مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/دوره نوزدهم/ تابستان ۱۳۹۳/۲۰-۹

بررسی تأثیر عصاره الکلی گیاه درمنه ترکی (*Artemisia annua*) در مقایسه با کلروکین بر پلاسمودیوم برگئی در موش سفید آزمایشگاهی

زینب کربلایی پازکی[۱]، مهدی ناطق پور[۲و۳]، امیر حسین مقصود[۴]، عفت سوری[۵]، افسانه متولی حقی[۶]، لیلا فریور[۷]، معصومه خدادادی[۸]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

۲. استاد گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳. استادیار مرکز تحقیقات انگل‌های بومی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴. استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران (مؤلف مسؤول)، تلفن: ۳۸۳۸۰۵۷۲-۰۸۱
a.h.maghsood@umsha.ac.ir

۵. استاد گروه شیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۶. محقق، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۷. کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۸. دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: از آنجا که در سال‌های اخیر اهمیت گیاهان دارویی بومی در درمان مالاریا محرز شده است، در این مطالعه اثر عصاره الکلی گیاه درمنه ترکی بر روی پلاسمودیوم برگئی به طور تجربی در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت و تأثیر آن با کلروکین مقایسه گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که با استفاده از روش Peters انجام شد، تعداد ۵۰ عدد موش سوری به ۱۰ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. ۹ گروه از آن‌ها با پلاسمودیوم برگئی آلوده گردیدند، ۶ گروه با غلظت‌های مختلف از عصاره درمنه ترکی و گروه ۷ با کلروکین تحت درمان قرار گرفتند. گروه ۸ و ۹ به ترتیب به عنوان گروه‌های پلاسبو و بدون درمان تعیین شدند. درمان به صورت زیر جلدی و تا ۴ روز ادامه داشت. میزان پارازیتمی در روزهای چهار و هفت نسبت به گروه شاهد سنجیده شد. گروه ۱۰ در این مطالعه بدون هیچ‌گونه تزریقی از انگل و دارو بوده، صرفاً جهت کنترل مرگ و میر تصادفی موش‌ها در حیوان‌خانه نگهداری شد. پس از یافتن محدوده اثر دارو، در مرحله بعد به منظور یافتن موثرترین غلظت دارو، مجدداً تعداد ۵۵ عدد موش در ۱۱ گروه ۵ تایی با دامنه کوچکتری از غلظت‌های دارو، همراه با کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. تحلیل داده‌های خام با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون T-test انجام گردید و مؤثرترین غلظت در بین غلظت‌های مورد استفاده مشخص شد.

یافته ها: بررسی نشان داد که غلظت‌های ۱۱۰۰ و ۱۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاهی میزان پارازیتمی را در موش‌های آلوده بیشتر از سایر غلظت‌ها کاهش داده است، اما غلظت mg/kg ۱۱۰۰ سمیت کمتری داشته است. تأثیر کلروکین بر انگل‌های تحت مطالعه قاطع و بیشتر از غلظت‌های متفاوت عصاره الکلی درمنه ترکی بود (p=۰/۰۰۴).

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد؛ تاثیر عصاره الکلی درمنه ترکی در غلظت mg/kg ۱۱۰۰ روی پلاسمودیوم برگئی قابل توجه است.

کلید واژه‌ها: پلاسمودیوم برگئی، درمنه ترکی، درمان، کلروکین، موش سوری

وصول مقاله :۹۱/۱۲/۲ اصلاحیه نهایی:۹۲/۱۱/۲۶ پذیرش:۹۲/۱۱/۲۷

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]

مقدمه

مالاریا یک بیماریی تب دار عفونی و یکی از جدی‌ترین مسایل بهداشتی است که بشر را تهدید می‌کند. عامل آن تک یاخته‌ای از جنس پلاسمودیوم است که توسط گزش پشه آنوفل ماده منتقل می‌شود. چهار گونه پلاسمودیوم باعث بروز بیماری در انسان می‌شوند، ولی بیماری ایجاد شده توسط پلاسمودیوم فالسی‌پاروم از بقیه شدیدتر بوده، گاهی منجر به مرگ و میر می‌گردد (۱).

گزارش سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۰ حاکی از آن است که ۲۱۶ میلیون مورد مالاریا در جهان گزارش شده که ۸۱٪ از این موارد به آفریقا اختصاص دارد، همچنین از میان ۶۵۵۰۰۰ نفری که بر اثر این بیماری جان خود را از دست داده‌اند، ۸۶٪ کودکان زیر ۵ سال می‌باشند. اگر چه این آمار در مقایسه با سال ۲۰۰۰، حدود ۲۵٪ کاهش نشان می‌دهد اما مالاریا هم چنان در قسمت‌هایی از جهان مخصوصاً آفریقا قربانی می‌گیرد (۲).

مالاریا در ایران از مهمترین بیماری‌های انگلی کشور بوده، سابقه‌ای طولانی دارد. نیم قرن مبارزه و اجرای برنامه‌های کنترلی باعث شده که تعداد مبتلایان به این بیماری کاهش چشم‌گیری داشته باشد؛ با این حال این بیماری هنوز هم در برخی مناطق به خصوص جنوب و جنوب شرق کشور انتشار دارد (۳). یکی از دلایل عدم کنترل کامل مالاریا بروز مقاومت انگل نسبت به داروهای خط اول درمان نظیر کلروکین، پریمتامین، کینین و ... است (۴). بنابراین شواهد، جستجو برای یافتن داروهای جدید همواره از اولویت‌های سازمان جهانی بهداشت بوده است و در این راستا استفاده از گیاهان دارویی بومی مناطق مالاریا خیز و تعیین خواص درمانی آنها بر مالاریا می‌تواند نقش بسزایی در تحقیقات و کنترل مالاریا داشته باشد (۵).

انواعی از این گیاهان همانند *Artemisia annua* از جمله گیاهان موثر در این زمینه شناخته شده‌اند و ترکیبات حاصل از آن سال‌ها است که به عنوان داروی خط اول جهت درمان بیماری مالاریا به کار می‌روند (۶). آرتمی‌سینین یک داروی اندوپراکسید ضد مالاریا است که از اجزای فعال آرتمیزیا آنووا (درمنه ترکی) می‌باشد. این دارو تحت عنوان Qinghaosu بیش از ۲۰۰۰ سال پیش در چین باستان مورد استفاده قرار می‌گرفته است (۹-۶). دم‌کرده برگ‌های خشک شده این گیاه توسط گیاه‌شناسان چین باستان برای درمان تب استفاده می‌شد. در سال ۱۹۷۱ دانشمندان به این نتیجه رسیدند که عصاره این گیاه در نمونه‌های اولیه آزمایش دارای خاصیت ضدمالاریایی است (۸). آرتمی‌سینین دارای خاصیت پلاسموسیدایی قوی می‌باشد و در عین حال سمیت بسیار پایینی در حین درمان دارد (۱۳-۱۰).

گرچه تاکنون بیش از ۱۲۰۰ گونه از گیاهان مختلف از سراسر جهان در جهت درمان مالاریا و بیماری‌های تب دار گزارش شده (۱۴) و استفاده از داروهای گوناگون گیاهی ضد مالاریا در کشورهای مختلف جهان رو به افزایش است (۱۵)، مشتقات آرتمی‌سینین هنوز از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (۷-۳). امروزه ترکیب درمانی با آرتمی‌سینین (ACT یا Artemisinin Combination Therapy) یکی از موثرترین روش‌ها در درمان و کاهش انتقال مالاریاست (۶). به طوری که WHO استفاده از ACT را به عنوان خط اول درمان مالاریای فالسی‌پاروم معرفی کرده است (۱۶). بررسی‌ها نشان می‌دهند بیشترین مقدار آرتمی‌سینین در میان گونه‌های مختلف جنس آرتمیزیا در آرتمیزیا آنووا موجود است (۱۷). آرتمی‌سینین و مشتقات آن علاوه بر درمان مالاریا، در درمان لیشمانیا، شیستوزوما، توکسوپلاسما و تریپانوزوما نیز مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۲۱-۱۸). اثرات ضد ویروسی گیاه مذکور به ویژه در درمان هپاتیت B نیز مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۳ و ۲۲). این گیاه به طور خودرو در سرتاسر ایران و ترکمنستان می‌روید. کارخانجات داروسازی از محصول ترکمنستان یک ماده عامله دارویی ضد انگل، به نام سنتونین می‌گیرند که تا چند

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]

سال پیش معروف‌ترین و پربهاترین داروی ضد انگل بوده (۲۴)، اما در ایران مطالعات اندکی در رابطه با این گیاه انجام شده است (۲۵). لذا با توجه به رویش گیاه درمنه ترکی در قسمت‌های مختلف ایران، بر آن شدیم تا اثرات ضد مالاریایی عصاره الکلی این گیاه را در شرایط *in vivo* در مقایسه با کلروکین بر پلاسمودیوم برگئی در موش سوری، که همواره به عنوان مدل مفیدی برای تحقیقات در بیولوژی انگل‌های مالاریا و همچنین آزمایش‌های دارویی بوده است، بررسی نماییم.

روش بررسی

حیوانات و شرایط آزمایش

این تحقیق تجربی بر روی ۱۰۵ سر موش سوری آلبینوی نر به وزن ۲±۲۳ گرم که از نظر سنی در وضعیت مشابهی قرار داشتند، انجام شد. موش‌ها از انستیتو پاستور ایران تهیه شده و در حیوان‌خانه دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران در قفس‌های ۵ تایی و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. آب و غذا آزادانه در اختیار آنها بود.

طرز تهیه عصاره الکلی

گیاه درمنه ترکی (*Artemisia annua*) از نواحی کوهستانی استان گلستان جمع‌آوری و تهیه شد. پس از شناسایی گیاه در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران عصاره‌گیری انجام شد. به این صورت که مقدار ۱۷۵ گرم از پودر خشک برگ‌ها و شاخه‌های باریک گیاه با ۹۵۰ میلی‌لیتر از اتانول ۹۶ درجه کاملاً خیس شد. مخلوط حاضر را به مدت دو ساعت کاملاً بهم زده و یک شب در هوای آزمایشگاه نگهداری شد. پس از صاف کردن آن و جداسازی محلول رویی به باقی مانده آن ۷۵۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه و این روال تا ۴ روز تکرار شد. همه محلول‌های رویی جدا شده، با هم مخلوط و بعد از صاف شدن، با دستگاه تقطیر در خلأ تقطیر شد. از این عصاره غلظت‌های مختلف بر حسب میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن موش محاسبه و در محلول ۲/۵٪ توین-۲۰ آماده گردید.

انگل

انگل مورد استفاده *Plasmodium berghei* بود که توسط دکتر ادریسیان از هندوستان به ایران منتقل و در ازت مایع نگهداری می‌شود. جهت ابقاء ویرولانس انگل به موش سوری تلقیح و پاساژ داده می‌شود. در این تحقیق دوز آلوده کننده مقدار 10^6 اریتروسیت پارازیته به صورت یک سوسپانسیون آماده در سرم فیزیولوژی و به حجم نهایی ۰/۲ میلی لیتر بود که به صورت زیرجلدی به موش‌های مورد نظر تلقیح شد (۲۶).

این مطالعه طی دو مرحله صورت گرفت. مرحله اول به منظور بررسی تاثیر دارو و یافتن محدوده اثر آن و مرحله دوم به منظور یافتن موثرترین غلظت دارو انجام شد. موش‌ها در مرحله اول به ۱۰ گروه پنج تایی و در مرحله دوم به ۱۱ گروه ۵ تایی تقسیم شدند (جداول ۱ و ۲).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]

جدول ۱- گروه بندی موش‌های آلوده شده با پلاسمودیوم برگئی و غلظت‌های مختلف تزریق شده دارو در مرحله اول

گروه‌ها	تزریق پلاسمودیوم برگئی	درمان
۱	+	250 mg/kg *A. annua*
۲	+	500 mg/kg *A. annua*
۳	+	750 mg/kg *A. annua*
۴	+	1000 mg/kg *A. annua*
۵	+	1250 mg/kg *A. annua*
۶	+	1500 mg/kg *A. annua*
۷	+	20 mg/kg chloroquine
۸	+	Placebo
۹	+	Without treatment*
۱۰	-	Without treatment**

* گروه شاهد مثبت

** گروه شاهد منفی

جدول ۲- گروه بندی موش‌های آلوده شده با پلاسمودیوم برگئی و غلظت‌های مختلف تزریق شده دارو در مرحله دوم

گروه‌ها	تزریق پلاسمودیوم برگئی	درمان
۱	+	1100 mg/kg *A. annua*
۲	+	1150 mg/kg *A. annua*
۳	+	1200 mg/kg *A. annua*
۴	+	1250 mg/kg *A. annua*
۵	+	1300 mg/kg *A. annua*
۶	+	1350 mg/kg *A. annua*
۷	+	1400 mg/kg *A. annua*
۸	+	20 mg/kg chloroquine
۹	+	Placebo
۱۰	+	Without treatment*
۱۱	-	Without treatment**

* گروه شاهد مثبت

** گروه شاهد منفی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]

گروه شاهد مثبت در هر دو مرحله گروهی بود که با انگل آلوده شده ولی دارویی دریافت نکرد. پلاسبو گروهی بود که با انگل آلوده شده و دارونما، شامل ۲/۵٪ توین-۲۰ در سرم فیزیولوژی دریافت نمود و گروه شاهد منفی گروهی بود که بدون دریافت انگل و دارو به منظور بررسی مرگ و میر تصادفی موش‌ها در شرایط آزمایشگاه در نظر گرفته شده بود.

درمان

درمان با استفاده از روش پیشنهادی Peters انجام گردید (۲۶). در این روش درمان ۲ ساعت پس از تزریق انگل به موش‌های مورد مطالعه به صورت زیرجلدی آغاز شد و تا ۴ روز ادامه داشت. به منظور حلالیت و رقیق سازی عصاره درمنه ترکی از محلول ۲/۵٪ توین-۲۰ در سرم فیزیولوژی استفاده گردید. غلظت‌های مختلف عصاره تزریقی، بر حسب میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن موش محاسبه و در حجم ۰/۲ میلی‌لیتر (حجم تزریق) از محلول ۲/۵٪ توین-۲۰ حل و تزریق گردید. در تمامی موارد تزریق روزی یک بار و با فاصله ۲۴ ساعت انجام گردید. خون‌گیری در پایان روز چهارم و از انتهای دم موش‌ها به عمل آمد. پس از تهیه گسترش نازک و رنگ‌آمیزی با گیمسا میزان پارازیتمی تعیین گردید. موثرترین غلظت دارو غلظتی بود که میزان پارازیتمی را در مقایسه با گروه شاهد به کمترین حد رسانده و اثر سمی بر روی موش‌ها نداشت. بررسی موش‌ها از نظر میزان پارازیتمی تا ۲۸ روز و از نظر مرگ و میر تا ۳۵ روز ادامه داشت. در هر دو مرحله، میزان پارازیتمی (x۱۰۰ پارازیتمی گروه کنترل / پارازیتمی گروه مورد) و درصد ممانعت از رشد انگل [(x۱۰۰ پارازیتمی گروه کنترل / پارازیتمی گروه مورد)-۱۰۰] در گروه‌های تحت مطالعه تا روز ۲۸ تعیین و با گروه شاهد و کلروکین مقایسه گردید.

به منظور اطمینان از عدم سمیت دارو بر روی موش‌ها تعداد ۱۰ موش به مدت ۲ هفته با موثرترین غلظت گیاه مواجه شدند. این موش‌ها به مدت ۵۰ روز از نظر اسهال، کاهش وزن، شفافیت و تیرگی چشم، نکروز در محل تزریق و مرگ و میر مورد بررسی قرار گرفتند (۱۷).تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS و به کمک آزمون T-test صورت گرفت. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

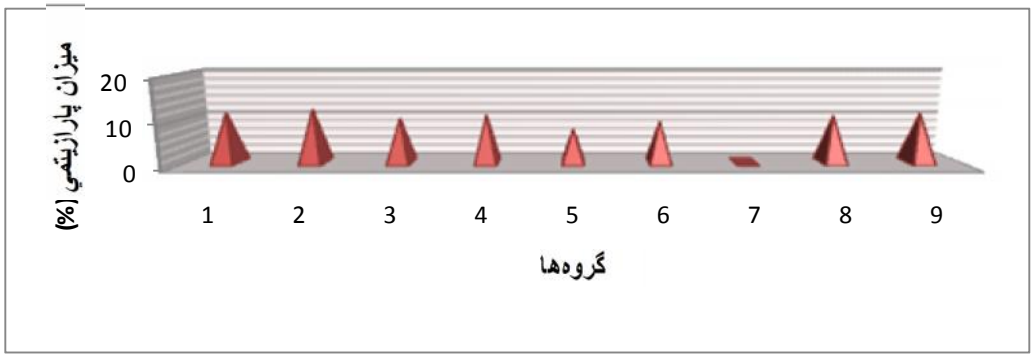
در این مطالعه پارازیتمی در گروه دریافت کننده کلروکین در هر دو مرحله در روز چهارم صفر بود و این مقدار تا پایان مطالعه هم‌چنان در حد صفر باقی ماند. میزان پارازیتمی در گروه شاهد مثبت و پلاسبو در هر دو مرحله کاملا نزدیک به هم و در حال افزایش بود. میانگین زمان بقای این دو گروه نیز به ترتیب ۱۳/۴±۰/۱ و ۱۳±۰/۲ روز بود. در نتایج این دو گروه با هم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p=۰/۰۶۷). همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود در مرحله اول، غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰۰ mg/kg از عصاره آرتمیزیا آنووا همگی اثرات منفی بر روی رشد انگل داشته‌اند و در بین آنها کمترین میزان پارازیتمی مربوط به گروه ۵ (غلظت۱۲۵۰ mg/kg) می‌باشد (p=۰/۰۰۵). در نمودار ۲ نیز مشخص است که بیشترین درصد ممانعت از رشد مربوط به همین گروه می‌باشد. هم‌چنین نمودار شماره ۳ نشان دهنده مدت بقا در موش‌های تحت مطالعه است که بیشترین زمان بقا در مرحله اول مربوط به گروه ۵ می‌باشد (p<۰/۰۰۵).

یافته‌های مرحله اول نشان دهنده تاثیر قابل توجه عصاره درمنه ترکی بر روی پلاسمودیوم برگئی بود. با توجه به نتایج مرحله اول، در مرحله دوم دامنه کوچکتری از غلظت‌های دارو بر روی موش‌های آلوده مورد آزمایش قرار گرفت. با توجه به اینکه در مرحله اول، گروه ۴ (غلظت ۱۰۰۰mg/kg) دارای پارازیتمی بالاتر و گروه ۶ (غلظت ۱۵۰۰mg/kg) میانگین بقای کمتری نسبت به گروه ۵ داشتند، جهت بررسی دقیق‌تر و به دست آوردن موثرترین غلظت در مرحله دوم غلظت‌هایی با فاصله ۵۰ mg/kg و از

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

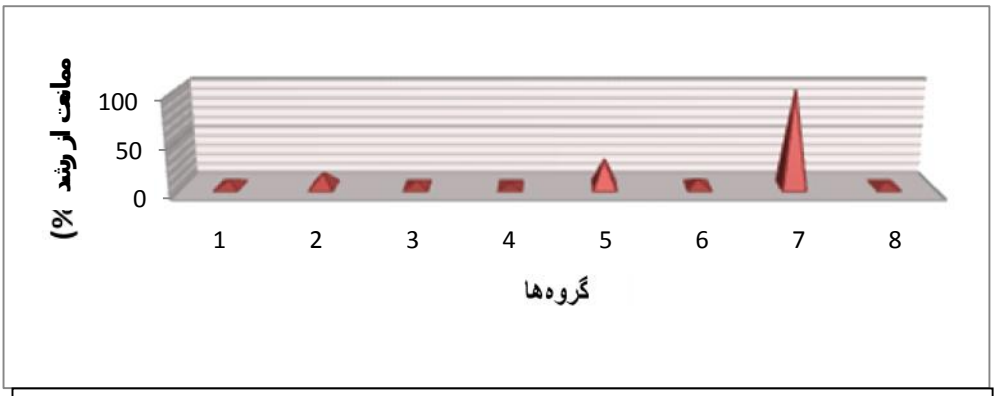
[DOI: 10.22102/19.2.9]

غلظت ۱۱۰۰ تا ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورد آزمایش
قرار گرفت.



1: 250 mg/kg *A. annua*; 2: 500 mg/kg *A. annua*; 3: 750 mg/kg *A. annua*; 4: 1000 mg/kg *A. annua*; 5: 1250 mg/kg *A. annua*; 6: 1500 mg/kg *A. annua*; 7: 20 mg/kg chloroquine; 8: control; 9: placebo

نمودار ۱- میانگین میزان پارازیتمی در موش‌های تحت درمان با غلظت‌های مختلف دارو در روز چهارم درمان (مرحله اول)

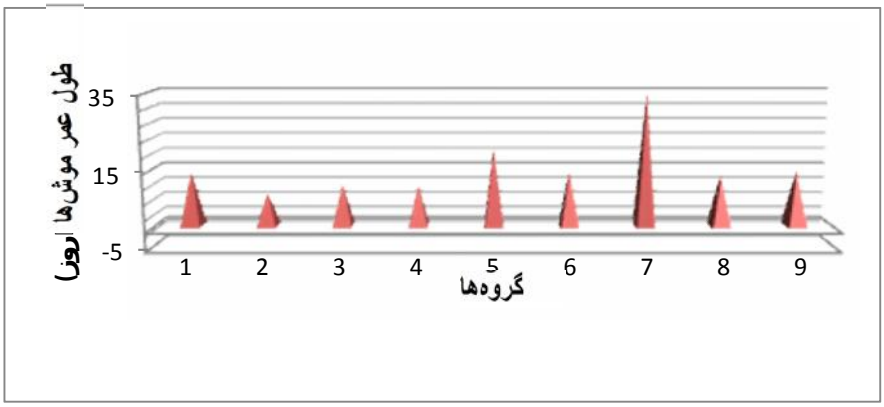


1: 250 mg/kg *A. annua*; 2: 500 mg/kg *A. annua*; 3: 750 mg/kg *A. annua*; 4: 1000 mg/kg *A. annua*; 5: 1250 mg/kg *A. annua*; 6: 1500 mg/kg *A. annua*; 7: 20 mg/kg chloroquine; 8: cotrol

نمودار ۲- میانگین درصد ممانعت از رشد انگل توسط غلظت‌های مختلف دارو در روز چهارم درمان (مرحله اول)

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]



نمودار ۳- میانگین مدت بقا موش‌های تحت درمان با غلظت‌های مختلف دارو (مرحله اول)

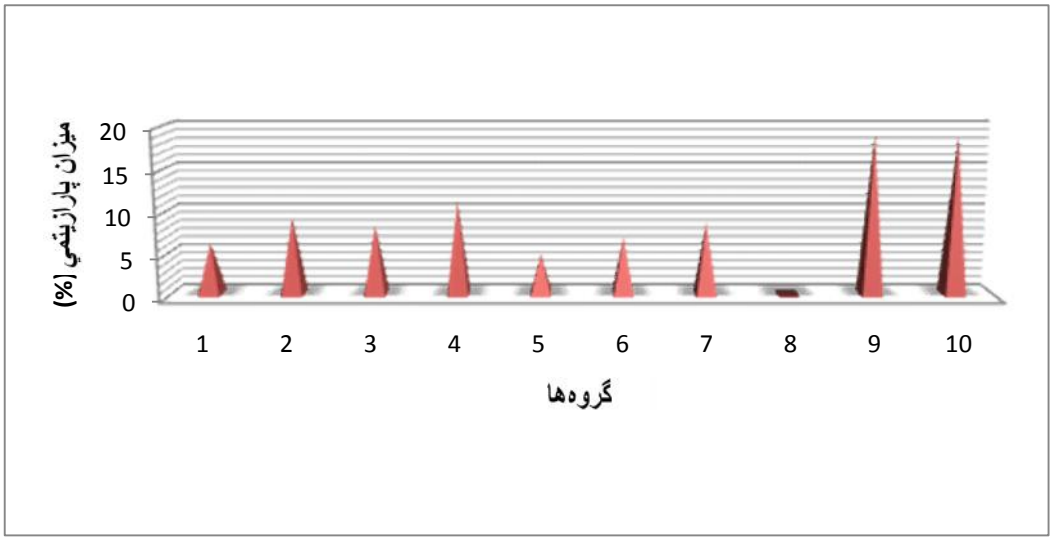
نمودار ۴ نشان می‌دهد که در مرحله دوم مطالعه، عصاره درمنه ترکی میزان پارازیتمی را در گروه‌های ۱ (غلظت ۱۱۰۰ mg/kg) و ۵ (غلظت ۱۳۰۰ mg/kg) بیشتر از سایر گروه‌ها کاهش داده و در نمودار ۵ نیز مشهود است که درصد ممانعت از رشد انگل در این دو گروه بیشتر از سایر گروه‌ها بوده است. آزمون‌های آماری نشان داد که در این دو گروه اختلاف معنی‌داری بین تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره درمنه ترکی بر روی انگل وجود ندارد (p=۰/۱۸۵). اما با مقایسه زمان بقا این دو گروه (نمودار ۶) مشخص شد که میانگین طول عمر موش‌های گروه ۱ (۰/۶±۲۰ روز) بیشتر از طول عمر موش‌های گروه ۵ (۰/۴±۱۳/۲ روز) بوده است (p<۰/۰۰۱).

در این مطالعه، بررسی پارازیتمی در هر دو مرحله، علاوه بر روز چهارم، در روزهای هفتم، چهاردهم، بیست‌ویکم و بیست‌وهشتم نیز انجام و نتایج آنها مورد واکاوی قرار گرفت، همان‌طور که در نمودارهای ۳ و ۶ نیز ملاحظه می‌گردد، مدت بقا موش‌های تحت درمان با غلظت‌های متفاوت عصاره در گروه‌های مختلف، اکثراً به ترتیب زیر ۱۵ و ۲۰ روز بود و در دوره‌های بعدی، تعداد موشهای باقی مانده، رفته رفته کمتر می‌شد. در این مقاله تنها به ارائه یافته‌های روز چهارم درمان، که دارای بیشترین تعداد موش زنده بود بسنده شده است.

لازم به ذکر است که موش‌های شاهد منفی در هر دو مرحله تا پایان ۳۵ روز در سلامت کامل به سر برده و هیچ گونه مرگ و میری در این گروه مشاهده نشده است.

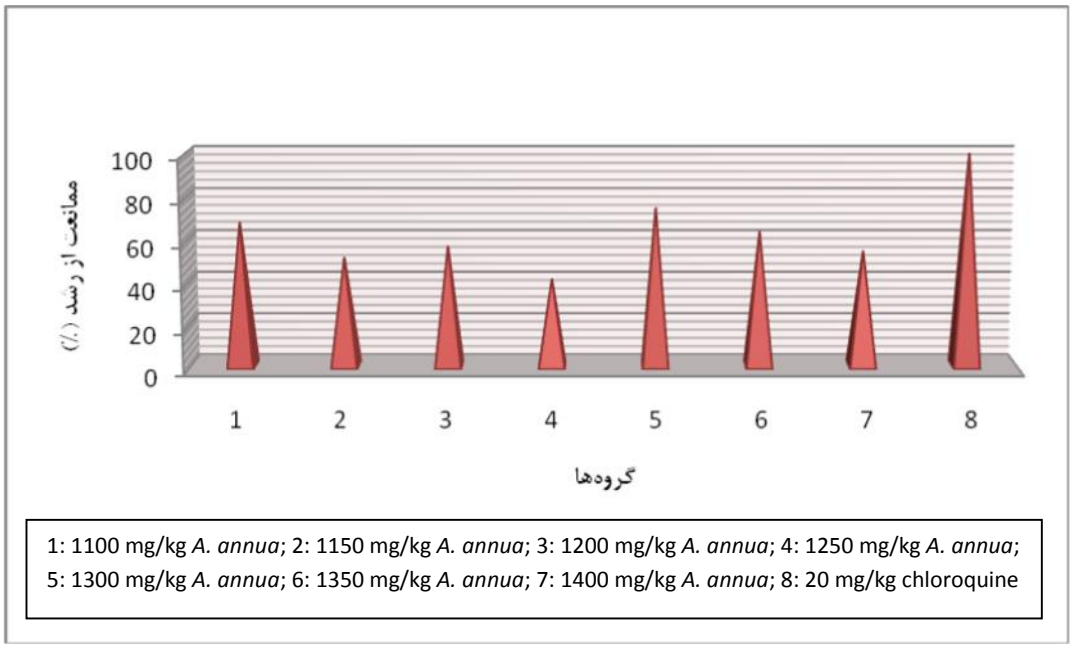
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]



1: 1100 mg/kg *A. annua*; 2: 1150 mg/kg *A. annua*; 3: 1200 mg/kg *A. annua*; 4: 1250 mg/kg *A. annua*; 5: 1300 mg/kg *A. annua*; 6: 1350 mg/kg *A. annua*; 7: 1400 mg/kg *A. annua*; 8: 20 mg/kg chloroquine; 9: control; 10: placebo

نمودار ۴- میانگین میزان پارازیتمی در موش‌های تحت درمان با غلظت‌های مختلف دارو در روز چهارم درمان (مرحله دوم)

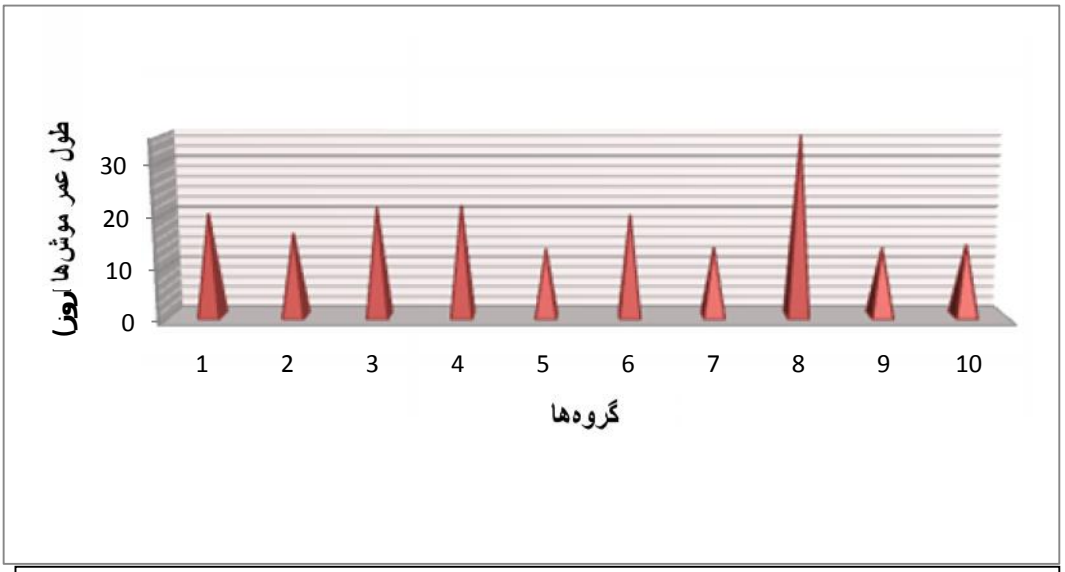


1: 1100 mg/kg *A. annua*; 2: 1150 mg/kg *A. annua*; 3: 1200 mg/kg *A. annua*; 4: 1250 mg/kg *A. annua*; 5: 1300 mg/kg *A. annua*; 6: 1350 mg/kg *A. annua*; 7: 1400 mg/kg *A. annua*; 8: 20 mg/kg chloroquine

نمودار ۵- میانگین درصد ممانعت از رشد انگل توسط غلظت‌های مختلف دارو در روز چهارم درمان (مرحله دوم)

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]



1: 1100 mg/kg *A. annua*; 2: 1150 mg/kg *A. annua*; 3: 1200 mg/kg *A. annua*; 4: 1250 mg/kg *A. annua*; 5: 1300 mg/kg *A. annua*; 6: 1350 mg/kg *A. annua*; 7: 1400 mg/kg *A. annua*; 8: 20 mg/kg chloroquine; 9: control; 10: placebo

نمودار۶- میانگین مدت بقا موش‌های تحت درمان با غلظت‌های مختلف دارو (مرحله دوم)

بحث

در این مطالعه کلروکین به عنوان داروی استاندارد میزان پارازیتمی را به صفر رسانده و میانگین بقا در موش‌ها را افزایش داد. در گروه شاهد مثبت که هیچ گونه دارویی دریافت نکرده بودند، میزان پارازیتمی افزایش یافت، به طوری که میانگین میزان پارازیتمی در روزهای ۴ و ۷ نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود. پارازیتمی در گروه گیرنده دارونما در روزهای مذکور اندکی کمتر از گروه شاهد مثبت بوده ولی این تفاوت معنی‌دار نبود، بنابراین کاهش میزان پارازیتمی در گروه‌های ۱ تا ۷ به علت دریافت عصاره الکلی دارو بوده است.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد غلظت‌های ۱۱۰۰ mg/kg و ۱۳۰۰ mg/kg، میزان پارازیتمی را بیشتر از سایر غلظت‌ها در روزهای مذکور کاهش داده و درصد ممانعت از رشد بیشتری را ایجاد نموده‌اند. در میان موش‌های دریافت کننده دو غلظت یاد شده بیشترین طول عمر مربوط به گروه اول (یعنی غلظت ۱۱۰۰ mg/kg) می‌باشد که میانگین طول عمر موش‌های این گروه ۰/۶±۲۰ روز بوده است. گرچه مطالعه Mannan نشان می‌دهد ماده موثره عصاره جنس آرتمیزیا عوارض کمتری برای موش‌ها در مقایسه با بعضی گیاهان دیگر دارویی دارد (۲۸)، نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد غلظت‌های بالاتر از ۱۳۰۰ mg/kg می‌تواند اثرات مخربی بر طول عمر موش‌ها داشته باشد و در میان دو غلظت یاد شده در بالا، غلظت ۱۱۰۰ mg/kg به علت سمیت کمتر برای موش‌ها، به عنوان غلظت انتخابی در این مطالعه تعیین شد.

مطالعات انجام شده بر روی اثرات ضد مالاریایی گونه‌های دیگر آرتمیزیا طی سال‌های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۱ در ایران نتایج موفقیت آمیزی داشته است (۳۱-۲۸). در مطالعه‌ی مشابهی که توسط خدادادی بر روی تاثیر عصاره الکلی گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) بر روی پلاسمودیوم برگئی در موش سوری صورت گرفت، غلظت mg/kg ۱۰۰۰ از عصاره گیاه به عنوان بهترین غلظت در از بین بردن پلاسمودیوم برگئی در نظر گرفته شد (۳۲). هم چنین در

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]

غلظت‌های بالاتر که تا mg/kg ۲۵۰۰ ادامه داشت اگر چه درصد ممانعت از رشد رو به افزایش بود ولی از آنجا که اثرات سمی گیاه بر روی موش‌های تحت مطالعه مشهود بود، بهترین غلظت mg/kg ۱۰۰۰ معرفی شد. این یافته به نوعی با یافته‌های مطالعه حاضر همسو می‌باشد. چه اینکه در مطالعه حاضر نیز بهترین غلظت با توجه به درصد ممانعت از رشد و میانگین بقا ۱۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در نظر گرفته شده است. مطالعات بیشتری لازم است تا مکانیزم تاثیر گیاه بر روی پلاسمودیوم مشخص شود.

در این مطالعه عصاره آرتمیزیا آنووا به صورت تزریقی به موش‌های آلوده تجویز شده است. تجویز دهانی عصاره مذکور می تواند مطالعه مفیدی در این زمینه باشد. بنابراین مطالعات دقیق‌تر و بیشتر بر روی گیاه درمنه ترکی می‌تواند زمینه تولید داروهای ضد مالاریا با کمترین میزان مقاومت نسبت به انگل و کمترین عوارض جانبی برای بیمار را ایجاد نماید.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه می‌توان گفت اثر گیاه درمنه ترکی بر روی پلاسمودیوم برگئی قابل ملاحظه بوده و موثرترین غلظت مشاهده شده در این بررسی، غلظت mg/kg ۱۱۰۰ می‌باشد. گرچه کاهش پارازیتمی در مقایسه با داروی استاندارد کلروکین در موش‌های آلوده کمتر بوده است، اما به علت بروز مقاومت دارویی به کلروکین و انتشار آن به نقاط مختلف دنیا، لزوم استفاده از داروهای جدید جهت درمان مالاریا بیش از پیش احساس می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد خانم زینب کربلایی پازوکی می باشد که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشـگاه علوم پزشکی همدان به انجام رسیده و بدین وسیله سپاسگزاری می‌شود. همچنین از همکاران محترم گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران و کارکنان محترم واحد پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده فوق که در انجام این مطالعه همکاری داشته‌اند، قدردانی می‌گردد.

References

1. Hardman JG, Limbird LE, Brunton L, Lazo J, Parker K. Drugs used in the chemotherapy of malaria. IN: The Goodman and Gilman's Pharmacological Bases of Therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill, 2001: 1069-1100
2. World Health Organization. World malaria report 2010. Geneva, Switzerland: WHO, 2010.
3. Edrissian GhH. The trend of malaria drug resistance in Iran during 1983-2001. J School Public Health Institute Health Res. 2003; 1: 50-61.
4. Olliaro P, Cattani J, Wirth D. Malaria, the submerged disease. JAMA-J Am Med Assoc. 1996; 275: 230-233.
5. WHO. The development of qinghaosu and its derivatives as antimalarial drugs. Fourth meeting of the scientific working group on chemotherapy of malaria. 6-10 October, Beijing, People's of China, 1981.
6. Mutabingwa TK. Artemisinin-based combination therapies (ACTS): Best hope for malaria treatment but inaccessible to the needy!. Acta Trop. 2005; 95: 305-315.
7. White NJ, Olliaro PL. Strategies for the prevention of antimalarial drug resistance: Rationale for combination chemotherapy for malaria. Parasitol Today. 1996; 12: 399-401.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]

8. He SP, Tan GY, Li G, Tan WM, Nan TG, Wang BM, et al. Development of a sensitive monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for the antimalaria active ingredient artemisinin in the Chinese herb Artemisia annua. Anal Bioanal Chem. 2009; 393: 1297-1303.
9. Willoughby JA, Sundar SN, Cheung M, Tin AS, Modiano J, Firestone GL. Artemisinin blocks prostate cancer growth and cell cycle progression by disrupting Sp1 interactions with the cyclin-dependent kinase-4 (CDK4) promoter and inhibiting CDK4 gene expression. J Biol Chem. 2009; 284: 2203-2213.
10- Arsenault PR, Wobbe KK, Weathers PJ. Recent advances in artemisinin production through heterologous expression. Curr Med Chem. 2008; 15: 2886-2896.
11. Klayman DL, Lin AJ, Acton N, Scovill JP, Hoch JM, Milhous WK, et al. Isolation of artemisinin (qinghaosu) from Artemisia annua growing in the United States. J Nat Prod. 1984; 47: 715-717.
12. Ro DK, Ouellet M, Paradise EM, Burd H, Eng D, Paddon CJ, et al. Induction of multiple pleiotropic drug resistance genes in yeast engineered to produce an increased level of anti-malarial drug precursor, artemisinic acid. BMC Biotechnol. 2008; 8: 83.
13. Ridder (de) S, Kooy (van der) F, Verpoorte R. Artemisia annua as a self-reliant treatment for malaria in developing countries. J Ethnopharmacol. 2008; 120: 302-314.
14. Willcox M, Burford G, Bodeker G. An overview of ethnobotanical studies on plants used for the treatment of malaria. IN: Willcox M, Bodeker G, Rasanavo p. Traditional Medicinal Plants and Malaria. CRC Press; 2004; 187-197.
15. Rasoanaivo Ph, Wright C, Willcox M, Gilbert B. Whole plant extracts versus single compounds for the treatment of malaria: synergy and positive interaction. Malaria J. 2011; 10(Suppl 1): S4.
16. Li J, Zhou B. Biological actions of artemisinin: Insights from medicinal chemistry studies. Molecules. 2010; 15: 1378-1397.
17. Mannan A, Ahmed I, Arshad W, Asim MF, Qureshi RA, Hussain I, et al. Survey of artemisinin production by diverse Artemisia species in northern Pakistan. Malaria J. 2010; 9: 310.
18. Sen R, Bandyopadhyay S, Dutta A, Mandal G, Ganguly S, Saha P, Chatterjee M. Artemisinin triggers induction of cell-cycle arrest and apoptosis in Leishmania donovani promastigotes. J Med Microbiol. 2007; 56: 1213-1218.
19. Utzinger J, Xiao SH, Tanner M, Keiser J. Artemisinins for schistosomiasis and beyond. Curr Opin Investig Drugs. 2007; 8: 105-116.
20. Dunay IR, Chan WC, Haynes RK, Sibley LD. Artemisone and artemiside control acute and reactivated toxoplasmosis in a murine model. Antimicrob Agents Ch. 2009; 53: 4450-4456.
21. Nibret E, Wink M. Volatile components of four Ethiopian Artemisia species extracts and their in vitro antitrypanosomal and cytotoxic activities. Phytomedicine. 2010; 17: 369-374.
22. Romero MR, Serrano MA, Vallejo M, Efferth T, Alvarez M, Marin JJG. Antiviral effect of artemisinin from Artemisia annua against a model member of the Flaviviridae family, the Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV). Planta Med. 2006; 72: 1169-1174.
23. Romero MR, Efferth T, Serrano MA, Castano B, Macias RIR, Briz O, Marin JJG. Effect of artemisinin/artesunate as inhibitors of hepatitis B virus production in an "in vitro" replicative system. Antiviral Res. 2005; 68: 75-83.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]

24. Sukul NC, Ghosh S, Sinhababu SP. Reduction in the number of infective Trichinella spiralis larvae in mice by use of homeopathic drugs. Forsch Kompl Klas Nat. 2005; 12: 202-5.
25. Ramazani A, sardari S, Zakeri S, Vaziri B. In vitro antiplasmodial and phytochemical study of five *Artemisia* species from Iran and in vivo activity of two species. Parasitol Res. 2010; 107: 953-599
26. Knight DJ, Peters W. The antimalarial activity of Nbenzyloxy dihydrotriazines. I. The activity of clociguanil (BRL 50216) against rodent malaria, and studies on its mode of action. Ann Trop Med Parasitol. 1980; 74: 393-404.
27. Motevalli haghi A, Nateghpour M, Edirssian GhH, Sori E, Satvat MT. Evaluation of the effectiveness of ethanolic extract of Peganum harmala against Plasmodium berghei in comparison with chloroquine in saurian mice using in vivo test. J School Public Health Institute Health Res. 2004; 2: 1-2.
28. Nahrevanian H, Aboufazeli F, Kazemi M, Hajihosseini R, Naeimi S. Phytochemical evaluation and antimalarial effects of Artemisia turanica herbal extracts as an Iranian flora on Plasmodium berghei in vivo. J Nat Rem. 2011; 11: 167-176.
29. Nahrevanian H, Esmaeili B, Kazemi M, Nazem H, 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.
30. Rustaiyan A, Nahrevanian H, Kazemi M. A new antimalarial agent; effect of extracts of Artemisia diffusa against Plasmodium berghei. Pharmacogn Mag. 2009; 4: 1-7.
31. Rustaiyan A, Nahrevanian H, Kazemi M. Isolation of Artediffusin (Tehranolide) as a new antimalarial agent. Asian J Chem. 2011; 23: 4810-4814.
32. khodadadi M, Nateghpour M, Farivar L, Motevalli Haghi A, Rahimi Foroshani A, Karbalaei Z. Evaluation of effectiveness of ethanolic extract of Artemisia aucheri individually and in combination with chloroquine, against chloroquine-sensitive strain of Plasmodium berghei in sourian mice. Iran J Parasitol. IN press 2013.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.22102/19.2.9]