

## بررسی تأثیر عصاره الکلی گیاه درمنه ترکی (*Artemisia annua*)

### در مقایسه با کلروکین بر پلاسمودیوم برگئی در موش سفید آزمایشگاهی

زینب کربلایی بازکی<sup>۱</sup>، مهدی ناطق پور<sup>۲</sup>، امیر حسین مقصود<sup>۳</sup>، عفت سوری<sup>۴</sup>، افسانه متولی حقی<sup>۵</sup>، لیلا فریور<sup>۶</sup>، معصومه خدادادی<sup>۸</sup>

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 انسیتو 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: ۰۸۱-۳۸۳۸۰۵۷۲
۵. استاد گروه شیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۶. محقق، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انسیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۷. کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انسیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۸. دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انسیتو 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 پارازیتی 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.

**یافته‌ها:** بررسی نشان داد که غلظت‌های ۱۱۰۰ و ۱۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره گیاهی میزان پارازیتی را در موش‌های آلوده بیشتر از سایر غلظت‌ها کاهش داده است، اما غلظت ۱۱۰۰ mg/kg 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؛ تأثیر عصاره الکلی درمنه ترکی در غلظت ۱۱۰۰ mg/kg روی پلاسمودیوم برگئی قابل توجه است.

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

وصول مقاله: ۹۱/۱۲/۲۰ اصلاحیه نهایی: ۹۲/۱۱/۲۶ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۷

## مقدمه

مالاریا یک بیماری 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). دم کرده 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 ضد مالاریایی 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، شیتوزوما، توکسوپلازما 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

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 روایی به باقی مانده آن ۷۵۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه و این روال تا ۴ روز تکرار شد. همه محلول‌های روایی 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 و ویرولانسی انگل به موش سوری تلقیح و پاساژ داده می‌شود. در این تحقیق دوز آلوده کننده مقدار  $10^6$  اریتروسیت پارازیت به صورت یک سوسپانسیون آماده در سرم فیزیولوژی و به حجم نهایی ۰/۲ میلی‌لیتر 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 (جدول ۱ و ۲).

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  $23 \pm 2$  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 ۲۲-۲۵ 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

جدول ۱- گروه بندی موش های آلوده شده با پلاسمودیوم برگنی و غلظت های مختلف تزریق شده دارو در مرحله اول

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

\* گروه شاهد مثبت

\*\* گروه شاهد منفی

جدول ۲- گروه بندی موش های آلوده شده با پلاسمودیوم برگنی و غلظت های مختلف تزریق شده دارو در مرحله دوم

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

\* گروه شاهد مثبت

\*\* گروه شاهد منفی

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.

### یافته‌ها

در این مطالعه پارازیتی 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 پارازیتی در گروه شاهد مثبت و پلاسبو در هر دو مرحله کاملاً نزدیک به هم و در حال افزایش بود. میانگین زمان بقای این دو گروه نیز به ترتیب  $13/4 \pm 0/1$  و  $13 \pm 0/2$  روز بود. در نتایج این دو گروه با هم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p=0/067$ ). همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود در مرحله اول، غلظت‌های بالاتر از  $1000 \text{ mg/kg}$  از عصاره آرتیمیزیا آن‌ها همگی اثرات منفی بر روی رشد انگل داشته‌اند و در بین آنها کمترین میزان پارازیتی مربوط به گروه ۵ (غلظت  $1250 \text{ mg/kg}$ ) می‌باشد ( $p=0/005$ ). 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 ( $p<0/005$ ).

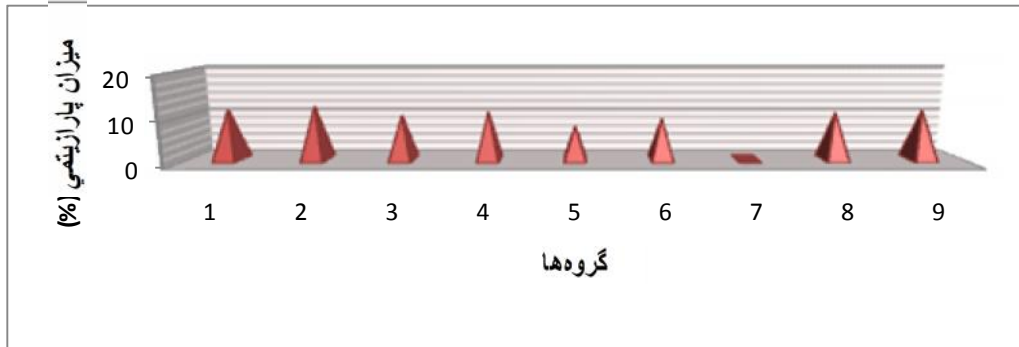
یافته‌های مرحله اول نشان دهنده تاثیر قابل توجه عصاره درمنه ترکی بر روی پلاسمودیوم برگئی بود. با توجه به نتایج مرحله اول، در مرحله دوم دامنه کوچکی از غلظت‌های دارو بر روی موش‌های آلوده مورد آزمایش قرار گرفت. با توجه به اینکه در مرحله اول، گروه ۴ (غلظت  $1000 \text{ mg/kg}$ ) دارای پارازیتی بالاتر و گروه ۶ (غلظت  $1500 \text{ mg/kg}$ ) میانگین بقای کمتری نسبت به گروه ۵ داشتند، جهت بررسی دقیق‌تر و به دست آوردن موثرترین غلظت در مرحله دوم غلظت‌هایی با فاصله  $50 \text{ mg/kg}$  و از

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٪ توپین-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

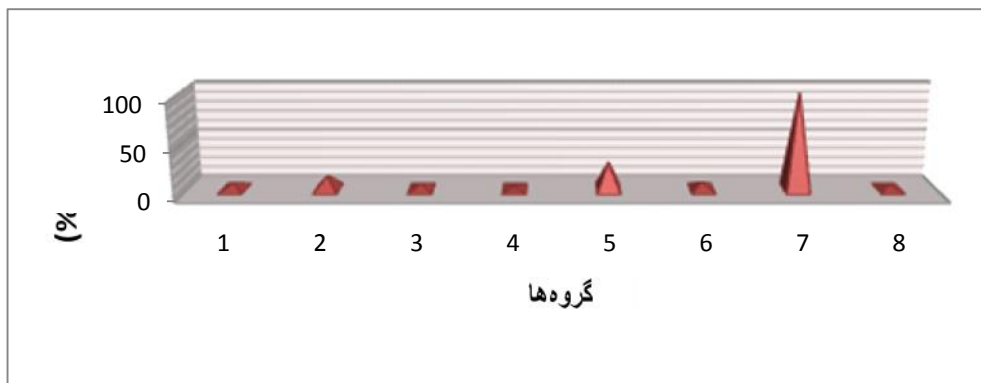
درمان با استفاده از روش پیشنهادی Peters انجام گردید (۲۶). در این روش درمان ۲ ساعت پس از تزریق انگل به موش‌های مورد مطالعه به صورت زیرجلدی آغاز شد و تا ۴ روز ادامه داشت. به منظور حلالیت و رقیق سازی عصاره درمنه ترکی از محلول ۲/۵٪ توپین-۲۰ در سرم فیزیولوژی استفاده گردید. غلظت‌های مختلف عصاره تزریقی، بر حسب میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن موش محاسبه و در حجم ۰/۲ میلی‌لیتر (حجم تزریق) از محلول ۲/۵٪ توپین-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 پارازیتی تعیین گردید. موثرترین غلظت دارو غلظتی بود که میزان پارازیتی را در مقایسه با گروه شاهد به کمترین حد رسانده و اثر سمی بر روی موش‌ها نداشت. بررسی موش‌ها از نظر میزان پارازیتی تا ۲۸ روز و از نظر مرگ و میر تا ۳۵ روز ادامه داشت. در هر دو مرحله، میزان پارازیتی ( $\times 100$ ) پارازیتی گروه کنترل / پارازیتی گروه مورد) و درصد ممانعت از رشد انگل [ $\times 100$ ] پارازیتی گروه کنترل / پارازیتی 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

غلظت ۱۱۰۰ تا ۱۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مورد آزمایش قرار گرفت.



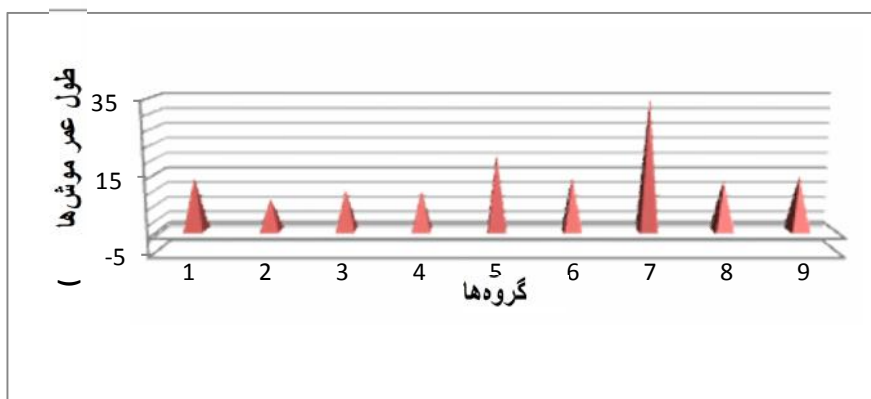
1: 250 mg/kg *A. annua*; 2: 500 mg/kg *A. annua*; 3: 750 mg/kg *A. annua*; 4: 1000 mg/kg *A. annua*; 5: 1250 mg/kg *A. annua*; 6: 1500 mg/kg *A. annua*; 7: 20 mg/kg chloroquine; 8: control; 9: placebo

نمودار ۱- میانگین میزان پارازیتیسمی 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)

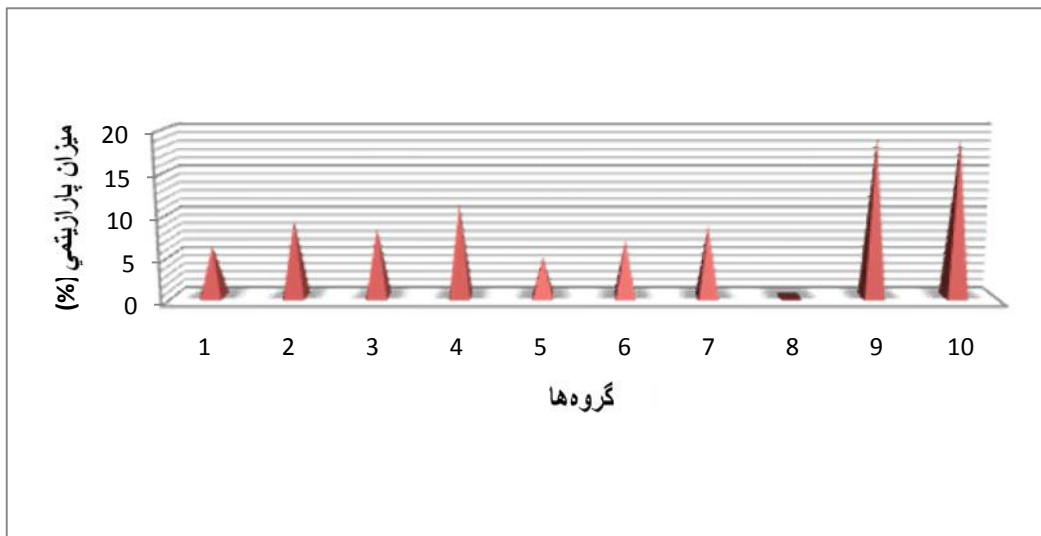


نمودار ۳- میانگین مدت بقا موش‌های تحت درمان با غلظت‌های مختلف دارو (مرحله اول)

در این مطالعه، بررسی پارازیتی 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.

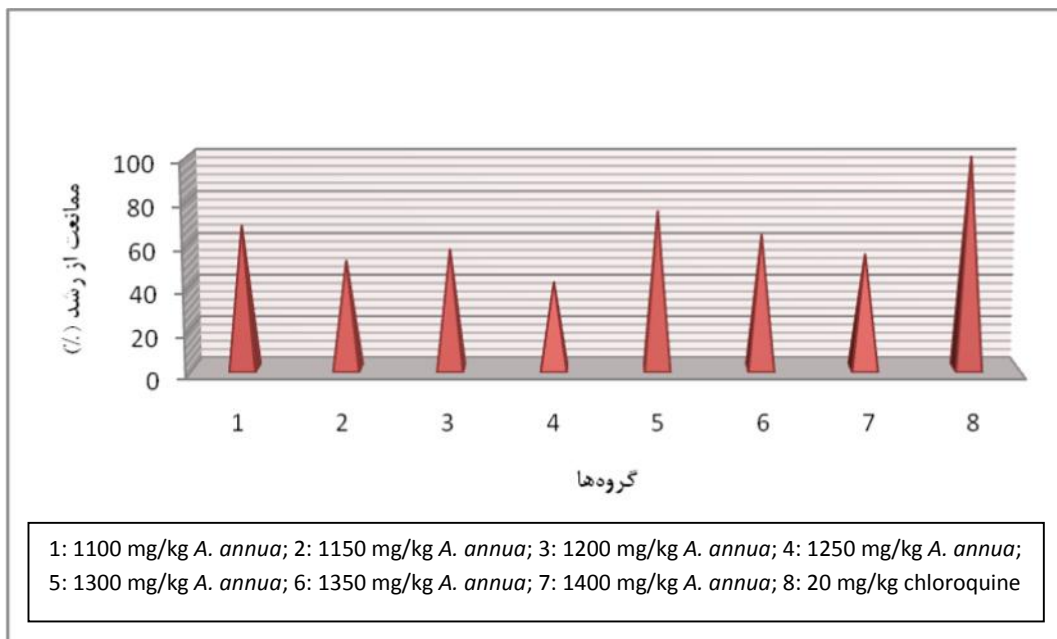
لازم به ذکر است که موش‌های شاهد منفی در هر دو مرحله تا پایان ۳۵ روز در سلامت کامل به سر برده و هیچ‌گونه مرگ و میری در این گروه مشاهده نشده است.

نمودار ۴ نشان می‌دهد که در مرحله دوم مطالعه، عصاره درمنه ترکیبی میزان پارازیتی 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 ترکیبی بر روی انگل وجود ندارد ( $p=0/185$ ). اما با مقایسه زمان بقا این دو گروه (نمودار ۶) مشخص شد که میانگین طول عمر موش‌های گروه ۱ ( $20 \pm 0/6$  روز) بیشتر از طول عمر موش‌های گروه ۵ ( $13/2 \pm 0/4$  روز) بوده است ( $p<0/001$ ).



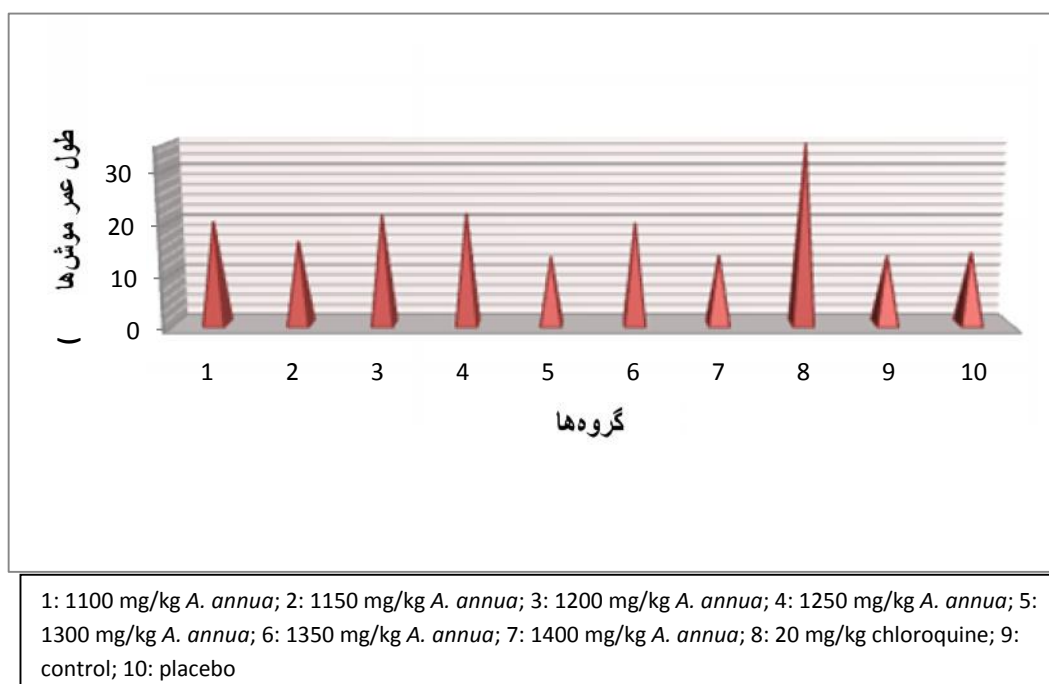
1: 1100 mg/kg *A. annua*; 2: 1150 mg/kg *A. annua*; 3: 1200 mg/kg *A. annua*; 4: 1250 mg/kg *A. annua*; 5: 1300 mg/kg *A. annua*; 6: 1350 mg/kg *A. annua*; 7: 1400 mg/kg *A. annua*; 8: 20 mg/kg chloroquine; 9: control; 10: placebo

نمودار ۴- میانگین میزان پارازیتی 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)



نمودار ۶- میانگین مدت بقا موش‌های تحت درمان با غلظت‌های مختلف دارو (مرحله دوم)

## بحث

موش‌های این گروه  $20 \pm 0.6$  روز بوده است. گرچه مطالعه Mannan نشان می‌دهد ماده موثره عصاره جنس *آرتمیزیان* عوارض کمتری برای موش‌ها در مقایسه با بعضی گیاهان دیگر دارویی دارد (۲۸)، نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد غلظت‌های بالاتر از  $1300 \text{ mg/kg}$  می‌تواند اثرات مخربی بر طول عمر موش‌ها داشته باشد و در میان دو غلظت یاد شده در بالا، غلظت  $1100 \text{ mg/kg}$  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 *آرتمیزیان* 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  $\text{mg/kg}$  ۱۰۰۰ از عصاره گیاه به عنوان بهترین غلظت در از بین بردن پلاسمودیوم برگئی در نظر گرفته شد (۳۲). هم چنین در

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  $1100 \text{ mg/kg}$  و  $1300 \text{ mg/kg}$ ، 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  $1100 \text{ mg/kg}$ ) می‌باشد که میانگین طول عمر

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه می توان گفت اثر گیاه درمنه ترکی بر روی پلاسمودیوم برگئی قابل ملاحظه بوده و موثرترین غلظت مشاهده شده در این بررسی، غلظت ۱۱۰۰ mg/kg می باشد. گرچه کاهش پارازیتی در مقایسه با داروی استاندارد کلروکین در موش های 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 می شود.

### تشریح و قدردانی

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

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

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

### 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.

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.

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 hagh 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 pharmacology 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 saurian mice. *Iran J Parasitol.* IN press 2013.