

## روش MTT

میترا نصر آزادانی، محسن زرگر، منیر دودی، پریسا شعاعی،

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی

استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی

استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی

کارشناس، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی

### چکیده

**مقدمه و هدف:** لیشمانیازیس بیماری است که توسط تک یاخته ای از جنس لیشمانیا ایجاد می شود و می تواند به عنوان یک بیماری مشترک انسان و دام مورد بررسی قرار بگیرد. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر ضد لیشمانیایی عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی بر پروماستیگوت های انگل لیشمانیا ماژور در شرایط آزمایشگاهی طراحی و اجرا شد.

**روش بررسی:** ابتدا عصاره به روش خیساندن آماده شد. سپس عصاره خشک شد و در ۵٪ DMSO حل شد. در مرحله بعد پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور در دمای  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  در فاز ثابت در محیط RPMI ۱۶۴۰ غنی شده با سرم جنین گوساله FCS ۱۰٪ و آنتی بیوتیک پنی سیلین - استرپتومایسین کشت داده شد. سپس با استفاده از روش رنگ سنجی MTT، فعالیت بیولوژیکی عصاره گیاهی در مقایسه با گلوکانتیم روی پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور مورد بررسی قرار گرفت. میزان جذب نوری، به وسیله دستگاه الیزا ریدر (Elisa reader) سنجیده شده و سپس مقدار  $\text{IC}_{50}$  محاسبه گردید. همه تست ها ۳ بار تکرار شد.

**یافته ها:**  $\text{IC}_{50}$  گلوکانتیم ۱۸/۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر بود و  $\text{IC}_{50}$  برای عصاره الکلی ۱۰۹۴ میکروگرم بر میلی لیتر بود. هر چند که، گلوکانتیم با غلظت کمتر مؤثرتر از عصاره گیاه مورد نظر بود، اما عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی دارای اثرات قابل ملاحظه ای روی پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور بود.

**نتیجه گیری:** با توجه به این که عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی دارای اثرات ضد لیشمانیایی در محیط آزمایشگاه می باشد، لزوم انجام آزمایشات بیشتر برای ارزیابی اثر این عصاره بر روی انگل لیشمانیا در مدل حیوانی احساس می شود.

## واژه های کلیدی : لیشمانیا مازور، کاسنی (*Cichorium intybus*)، MTT

### مقدمه:

لیشمانیوز به طیفی از بیماری ها اطلاق می شود که توسط تک یاخته هایی از راسته کینتوپلاست داران و جنس لیشمانیا ایجاد می شود. تظاهرات بالینی بیماری متنوع و به ۳ فرم لیشمانیوز جلدی، مخاطی و احشایی مشاهده شده است [۵]. انگل لیشمانیا تک یاخته درون سلولی است و از طریق پشه خاکی فلبوتوموس منتقل می شود [۱۵]. عامل بیماریزایی لیشمانیوز نوعی تک یاخته به نام لیشمانیا می باشد که بر حسب محیط زندگی اش به دو شکل بدون تاژک آزاد (اماستیگوت یا جسم لیشمن) و تاژکدار (پروماستیگوت) مشاهده شده است. این انگل در مهره داران در داخل سلول های بیگانه خوار تک هسته ای زندگی می کند و تکثیر می یابد. انگل های لیشمانیوز عموماً توسط گونه های پشه خاکی منتقل می شوند [۱۲-۱۴]. شکل تاژکدار یا پروماستیگوت<sup>۱</sup>، در پشه های خاکی و محیط کشت ایجاد می گردد. پروماستیگوت ها اجسام متحرک و باریک به طول ۳۰-۱۵ میکرومتر و قطر ۳-۱/۵ میکرومتر می باشند این اشکال دارای یک تاژک جلویی هم طول یا بلندتر از جسم انگل می باشند که از جسم قاعده ای<sup>۲</sup> منشاء می گیرد. یک غشای دولایه ای، سیتوپلاسم را که شامل هسته، کینتوپلاست، جسم قاعده ای و بقیه اندامک ها می باشد، در برمی گیرد [۴-۶-۱۰]. ارزیابی علمی در تهیه گیاهان دارویی در بین مردم باقی مانده است. پزشکی مدرن با تأیید داروسازی درمان بیماری های ایجاد شده به وسیله تک یاخته های انگلی را فراهم کرده است. بعضی متابولیت های به دست آمده از گیاهان استفاده شده در درمان بیماری های ایجاد شده به وسیله تک یاخته های انگلی کوئینون، آلکالوئید و ترپن ها هستند [۷]. کاسنی (*Cichorium intybus*) گیاهی است از راسته گل مینا (*Asterales*) تیره گل ستاره ای ها (*Asteraceae*) از سرده کاسنی ها (*Cichorium*). از این گیاه دو گونه کشتی و چهار تا شش گونه وحشی موجود است. این گیاه انواع مختلفی دارد که سه نوع آن معروف است [۳]. از ترکیبات موجود در برگ کاسنی نیز می توان سیکورین (*Cichorine*) را نام برد که یک

<sup>1</sup>-promastigot.

<sup>2</sup>- Basal body.

گلیکوزید تلخ می باشد [۹]. از خواص درمانی این گیاه می توان به آب برگ کاسنی به عنوان بهترین داروی یرقان ، کلیه ها و کبد اشاره کرد، ضماد آن برطرف کننده ورم های دورچشم و افزایش دهنده بینائی است [۲]. این مطالعه با هدف ارزیابی عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی بر پروماستیگوت های انگل *لیشمانیا ماژور* استاندارد در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

### پیشینه تحقیق:

الله دین وهمکاران در سال ۱۳۹۳ روی گیاه چای سبز (*کاملیا سننسیس*) انجام شد، فعالیت عصاره چای سبز علیه پروماستیگوت های *لیشمانیا ماژور* و *لیشمانیا اینفنتوم* با روش رنگ سنجی MTT، در شرایط *In vitro*، بررسی کردند. میزان IC<sub>50</sub> عصاره، بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون برای *لیشمانیا ماژور* ۱۹ میکروگرم بر میلی لیتر و برای *لیشمانیا اینفنتوم* ۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد. به طوری که میزان IC<sub>50</sub> داروی گلوکانتیوم، برابر ۲۱/۸ و ۱۰/۶۱ میکروگرم بر میلی لیتر، به ترتیب برای *لیشمانیا* های نام برده بود.

یخچالی وهمکاران در سال ۱۳۹۲ اثر گیاه خرزهره، دانه فلفل، پودر بادام و روغن کرچک بر روی گونه های انگل جلدی *لیشمانیا* در شرایط آزمایشگاهی و تاثیر آن بر روند ایجاد ضایعه در موش سوری مورد بررسی قرار دادند. از نظر کمی، تعداد پروماستیگوت های انگل *لیشمانیا* در مواجهه با ترکیب گیاهی در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته بود. مطالعه ضایعه جلدی در قاعده دم موش های سوری تحت بررسی نیز بیانگر تاثیر معنی دار ترکیب گیاهی بر روند تشکیل زخم و ندول جلدی در قاعده دم موش های تیمار در مقایسه با گروه شاهد بود. ارزیابی اثر این ترکیب گیاهی بر رشد انگل در شرایط آزمایشگاهی و در تلقیح به موش سوری بیانگر تاثیر مثبت آن بر *لیشمانیا* و روند تشکیل زخم بود.

نصرت آبادی وهمکاران در سال ۲۰۱۳ ارزیابی اثرات عصاره متانولی و آبی گیاه اکالیپتوس (*یوکالیپتوس کاملاجو لنسیس*) علیه پروماستیگوت های *لیشمانیا ماژور* به روش MTT در شرایط *In vitro*، انجام دادند. میزان IC<sub>50</sub> بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون برای عصاره متانولی و آبی به ترتیب، ۵۸۶/۲ و ۱۱۰۸/۶ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد. میزان IC<sub>50</sub> داروی کنترل تار تارامتیک برابر ۳۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد نتیجه این که عصاره گیاه اکالیپتوس فعالیت ضد *لیشمانیایی* خوبی علیه پروماستیگوت های انگل در غلظت های مختلف از هم نشان داد.

تاران وهمکاران در سال ۲۰۱۰ اثر بخشی صمغ پیستاسیا *آتالانتیکا* را به صورت موضعی در درمان *لیشمانیوز* پوستی در مدل حیوانی (موش Balb/c) را بررسی کردند. نتایج آن ها نشان داد صمغ این درخت می تواند برای کنترل *لیشمانیوز* جلدی روستایی استفاده شود و مانع پیشرفت زخم سالک گردد.

## مواد و روشها:

مراحل تهیه عصاره از گیاه:

ابتدا خار و خاشاک و قسمت های غیر قابل استفاده از گیاه کاسنی تهیه شده جدا و پس از تمیز کردن، در سینی های مخصوص و در درجه حرارت اتاق و در سایه خشک و با آسیاب الکتریکی خرد و از الک شماره ۱۰ عبور داده شد. سپس به آرامی اتانول ۸۰ درصد به نسبت یک به ده در لوله در پیچ دار اضافه شد، تا جایی که حلال به طور یکنواخت در کل توده گیاهی نفوذ کند و روی سطح آن را هم بپوشاند، سپس درب ظرف بسته شد و به مدت ۲ ساعت نمونه گیاهی در حلال خیس شده و داخل بن ماری شیکردار قرار گرفت. بعد از گذشت ۲ ساعت روی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد و وارد ارلن گردید، عصاره به دست آمده سبز و شفاف بود بار دیگر روی پسمانده مورد نظر الکلی اضافه شد و تا ۲ ساعت دو مرتبه وارد بن ماری شیکردار گردید تا مواد مؤثره آن بهتر خارج شود و در نهایت صاف شد. عصاره ای که در ابتدا خارج شد غلیظ تر و بتدریج رقیق تر و شفاف تر گردید. عصاره جمع آوری شده تحت خلاء توسط روتاری به صورت عصاره تغلیظ شده جمع آوری گردید. عصاره تا زمان مصرف در دمای ۴- درجه سانتی گراد در یخچال در ظرف کوچک رنگی نگهداری شد.

تهیه و کشت انگل لیشمانیا:

سویه استاندارد *لیشمانیا ماژور* با کد MHOM/IR/75/ER پروماستیگوت از بخش انگل شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که در ۷۰-درجه سانتی گراد نگهداری می شد تهیه گردید. پس از ذوب کردن به محیط استوک Schneider insect Medium منتقل شده تا به حد کفایت رشد کند. جهت انبوه سازی به محیط RPMI -1640 به همراه آنتی بیوتیک های مربوطه انگل انتقال یافت و به فاصله ۳-۴ روز کشت مکرر انجام شد. پس از تولید انبوه در مرحله ایستا و انتقال به محیط تازه در ویال های مناسب تقسیم و به مدت ۲۴ ساعت در ۲۰-درجه سانتی گراد و پس از آن در ۱۹۵- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

اثر کشندگی عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی:

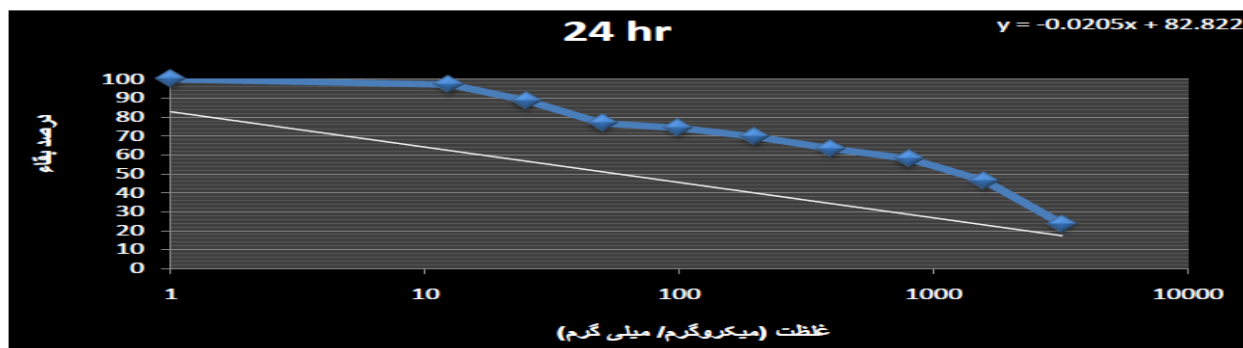
پس از تغلیظ و خشک شدن عصاره گیاهی مورد مطالعه، عصاره ابتدا توسط DMSO (دی متیل سولفوکسید ۵ درصد) حل شده و سپس توسط محیط کشت RPMI رقیق شد تا در نهایت غلظت DMSO به کمتر از ۱٪ برسد. سپس غلظت‌های مختلف عصاره به محیط کشت حاوی پروماستیگوت های زنده افزوده شد. عصاره با ۱۰ غلظت  $\mu\text{g/ml}$ ، ۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰، ۳۲۰۰ مورد بررسی قرار گرفته و برای هر غلظت سه چاهک از پلیت ۹۶ خانه در نظر گرفته شد. هر آزمون ۲ بار تکرار شد. در بررسی های سایتوتوکسیک از تست MTT استفاده شد. در این روش نمک زرد رنگ تترازولی و متوسط سلول های زنده و فعال از لحاظ متابولیکی که قادر به تولید آنزیم دهیدروژناز می باشند، تبدیل به رسوب فورمازان بنفش رنگ نامحلول شدند، که قادر به نفوذ از داخل سلول به خارج نبودند و در داخل سلول های زنده تجمع یافتند که می توان با استفاده از یک حلال مثل DMSO آنرا به حالت محلول در آورده و با استفاده از دستگاه الیزاریدر (Elisa reader) جذب آن را خواند. به این ترتیب میزان جذب با تعداد سلول زنده ارتباط مستقیم داشت.  $IC_{50}$  هر نمونه از طریق محاسبه میانگین میزان جذب رسوب فورمازان در هر سری آزمایش در مقابل میانگین جذب شاهد تعیین شد. پس از انجام تست سایتوتوکسیک و به دست آوردن  $IC_{50}$ ، عصاره با کمترین  $IC_{50}$  جهت بررسی های بعدی انتخاب شد. از داروی گلوکانتیم به عنوان داروی شاهد ۴۰ میلی گرم پودر گلوکانتیم را در ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (PBS) حل کرده، سپس ۵۰۰ میکرولیتر از محیط RPMI به ویال های اپندورف اضافه و به طور سری داروی گلوکانتیم رقیق شد، بدین صورت که ۵۰۰ میکرولیتر از ویال اپندورف اولی به دومی اضافه و تا اپندورف پنجم ادامه داده تا رقت سازی تمام شد، از گلوکانتیم هم هفت رقت (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰) تهیه، سپس رقت های عصاره و گلوکانتیم از فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرون عبور داده شد تا استریل شود.

#### نتایج :

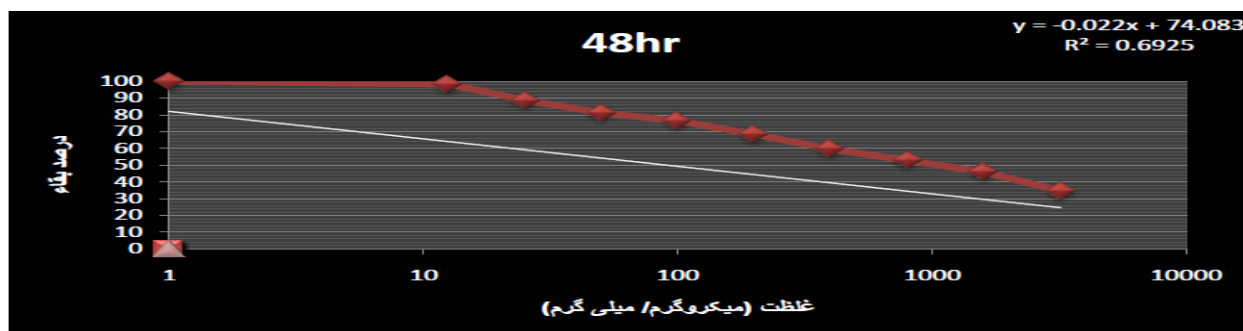
در این مطالعه، بعد از تهیه عصاره از برگ گیاه کاسنی در غلظت های متفاوت و در ساعت های مختلف ۲۴،۴۸ و ۷۲ ساعت با پروماستیگوت های انگل لیشمانیا ماژور مجاور و تاثیر آنها با روش MTT و میکروسکوپی بررسی شد.  $IC_{50}$  عصاره گیاه مورد مطالعه در ساعت های مختلف ۲۴،۴۸ و ۷۲ به صورت مجزا اندازه گیری شد، که به تفسیر در ذیل ارائه شده است.

۱- نتایج اثر ضد لیشمانیایی عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) در مقایسه با داروی گلوکانتیم

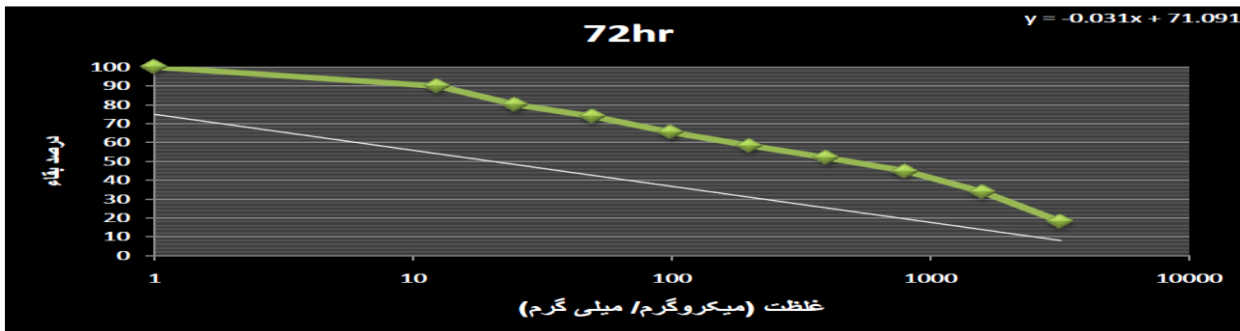
نمودار ۱-۱: محاسبه  $IC_{50} = 160.1/1 \mu g/ml$  عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) با استفاده از نتایج به دست آمده حاصل از اثر غلظت های مختلف این عصاره بر پروماستیگوت های *لیشمانیا مائور* در شرایط *in vitro* به روش MTT بعد از ۲۴ ساعت.



نمودار ۲-۱: محاسبه  $IC_{50} = 1094 \mu g/ml$  عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) با استفاده از نتایج به دست آمده حاصل از اثر غلظت های مختلف این عصاره بر پروماستیگوت های *لیشمانیا مائور* در شرایط *in vitro* به روش MTT بعد از ۴۸ ساعت.

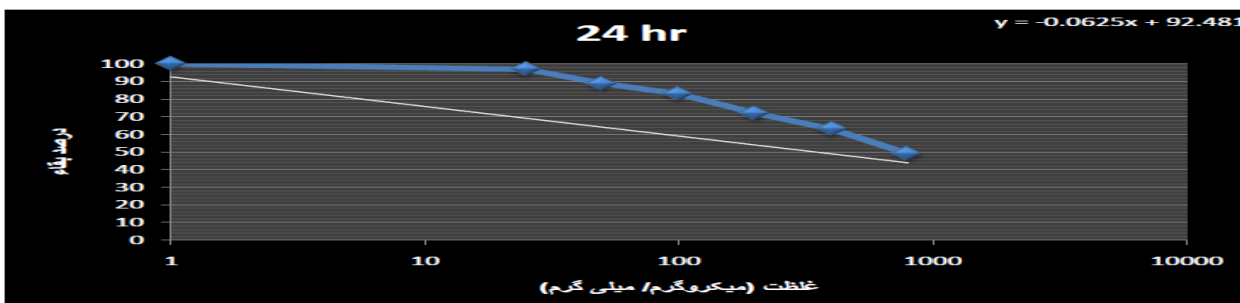


نمودار ۳-۱: محاسبه  $IC_{50} = 680.35 \mu g/ml$  عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) با استفاده از نتایج به دست آمده حاصل از اثر غلظت های مختلف شرایط بر پروماستیگوت های *لیشمانیا مائور* در شرایط *in vitro* به روش MTT بعد از ۷۲ ساعت.

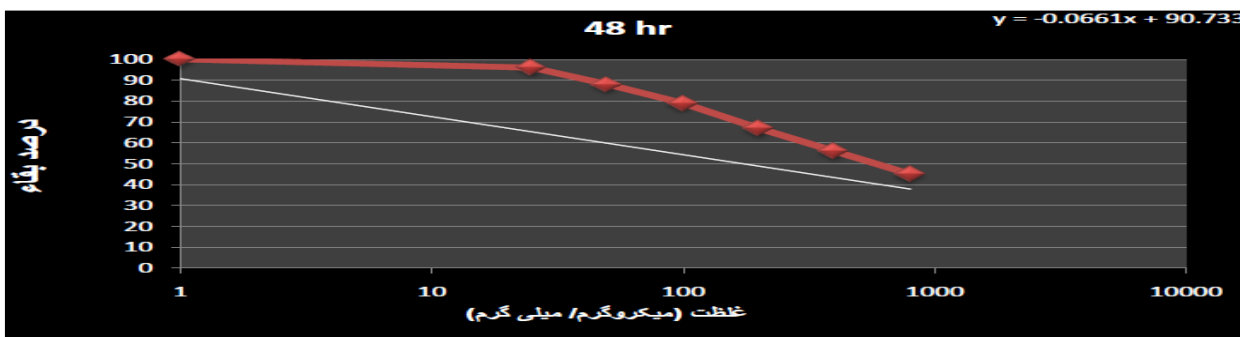


۲- نتایج اثر داروی گلوکانتیم جهت مقایسه عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*)

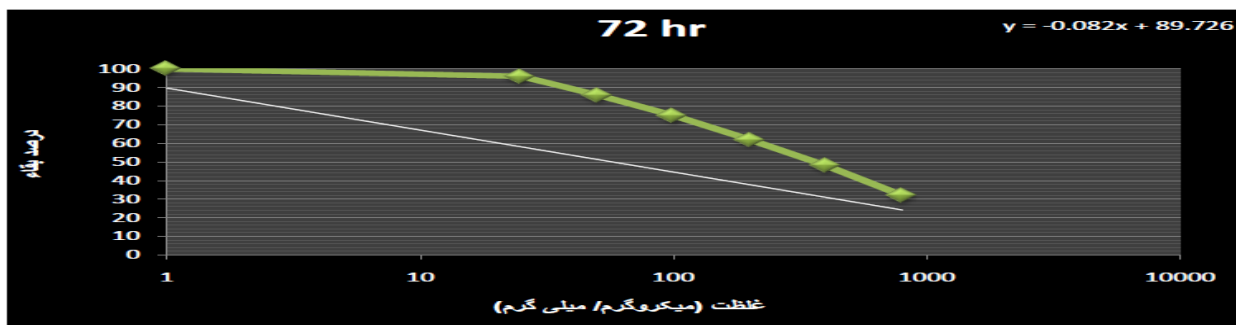
نمودار ۱-۲: محاسبه  $IC_{50} = 680 \mu\text{g/ml}$  داروی گلوکانتیم، به عنوان داروی کنترل بر پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور در شرایط *in vitro*، به روش MTT بعد از ۲۴ ساعت.



نمودار ۲-۲: محاسبه  $IC_{50} = 616/18 \mu\text{g/ml}$  داروی گلوکانتیم، به عنوان داروی کنترل بر پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور در محیط *in vitro*، به روش MTT بعد از ۴۸ ساعت.



نمودار ۳-۲: محاسبه  $IC_{50} = 484/39 \mu\text{g/ml}$  داروی گلوکانتیم، به عنوان گروه کنترل بر پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور در محیط *in vitro*، به روش MTT بعد از ۷۲ ساعت.



بحث:

الله دین وهمکاران در سال ۱۳۹۳ که روی گیاه چای سبز (کاملیا سننسیس) انجام شد، فعالیت عصاره چای سبز علیه پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفنتوم با روش رنگ سنجی MTT، در شرایط Invitro، بررسی شد. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی اثرات ضد لیشمانیایی عصاره گیاه چای سبز در مقایسه با داروی کنترل مگلو مین آنتیمونات (گلوکانتیم) با استفاده از روش رنگ سنجی MTT است. پروماستیگوت های انگل لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفانتوم در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد FCS و آنتی بیوتیک هست در دمای ۲۴ درجه ی سانتی گراد کشت داده شد و تاثیر غلظت های مختلف عصاره چای سبز در مقایسه با گلوکانتیم بر روی پروماستیگوت های این دو گونه انگل لیشمانیا، با استفاده از روش رنگ سنجی MTT مورد بررسی قرار گرفت. میزان جذب نوری به وسیله دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد و سپس نتایج به صورت IC50 بیان شده است. میزان IC50 عصاره بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون، برای لیشمانیا ماژور ۱۹ μg/ml و برای لیشمانیا اینفانتوم ۱۲ μg/ml به دست آمد به طوری که میزان IC50 داروی کنترل گلوکانتیم برابر ۸/۲۱ μg/ml و ۱۶/۱۰ μg/ml به ترتیب برای لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفانتوم است. اثربخشی این عصاره بر روی این گونه انگل تقریباً معادل گلوکانتیم می باشد و بنابراین دارای پتانسیل استفاده از آن به عنوان داروی ضد لیشمانیایی می باشد. و اما در مطالعه حاضر اثر ضد لیشمانیایی عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) در محیط in vitro بررسی شد. پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور در دمای ۲۵±۲°C در فاز ثابت در محیط RPMI ۱۶۴۰ غنی شده با سرم جنین گوساله ۱۰٪ و آنتی بیوتیک پنی سیلین - استرپتومایسین کشت داده شد و در محیط Schneider insect medium به کشت انبوه رسانده شد. به طوری که انگل لیشمانیا ماژور علاوه بر محیط مایع اشنایدر در محیط دو فازی NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) نیز رشد می کند و به مدت دو هفته رشدش به طول می انجامد اما در محیط مایع اشنایدر رشد این انگل ۲-۸ روز به دلیل مغذی بودن مثبت می شود. و در مطالعه حاضر بر اساس این مسئله نسبت به این تحقیق برتری دارد. سپس با استفاده از روش رنگ سنجی MTT، فعالیت بیولوژیکی عصاره گیاهی در مقایسه با گلوکانتیم روی پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور مورد بررسی قرار



گرفت. میزان جذب نوری رنگ حاصله از احیای نمک تترازولیوم (MTT) به محصول رنگی فورمازان توسط انگل، بوسیله دستگاه الیزایدردر (Elisa reader) سنجیده شده و مقدار  $IC_{50}$  (که ۵۰٪ غلظت مهار کننده است) محاسبه گردید.  $IC_{50}$  گلوکانتیم ۱۶/۱۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود و  $IC_{50}$  برای عصاره الکلی ۱۰۹۴ میکروگرم بر میلی لیتر، بود. اگر چه گلوکانتیم موثرتر از عصاره گیاه بود اما عصاره دارای اثر قابل ملاحظه ای روی پروماستیگوت‌های *لیشمانیا ماژور* بود. اما ضرورت انجام آزمایش‌های بیشتری جهت ارزیابی این عصاره بر روی انگل *لیشمانیا ماژور* در مدل حیوانی و *In vivo* احساس می‌شود.

دلیمی و همکاران در سال ۱۳۹۰ تاثیر عصاره آبی دو گیاه تشنه داری (*Scrophularia striata* Boiss) و درمنه (*Artemisia sieberi* Besser) بر رشد *لیشمانیا ماژور* در شرایط *In vitro* را مورد تحقیق قرار دادند. طبق یافته های این بررسی، پروماستیگوت‌های *لیشمانیا ماژور* در محیط کشت RPMI تحت تاثیر غلظت‌های ۲۰٪ و ۲۵٪ درمنه، در همان روز اول به طور کامل از بین رفتند. در حالی که تشنه داری در غلظت ۲۵٪ و در روز سوم باعث مرگ انگل گردید. کاهش رشد انگل در محیط کشت RPMI تحت تاثیر درمنه در هر ۳ غلظت به طور معنی داری بیشتر از تشنه داری بود. غلظت‌های ۲۰٪ درمنه در روز دوم و غلظت ۲۰٪ تشنه داری در روز سوم باعث از بین بردن کامل آماستیگوت‌های *لیشمانیا ماژور* در ماکروفاژ گردید. و اما در مطالعه حاضر اثر ضد *لیشمانیایی* عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) در محیط *in vitro* با استفاده از تست MTT، بررسی شد. پروماستیگوت‌های *لیشمانیا ماژور* در دمای  $25 \pm 2^{\circ}C$  در فاز ثابت در محیط RPMI ۱۶۴۰ غنی شده با سرم جنین گوساله FCS ۱۰٪ و آنتی بیوتیک پنی سیلین - استرپتومایسین کشت داده شد که در مطالعه حاضر سپس با استفاده از روش رنگ سنجی MTT، فعالیت بیولوژیکی عصاره گیاهی در مقایسه با گلوکانتیم روی پروماستیگوت‌های *لیشمانیا ماژور* مورد بررسی قرار گرفت. میزان جذب نوری رنگ حاصله از احیای نمک تترازولیوم (MTT) به محصول رنگی فورمازان توسط انگل، بوسیله دستگاه الیزایدردر (Elisa reader) سنجیده شده و مقدار  $IC_{50}$  (که ۵۰٪ غلظت مهار کننده است) محاسبه گردید. در مطالعه حاضر بر اساس قراردادن تست رنگ سنجی MTT، و هم چنین قابل مقایسه با داروی استاندارد گلوکانتیم می باشد نسبت به این تحقیق برتری دارد.  $IC_{50}$  گلوکانتیم ۱۶/۱۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود  $IC_{50}$  برای عصاره الکلی ۱۰۹۴ میکروگرم بر میلی لیتر، بود. اگر چه گلوکانتیم موثرتر از عصاره گیاه بود اما عصاره دارای اثر قابل ملاحظه ای روی پروماستیگوت‌های *لیشمانیا ماژور* بود.

نتیجه گیری :

در این مطالعه اثر ضد لیشمانیایی عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) در شرایط *in vitro* بررسی شد که دارای اثرات ضدلیشمانیایی قابل توجهی بود. با توجه به این که عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) با  $IC_{50}$  برابر  $1094 \mu\text{g/ml}$  بود، ولی  $IC_{50}$  گلوکانتیم  $616/118$  میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد، ولی به دلیل عوارض کمتر گیاهان دارویی و تأثیر خوبی که این گیاه بر پروماستیگوت های لیشمانیا مازور به صورت برون تنی از خود نشان داده است، به نظر می رسد استفاده از این گیاه مناسب تر است ولی با این حال ضرورت انجام آزمایشات بیشتری جهت ارزیابی این عصاره بر روی انگل لیشمانیا در مدل های حیوانی و انسان های داوطلب، احساس می شود که این خود بزرگترین محدودیت این مطالعه بوده است. چرا که فرم اصلی بیماری زایی انگل فرم داخل سلولی (اماستیگوت) می باشد و برای این که این عصاره را به عنوان یک ماده ضد لیشمانیایی مناسب ارائه دهیم نیاز است این مطالعات تکمیلی نیز صورت بگیرد.

### تشکر و قدر دانی:

با تقدیر و تشکر از همکاری پرسنل محترم آزمایشگاه مرکز تحقیقات پوست و سالک و مرکز بیماری های عفونی و گرمسیری صدیقه طاهره (ع) استان اصفهان و تمامی اساتید و پرسنل این مرکز که در این راستا با ما همکاری لازم را داشتند.

### منابع:

۱-الله دین س، خادم وطن ش و همکاران؛ بررسی تاثیر عصاره گیاه کاملیا ساینسیس بر پروماستیگوت انگل های لیشمانیا مازور و لیشمانیا/ینفانتوم با روش رنگ سنجی MTT. مجله پزشکی، دوره بیست و پنجم، شماره دهم، ارومیه، صفحات ۸۹۳ - ۹۰۰، ۱۳۹۳.

۲-فصیحی ب و همکاران؛ سایت طب سنتی ایران دوره ۵، شماره ۱، صفحات ۱۲۳-۱۲۴، ۱۳۹۰.

۳- مشارکت کنندگان ویکی پدیا (Chicory) ویکی پدیا انگلیسی؛ دانشنامه آزاد، نسخه ۱۵، ژانویه ۲۰۰۶.

4-Alrajhi A, Cutaneous Leishmaniasis of The Old World, Skin Therapy, 2003, 8, pp. 1-4.

5-Babae KL, Mohebal M, Nikan L. et al, The therapeutic effect of eucalyptus, Myrtus, ferula, aretmisia, allium and urtica extracts against cutaneous leishmaniasis caused by leishmania major in small white mice, Hakim research journal, 2007, 10(2), pp. 21-27.

6-Blum J, Desjen P, Schwartz E. et al, Treatment of Cutaneous Leishmaniasis among travelers, J Antimicrobial Chemotherapy, 2004, 53, pp. 158- 166.

- 7-Chan-Bacab MJ, Pena-Rodriguez LM, Plant natural products with leishmanicidal activity, *Nat Prod Rep*, 2007,18(6) ,pp.674-88.
- 8-Dalimi A ,Arbabi M .et al, The effect of aqueous extraction of *Artemisia sieberi* Besser and *Scrophularia striata* Boiss. on *Leishmania major* under in vitro conditions,2011,26(2) , pp.237-246.
- 9-Ghaderi R, Hassanpour M. et al, Comparison of antimicrobial effect of *Cichoriumintybus* L, with Gentamicin and Cephalexin,*Journal of Birjand University of Medical Sciences*,2004,11(4) ,pp.10-12.
- 10-Davies CR, Kaye P, Croft SL . et al, Leishmaniasis: new approaches to disease control, *British Medical J*,2004, 326 ,pp. 377- 382.
- 11-Nosratabadi SJ, Sharifi I, Sharififar F. et al, In vitro antileishmanial activity of methanolic and aqueous extracts of *Eucalyptus camaldulensis* against *Leishmania major*,*Journal of Parasitic Diseases* ,2013,pp. 1-4.
- 12-Saha P, Mukhopadhyay D, Chatterjee M,Immunomodulation by chemotherapeutic against Leishmaniasis, *International journal of Immunopharmacology*,2011, 11,pp. 1668-1679.
- 13-Taran M, Mohebbali M, Esmaeli J,In Vivo Efficacy of Gum Obtained *Pistacia Atlantica* in Experimental Treatment of Cutaneous Leishmaniasis, *Iranian Journal of Public Health*,2010, 39(1) ,pp.36-41.
- 14-Van Assche T, Deschacht M, da Luz RA. et al, *Leishmania*-macrophage interactions, insights into the redox biology, *Free Radical Biology and Medicine* ,2011,51(2) ,pp. 337-351.
- 15-Velayati A, Nelson in feetious disease 5 th ed, Hayan publication,pp.445-50.
- 16-Yakhchali M, Ranjbari M, Effects of *Nerium oleander* leaf, *Ricinus communis* oil, *Capsicum* spp, seeds, and almond compound on cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania* species under laboratory condition and its effect on cutaneous lesion progression in mice.*Kordestan univi J*,201,318(2) ,pp.13-19.