جدید گیاهی

ادامه دارد

انگل استفاده

شده در این

تحقیق لیشمانیا

ماژور است که

از زخم فعال

موش سفید

آزمایشگاهی

نمونه برداشته

شد

گیاه بومادران و عصاره گیاه تنباکو با غلظت‌های ۱/۲ و ۱/۱۰ و توسط لام نئوبار انگل‌ها در شرایط برون‌تنی<sup>۱۸</sup> مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت شمارش شد.

### تعیین درصد و تعداد انگل‌های زنده پروماستیگوت با استفاده از لام نئوبار

تعداد  $1 \times 10^4$  انگل در مرحله لگاریتمی توسط لام نئوبار شمارش و در پلیت کشت ۹۶ خانه در محیط RPMI1640 کشت داده شد.

غلظت‌های ۱۰ و ۵۰٪ از اسانس گیاهان بومادران و تنباکو به فاکون‌ها افزوده شد و برای هر غلظت ۲ تکرار در نظر گرفته شد. فاکون‌ها را با غلظت‌های موردنظر و برداشت ۱ لانداز هر کدام از نمونه‌ها و به‌صورت دوپلیکیت (دو بار تکرار) توسط لام نئوبار و در زیر میکروسکوپ شمارش و سپس با استفاده از این فرمول مقدار انگل موردنیاز محاسبه شد:

تعداد انگل = میانگین انگل  $5 \times 25 \times 10^4$

درصد تعداد انگل موجود:  $100/X$   
تعداد انگل در غلظت‌های مختلف /  
تعداد انگل در کنترل درصد تعداد انگل موجود = ۱۰۰ - درصد کاهش انگل

### بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به ED50، یعنی غلظتی که بیشتر از ۵۰ درصد انگل‌ها را از بین می‌برد که بر اساس این فرمول عصاره تنباکو در ۷۲ ساعت در غلظت ۵۰ درصد تأثیر آن ۱۰۰ درصد و در غلظت درصد تأثیر آن بر پروماستیگوت ۹۹/۸۷ درصد بوده است. در نهایت، اسانس بومادران در غلظت‌های ۵۰ درصد و ۱۰ درصد به ترتیب تأثیر آن بر انگل پروماستیگوت شامل ۹۹/۸۷ درصد و ۹۹/۲۵ درصد است که با توجه به مشاهدات می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر عصاره گیاه تنباکو بر انگل لیشمانیا بیشتر

از اسانس بومادران است. البته، با توجه به اینکه عصاره گیاه تنباکو بعد از ۲۴ ساعت دچار فارچ‌زدگی شده بود و به مقدار ۱ میلی‌لیتر اسانس گیاه بومادران اضافه شد که بعد از ۴۸، ۷۲ و ۴۸ ساعت کنترل شد و هیچ‌گونه اثری از فارچ‌زدگی در آن دیده نشد. با توجه به این مشاهدات، به احتمال زیاد تأثیر کم‌تر اسانس آن بر انگل نسبت به عصاره گیاه تنباکو می‌تواند به علت استفاده از اسانس آن باشد و تأیید این موضوع نیاز به پژوهش‌های جامع‌تر دارد.

#### پی‌نوشت‌ها

1. Leishmaniasis
2. Leishmania
3. Glucantime
4. promastigote
5. L. major
6. Cryotherapy
7. Pentostam
8. Chloroquine
9. Pentamidine
10. Metronidazole
11. Ketoconazole
12. Dapsone
13. Itraconazole
14. terbinafine
15. Rifampicin
16. clevenger Apparatus
17. Soxhlet extractor
18. Invitro

#### منابع

۱. جعفری، ف.، نیلفروش زاده، مرغ.، توکلی، ن.، ذوالفقاری، ب. و شهبازی، ف. (۱۳۹۱) اثر ژل موضعی بومادران همراه با تزریق داخل ضایعه گلوکانتیم در درمان لیشمانیوز جلدی حاد نوع روستایی. *مجله دانشکده پزشکی اصفهان*، دوره ۷۸، شماره ۱۲۰.
2. Alvar, J., D.Ve'lez, I., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., et al. (2012). «Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence.» *Plos One*, 7(5): p.35671.
3. Bisset, N.J. (1994). *Herbal drugs and phytopharmaceuticals*. London and Tokyo: «Medpharm, Stuttgart and CRC», *Bota Raton*, Ann Arbor, pp: 566.
4. Castelli, G., Galante, A., Lo Verde, V., Migliazzo, A., Reale, S., Lupo, T., et al. (2014). «Evaluation of Two Modified Culture Media for Leishmania infantum Cultivation Versus Different Culture Media.» *The Journal of parasitology*, 100(2): 228-230
5. Kayser, O., Kiderlen, A.F. and Croft, S.L. (2002). Natural products as potential antiphagocytic drugs. *Studies in Natural Products Chemistry*, 26: 779-848
6. World Health Organization (2014). «Manual for case management of cutaneous leishmaniasis in the WHO Eastern Mediterranean Region.» Available at: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/120002>