

فعالیت ضد لیشمانیایی عصاره گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) و بابونه (*Matricaria chamomilla*) بر زنده ماندن پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور

سحر هامون نورد^{۱*}، حسین رضوان^۱، مارال ملکی^۱، حمیدرضا حیدریان پور^۱، بهناز بازرگانی کیلانی^۲، فاطمه بهداروند^۱

^۱گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران، ^۲گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۳/۰۹/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱

چکیده

زمینه و هدف: عوارض جانبی و مقاومت‌های درمان شیمیایی بیماری لیشمانیوز جلدی موجب افزایش تحقیقات گسترده بر مبنای استفاده از ترکیبات گیاهی برای درمان این بیماری شده است. خواص ضد میکروبی گیاه گلرنگ و بابونه بر روی میکروارگانیسم‌های متعدد اثبات شده است، لذا هدف از این مطالعه بررسی تأثیر عصاره گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) و گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) بر زنده ماندن پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۳ در دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. سوش استاندارد لیشمانیا ماژور از موسسه پاستور ایران تهیه شد. عصاره اتانولی گلرنگ و عصاره آبی - اتانولی بابونه نیز در غلظت‌های ۱۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه و با پروماستیگوت‌های کشت داده شده انگل در پلیت ۹۶ خانه به صورت سه تایی و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۴±۱ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. با استفاده از روش رنگ سنجی و احیا تترازولیوم، میزان زنده ماندن پروماستیگوت‌ها با جذب نوری در ۴۹۰ نانومتر ارزیابی شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آنالیز رگرسیون غیرخطی برای تعیین دوزهای مهاري IC10، IC50، IC80 هریک از عصاره‌ها، آنالیز واریانس و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: مواجهه عصاره گلرنگ و بابونه در تمام غلظت‌ها موجب کاهش زنده ماندن انگل شد ($p < 0.05$)، به طوری که غلظت‌های مهاري ۱۰، ۵۰ و ۸۰ به ترتیب ۲۱/۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۳/۸۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱/۳۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای گلرنگ بود و غلظت‌های مهاري ۱۰، ۵۰ و ۸۰ برای بابونه به ترتیب ۲۴/۲۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱۷/۶۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱۴/۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. غلظت‌های بیشتر از ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر (برای گلرنگ) و غلظت‌های بیشتر از ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر (برای بابونه) دارای اثرات ضد لیشمانیایی معنی‌داری نسبت به کنترل بدون تیمار بودند ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: اثرات ضد لیشمانیایی عصاره گلرنگ و عصاره بابونه در غلظت‌های کم بر روی لیشمانیا ماژور قابل توجه بوده و می‌تواند به عنوان یک ترکیب گیاهی در مدل درون تنی لیشمانیوز جلدی مورد بررسی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: لیشمانیوز جلدی، لیشمانیا ماژور، گلرنگ، بابونه، زنده ماندن

نویسنده مسئول: سحر هامون نورد، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، گروه پاتوبیولوژی

Email: s.hamoonnavard@basu.ac.ir

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند."

مقدمه

لیشمانیوز جلدی فرم بالینی بیماری ناشی از انگل لیشمانیا است که ناقل آن پشه خاکی فلبوتوموس بوده و باعث ایجاد زخم‌های متعدد و مقاوم به درمان در بیمار می‌شود، علی‌رغم پژوهش‌های گسترده، تاکنون واکسن مؤثری برای این بیماری معرفی نشده است (۱) و از طرفی مصرف داروهای استاندارد موجود از جمله ترکیبات آنتی‌موان پنج ظرفیتی (پنتوستام و گلوکانتیم) عوارض جانبی جدی را شامل ایجاد آسیب‌های کبدی و کلیوی، آریتمی و عوارض قلبی، لکوپنی، پانکراتیت، افزایش طول درمان و مقاومت دارویی بر بیمار ایجاد می‌کنند (۲). ترکیبات دارویی شیمیایی دیگری از جمله آمفوتریسین B و پارومایسین نیز برای درمان این بیماری توصیه می‌شود، ولی این موارد نیز دارای اثرات توکسیک و هزینه بالای درمانی بوده که شکست درمان در اغلب موارد مشاهده شده است (۳)، دلایل فوق‌الذکر توجه محققان را به بررسی راهکارهای درمانی جایگزین معطوف نموده است. اخیراً استفاده از ترکیبات طبیعی و سازگار با بدن موجود زنده به عنوان یکی از روش‌های ایده‌آل درمانی برای بیماران توصیه می‌شود (۴). در کشور ما نیز به دلیل وجود اقلیم‌های گوناگون، تنوع گسترده‌ای از گیاهان دارویی وجود دارد و به دلیل دسترسی راحت و عدم صرف هزینه‌های بالای درمانی، مورد توجه محققان و عموم جامعه قرار گرفته است. اثرات ضد لیشمانیایی عصاره و اسانس برخی از گیاهان با وجود ترکیباتی از جمله؛ آلکالوئیدها، تری ترپنوئیدها، ترپن‌ها، استروئیدها، کینون‌ها، ساپونین

و فلاونوئیدها مرتبط می‌باشد (۴، ۵). تعدادی کثیری از ترکیبات مختلف از گیاهان متفاوت در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی بر روی لیشمانیوز جلدی مورد بررسی قرار گرفته است که هر کدام صرف نظر از عوارض جانبی احتمالی، دارای ترکیباتی موثر بر علیه پروماستیگوت‌های انگل و یا زخم جلدی تجربی در حیوانات آزمایشگاهی بودند، ترکیبات گیاه آلوئه‌ورا، سیر، بومادران، زیره سیاه، زرشک، کندر، عسل و برخی گیاهان بومی برخی مناطق دنیا از جمله آفریقای جنوبی و هند مورد بررسی قرار گرفته و اثرات آنها به وسیله محققان گزارش شده است (۶).

گیاه گلرنگ (safflower) با نام علمی *Carthamus tinctorius* به عنوان زعفران کاذب نیز مورد پذیرش عموم است، این گیاه متعلق به Compositae یا Asteraceae است (۷). خانواده این گونه از گیاه به طور معمول در آب و هوای خشک یعنی جنوب آسیا، چین، هند، ایران و مصر رویش دارد که ۶ گونه آن در ایران پیدا می‌شود (۸)، گلرنگ در مناطق گسترده‌ای از ایران کاربردهای خوراکی و صنعتی داشته و در کشورهای غربی از جمله ایتالیا، فرانسه و انگلستان به عنوان یک ماده رنگ‌زا در صنعت استفاده می‌شود (۹). گلرنگ حاوی ترکیباتی از جمله اسیدهای چرب، استروئیدها، فلاونوئیدها و آلکالوئیدها می‌باشد (۱۰) و اثربخشی این گیاه در موارد بیماری‌های قلبی - عروقی، فاکتورهای خونی از جمله؛ غلظت خون، تورم، التهاب و نیز به عنوان تسکین‌دهنده درد گزارش شده است (۱۰). علاوه بر اثرات درمانی ذکر شده، خواص ضدباکتریایی، اثرات

آنتی‌اکسیدانی و ضدانگلی این گیاه نیز اثبات شده است (۱۲ و ۱۱)، اما تحقیق مشابهی از گیاه گلرنگ بر انگل *لیشمانیا* مآثور در محیط برون‌تنی انجام نگرفته است. گیاه بابونه (*chamomile*) با نام علمی *Matricaria chamomilla* یکی از گیاهان دارویی شناخته شده و متعلق به خانواده Asteraceae است. این گیاه مقاوم به سرما بوده و به صورت سازگار با اقلیم‌های مختلف در اکثر نقاط جهان خصوصاً در نواحی جنوب و شرق اروپا و غرب آسیا رویش دارد (۱۳). بابونه به عنوان یک داروی مؤثر گیاهی و مرسوم در اختلالات دستگاه گوارش، سرماخوردگی، آسیب‌های کبدی و مشکلات تنفسی استفاده می‌شود، همچنین اثرات ضد درد و التیام بخش مرتبط با بیماری‌های پوست، چشم و دهان نیز از این گیاه گزارش شده است (۱۴ و ۱۵). عصاره گیاه بابونه دارای ترکیباتی چون فلاونوئیدها، کومارین و کامازولین بوده (۱۳) و طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های مؤثر این گیاه از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضدانگلی و ضد حساسیت آن اثبات شده است (۱۶ و ۱۷). طبق گزارش محققان، گیاه بابونه در محیط درون‌تنی بر روی زخم لیشمانیوز جلدی دارای اثرات نزدیک به داروی گلوکانتیم بوده و به عنوان یک ترکیب طبیعی، عوارض ناشی از داروی شیمیایی را نداشته و باید مورد ارزیابی بیشتری قرار گیرد (۱۷). عدم وجود عوارض جانبی جدی ترکیبات گیاهی، افزایش مقبولیت گیاهان دارویی بین محققان و مردم، هزینه کم، دسترسی بالا و مصرف آسان موجب گسترش پژوهش‌ها مبتنی بر استفاده از گیاهان با خواص دارویی

شده است؛ لذا هدف از این مطالعه بررسی تأثیر عصاره گیاه گلرنگ (*tinctorius Carthamus*) و عصاره گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) بر زنده‌مانی پروماستیگوت‌های *لیشمانیا* مآثور بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۳ در دانشکده دامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد، سوش استاندارد انگل *لیشمانیا* مآثور (MHOM/IR/75/ER) از موسسه پاستور ایران تهیه شد. پروماستیگوت‌های انگل در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ده درصد سرم جنین گاوی و یک درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین / استرپتومایسین و در شرایط دمایی 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد تکثیر و از فاز لگاریتمی انگل برای تیمار استفاده شد.

گل‌های گیاه گلرنگ از مرکز تولید گیاهان دارویی تهیه و پس از شست و شو و خشک شدن، به وسیله آسیاب برقی به پودر تبدیل شد. مقدار ۵ لیتر اتانول ۹۶ درصد به عنوان حلال به ۵۰۰ گرم پودر خشک گلرنگ با نسبت ۱ به ۱۰ افزوده شد. مخلوط تهیه شده به ظرف شیشه‌ای تیره رنگ منتقل و به مدت هفت روز در دمای اتاق و بر روی شیکر قرار داده شد. پس از گذشت زمان فوق، محلول با کاغذ صافی واتمن فیلتر شده و حلال با استفاده از حرارت آون جداسازی گردید. پودر خشک توزین و محلول عصاره در غلظت‌های ۱۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با سرم فیزیولوژی نرمال تهیه و سپس با فیلتر سرسرنگی ۰/۲ میکرون استریل شد (۱۸).

گیاه بابونه از باغ دانشگاه بوعلی سینا تهیه و در بخش گیاه‌شناسی مورد تأیید قرار گرفت. ۵۰ گرم از بابونه در اتانول ۹۶ درصد و آب مقطر به نسبت ۳۰ به ۷۰ با استفاده از دستگاه سوکسوله عصاره‌گیری شد. محلول به دست آمده به وسیله کاغذ واتمن فیلتر و اتانول موجود به وسیله روتاری جدا شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، حلال جدید به گیاه اضافه و به وسیله دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ شد. عصاره غلیظ شده در غلظت‌های ۱۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با سرم فیزیولوژی نرمال حل و با فیلتر سرسرنگی ۰/۲ میکرون استریل شد (۱۹).

تعداد 2×10^5 از پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا مائوور پاساژ یک- حدت بالا و در فاز لگاریتیمی شمارش شده و به صورت تکرار سه‌تایی برای هر غلظت در پلیت کشت ۹۶ خانه حاوی محیط RPMI-1640 حاوی سرم جنین گاوی و آنتی‌بیوتیک کشت داده شد. پس از گذشت ۲ ساعت از کشت، پروماستیگوت‌های انگل با غلظت‌های ۱۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره گیاهان گلرنگ و بابونه به طور جداگانه و با سه تکرار در ۶ گروه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد تیمار شدند. تعدادی از چاهک‌ها فقط حاوی پروماستیگوت انگل و محیط کشت بودند که به عنوان کنترل و بدون تیمار در نظر گرفته شد. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته سلول‌ها با دوزهای مختلف عصاره گلرنگ و بابونه، برای بررسی میزان زنده‌مانی سلول‌ها، محلول

MTT(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium

(Bromide) به میزان ۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر به هر چاهک افزوده شد و مجدداً به مدت ۴ ساعت در دمای 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از انکوباسیون، کریستال‌های نامحلول فورمازان ایجاد شده ناشی از احیا رنگ تترازولیوم با ایزوپروپانول اسیدی (HCL ۰/۰۴ مولار) حل و با استفاده از طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانش انجام شد. میزان زنده‌مانی پروماستیگوت‌ها با فرمول ذیل محاسبه گردید (۲۰).

جذب نوری چاهک‌های (%) = درصد زنده مانی سلول $100 \times$ (جذب نوری چاهک‌های کنترل) / (تیمار شده)

پس از بررسی توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار گراف پد پریسم ۸، غلظت‌های مهاري (IC₁₀، IC₅₀، IC₈₀) عصاره هر دو گیاه با آنالیز رگرسیون غیرخطی محاسبه شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

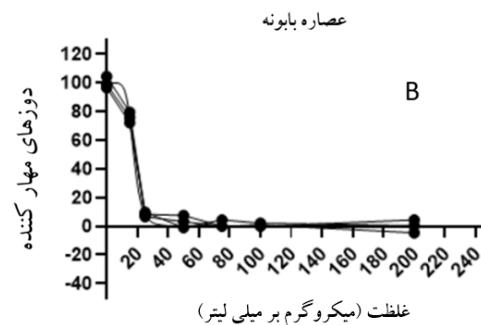
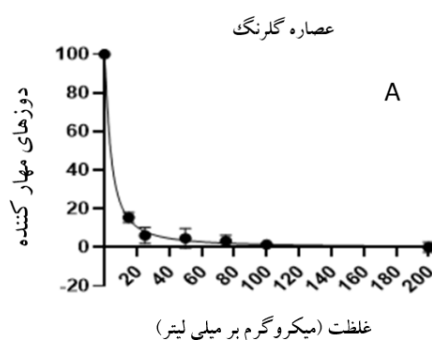
یافته‌ها

مواجهه عصاره گلرنگ در تمام غلظت‌ها موجب کاهش فعالیت‌های بیولوژیکی انگل شد ($p < 0.05$)، به طوری که برای عصاره گلرنگ غلظت‌های مهاري ۱۰، ۵۰ و ۸۰ به ترتیب ۲۱/۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۳/۸۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱/۳۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (شکل ۱A). مواجهه پروماستیگوت‌های انگل با غلظت‌های مختلف عصاره بابونه نیز موجب کاهش فعالیت‌های بیولوژیکی آنها شد و غلظت‌های مهاري برای عصاره بابونه در مقادیر ۱۰، ۵۰ و ۸۰ برای بابونه

به ترتیب ۲۴/۲۷ میکروگرم بر میلی لیتر، ۱۷/۶۹ میکروگرم بر میلی لیتر و ۱۴/۴۸ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد (شکل ۱B).

غلظت‌های مختلف عصاره گلرنگ موجب کاهش معنی‌دار زنده مانی پروماستیگوت‌های انگل شد و با کنترل بدون تیمار ارتباط معنی‌دار داشت، میزان زنده مانی در غلظت‌های ۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر و بیشتر نسبت به کنترل به طور معنی‌دار کمتر بود، ولی اختلاف زنده مانی بین غلظت‌های مختلف کم و معنی‌دار نبود ($p < 0.05$) (شکل ۲) (جدول ۱ و ۲).

غلظت‌های مختلف عصاره بابونه موجب کاهش معنی‌دار زنده مانی پروماستیگوت‌های انگل شد و با گروه کنترل ارتباط معنی‌دار داشت، میزان زنده مانی در غلظت‌های ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر و بیشتر نسبت به غلظت ۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر و کنترل به طور معنی‌دار کمتر بود، ولی اختلاف زنده مانی بین غلظت‌های مختلف کم و معنی‌دار نبود ($p < 0.05$) (شکل ۳) (جدول ۳ و ۴).



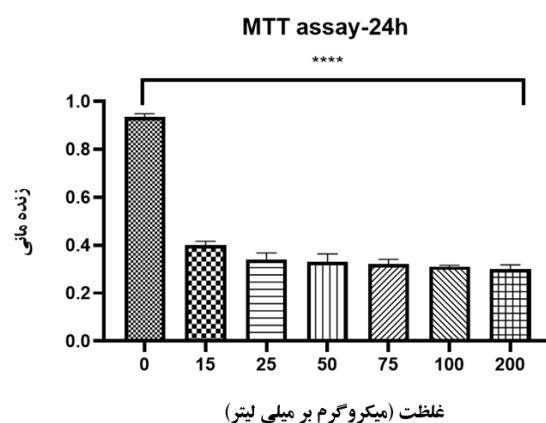
شکل ۱: دوزهای مهای عصاره گلرنگ و بابونه بر روی رشد پروماستیگوت‌های انگل *لشمانیا مازور* A: عصاره گلرنگ B: عصاره بابونه

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار زنده مانی پروماستیگوت‌های *لشمانیا مازور* در مواجهه با غلظت‌های مختلف عصاره گلرنگ

غلظت	میانگین	انحراف معیار
کنترل	۱۰۰	۲/۱
۱۵	۱۵/۴	۲/۶
۲۵	۶/۱	۴/۲
۵۰	۴/۶	۵/۱
۷۵	۳/۲	۲/۹
۱۰۰	۱/۴	۰/۸
۲۰۰	۰	۲/۶

جدول ۲: سطح معنی‌داری و مقایسه اثرات مهاری غلظت‌های مختلف عصاره گلرنگ بر زنده‌مانی پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا ماژور

سطح معنی‌داری	سطح معنی‌داری	تست توکی مقایسه‌ای بین غلظت‌های مختلف میکروگرم بر میلی‌لیتر
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۱۵
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۲۵
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۵۰
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۷۵
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۱۰۰
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۲۰۰
۰/۰۴۰۸	*	۲۵ با ۱۵
۰/۰۱۴۲	*	۵۰ با ۱۵
۰/۰۰۵۳	**	۷۵ با ۱۵
۰/۰۰۱۶	**	۱۰۰ با ۱۵
۰/۰۰۰۶	***	۲۰۰ با ۱۵



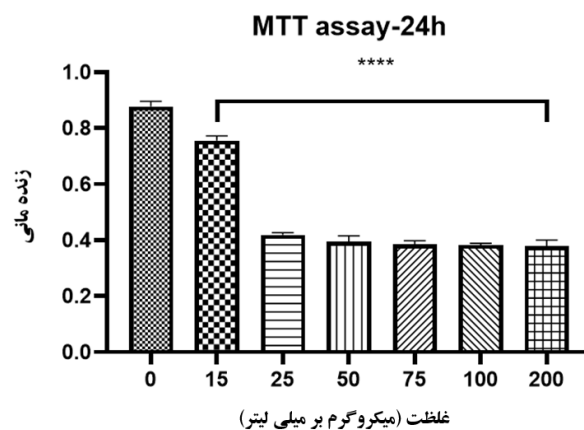
شکل ۲: درصد زنده مانی پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا ماژور در مواجهه با غلظت‌های مختلف عصاره گلرنگ

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار زنده‌مانی پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا ماژور در مواجهه با غلظت‌های مختلف عصاره بابونه

غلظت	میانگین	انحراف معیار
کنترل	۱۰۰	۳/۹
۱۵	۷۵	۳/۶
۲۵	۸/۲	۱/۵
۵۰	۳/۲	۴/۲۲
۷۵	۱/۳	۲/۶
۱۰۰	۰/۹	۱/۱
۲۰۰	۰	۴/۵

جدول ۴: سطح معنی داری و مقایسه اثرات مهاری غلظت‌های مختلف عصاره بابونه بر زنده مانی پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا ماژور

سطح معنی داری	سطح معنی داری	تست توکی مقایسه‌ای بین غلظت‌های مختلف میکروگرم بر میلی لیتر
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۱۵
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۲۵
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۵۰
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۷۵
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۱۰۰
۰/۰۰۰۱	****	صفر با ۲۰۰
۰/۰۰۰۱	****	۲۵ با ۱۵
۰/۰۰۰۱	****	۵۰ با ۱۵
۰/۰۰۰۱	****	۷۵ با ۱۵
۰/۰۰۰۱	****	۱۰۰ با ۱۵
۰/۰۰۰۱	****	۲۰۰ با ۱۵



شکل ۴: درصد زنده مانی پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا ماژور در مواجهه با غلظت‌های مختلف عصاره بابونه

بحث

این داروها در بدن افراد مبتلا، یکی از موانع مهم در عدم موفقیت درمان است که زمینه را برای مطالعه و تحقیق در زمینه استفاده از ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان مختلف را فراهم می نماید (۲۲ و ۲۱)، لذا هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) و بابونه (*Matricaria chamomilla*) به عنوان گیاهان پرمصرف در بین عموم و با پیشینه ضد

استفاده گسترده از عصاره گیاهان مختلف جهت درمان برخی بیماری‌ها و عوارض ناشی از آنها در بین عموم مرسوم بوده و به همین سبب موضوع تحقیق طیف گسترده‌ای از مطالعات تجربی می باشد. مقاومت‌های بالای انگل لیشمانیا در بیماری لیشمانیوز جلدی نسبت به داروهای شیمیایی و عوارض ناشی از

میکروبی بر روی زنده مانی پروماستیگوت‌های
لیشمانیا مازور بود.

پژوهش‌های گسترده‌ای مبنی بر استفاده از
عصاره و یا اسانس گیاهی بر روی پروماستیگوت‌های
لیشمانیا مازور و نیز بر روی زخم لیشمانیوز در
محیط درون تنی انجام شده است (۲۳) و حتی در
مقالات مروری نیز به ترکیبات فعال مؤثر گیاهی جهت
اثر بخشی در این بیماری اشاره شده است که
هم‌اکنون نیز پژوهش‌های از قبیل موارد ذکر شده در
حال انجام و گسترش است (۲۴). تیم پژوهش‌های
حاضر، در موارد متعددی به بررسی پاتوژن
لیشمانیوز جلدی از دیدگاه مولکولی و سلولی پرداخته
و نیز پژوهش‌های مرتبط با روش‌های جایگزین
درمانی از جمله سلول درمانی و نیز اخیراً استفاده از
ترکیبات گیاهی را مورد توجه قرار داده است (۲۷-۲۵).
در بررسی حاضر با توجه به اثرات مطلوب و
پرکاربرد عصاره بابونه و تعیین دوز مؤثر بر
پروماستیگوت‌های انگل و نیز وجود ترکیبات فعال
مرتبط با اثر ضد لیشمانیایی گیاه گلرنگ میزان زنده
مانی پروماستیگوت‌های انگل مواجهه شده با عصاره
و نیز سه درصد مختلف از غلظت‌های مهاري هر یک
از عصاره‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت‌های
مختلف عصاره اتانولی گیاه گلرنگ از ۱۵ میکروگرم بر
میلی‌لیتر تا ۲۰۰ میکروگرم به میلی‌لیتر دارای اثرات
مهارى بالایی بر پروماستیگوت‌های انگل حتی در
دوزهای کم بود و نتایج زنده مانی انگل با روش
رنگ‌سنجی نیز تأییدی بر این یافته است به طوری که

تمام غلظت‌های عصاره از ۱۵ تا ۲۰۰ میکروگرم بر
میلی‌لیتر، با نمونه کنترل بدون تیمار اختلاف قابل
توجه و معنی‌دار داشتند ($p < 0.001$)، اما اختلاف بین
غلظت‌های مختلف کم و معنی‌دار نبود ($p > 0.05$)، گیاه
گلرنگ در طب سنتی و نیز در صنایع مختلف دارای
کاربرد فراوانی است، ولی اثرات ضد میکروبی ناشی از
این گیاه به طور گسترده بررسی نشده است و در
مواردی بر روی تعدادی از قارچ‌ها از جمله
آسپرژیلوس‌ها و پنی‌سیلیوم‌ها (۲۸) و نیز تعدادی از
باکتری‌های گونه‌های استافیلوکوک، سالمونلا تیفی،
اشیرشیاکلی، شیگلا فلکسنری و باسیلوس سرئوس
مورد بررسی قرار گرفته که طبق گزارش این محققان
دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر باکتری‌های
استافیلوکوک، سالمونلا بوده، ولی بر سایر باکتری‌ها
بی‌تأثیر بوده است، این محققان آنالیز فیتوشیمیایی را
بر روی این گیاه انجام داده و اثر ضد میکروبی را
مرتبط با فلاونوئیدها با حلال آبی و الکلی می‌دانند که
در برخی پژوهش‌ها نیز بر روی این ماده تأیید شده
است (۲۹)، علاوه بر آن، رنگدانه‌های موجود در ترکیب
این گیاه نیز دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشد (۳۰).
تأثیر مؤثر عصاره گلرنگ بر زنده مانی
پروماستیگوت‌ها نیز می‌تواند به دنبال وجود ترکیباتی
چون آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، استروئیدها و
تری‌پنوئیدها در این گیاه باشد که در گزارش‌های
مختلفی بر این نوع ترکیبات به عنوان عوامل مهم
بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها ذکر شده است (۲۹).
طبق بررسی‌های پیشین، اثر ضد لیشمانیایی این

ترکیبات نیز در منابع طبیعی دیگر از عصاره گیاهان اثبات شده و از اینرو می‌تواند بر پروماستیگوت‌های لیشمانیا نیز مؤثر باشد، از طرفی تأثیر قابل توجه دوزهای پایین عصاره نیز دلیلی بر وجود ترکیبات ضدلیشمانیایی قوی از گیاه می‌باشد. تاکنون اثرات ضد میکروبی، خصوصاً ضد لیشمانیایی ناشی از گیاه گلرنگ به طور گسترده بررسی نشده است، اما گزارش‌هایی مبنی بر اثر ضدباکتریایی این گیاه وجود دارد (۳۱) استفاده از گل این گیاه نیز اثرات مؤثری بر باکتری گرم مثبت و گرم منفی و نیز عوامل میکروبی جداشده از دستگاه تنفسی فوقانی را نشان داده است (۳۲). محتوای فنل و فلاونوئیدهای موجود در عصاره گیاه گلرنگ به عنوان عامل مؤثر در فعالیت‌های ضد میکروبی و ضد توموری عصاره این گیاه معرفی شده است به نحوی که میزان این دو ماده در عصاره گلرنگ می‌تواند عاملی تعیین کننده در میزان اثر گذاری وابسته به دوز در این گیاه باشد (۳۳) گزارش‌هایی مبنی بر اثر سینرژیسمی از این گیاه همراه با آنتی‌بیوتیک‌ها بر علیه میکروارگانیسم‌هایی چون باکتری‌ها موجود است (۳۲) و در بررسی حاضر نیز می‌توان تأثیرپذیری پروماستیگوت‌ها را به نحوه عصاره گیری و محتوای تام این دو ماده و یا ترکیبات مؤثر دیگر مرتبط دانست. با توجه به فعالیت ضدلیشمانیایی قابل توجه و اثرات مهاری بالای غلظت‌های کم عصاره گلرنگ در محیط برون‌تنی، مطالعه در مدل درون‌تنی عصاره گیاه گلرنگ و بر روی زخم لیشمانیوز با دزهای کم توصیه می‌شود،

چرا که اثرات توکسیک مصرف این عصاره بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با کاهش فاکتورهای سیستم ایمنی ذاتی گزارش شده است (۱۸)، پس دستیابی به دوز مؤثر می‌تواند در مطالعه درون تنی حائز اهمیت باشد.

عصاره بابونه در این مطالعه نیز دارای فعالیت ضدلیشمانیایی و اثرات مهاری با دوزهای پایین بر پروماستیگوت‌های انگل بود و غلظت‌های ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیشتر، اثرات ضدلیشمانیایی قوی و معنی‌داری را نسبت به غلظت ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کنترل بدون تیمار ایجاد کرد، از طرفی غلظت ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز نسبت به گروه کنترل باعث کاهش معنی‌دار زنده مانی شد ($p < 0.05$)، ولی این اختلاف زیاد نبود، در محاسبه غلظت‌های مهاری طبق شکل B-۱، غلظت‌های بیشتر از ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای حداکثر اثر مهاری بر پروماستیگوت‌ها بود و داده‌های نرمال شده نیز اثرات ضد لیشمانیایی قوی را بر سلول‌ها اثبات کرد. گزارش فعالیت‌های ضد میکروبی بسیار متنوع و گسترده‌ای از بخش‌های مختلف گیاه بابونه از جمله گل و ساقه دسترس می‌باشد، از جمله این موارد می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی و مهاری بر باکترهای گرم مثبت و منفی و برخی قارچ‌ها اشاره کرد که علاوه بر این موارد، سایر خواص ضدسرطانی، ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد دیابت این گیاه نیز به صورت مکرر مشاهده شده است (۳۵ و ۳۴)، اما در مورد اثرات ضد میکروبی، خصوصاً ضدلیشمانیایی گیاه بابونه در

محیط برون تنی و تعیین دوز مؤثر، اطلاعات زیادی در دسترس نیست، ولی در یک مطالعه جوشانده گیاه بابونه بر زخم لیشمانیوز دارای تأثیر مثبت و نزدیک به اثر داروی گلوکانتیم بوده، ولی اختلاف ترمیم زخم بین گروه درمان و کنترل معنی دار نبوده است (۱۷)، نتایج حاصل از مطالعه این محققان (دشت پیمما و دیگران) اثر درمانی عصاره بابونه بر ترمیم زخم لیشمانیوز را نشان می دهد، ولی باتوجه به عدم تعیین دوز مصرفی در موش های تحت تیمار در مطالعه، نمی توان ارزیابی دقیقی از تعیین تأثیر عصاره بابونه در مطالعه درون تنی انجام شده داشت، از این رو مطالعه حاضر به دلیل تعیین دقیق غلظت های مهاری و ارزیابی درصد زنده مانى پروماستیگوت های مواجهه یافته با عصاره بابونه می تواند در مدل درون تنی نتایج قابل قبولی را ارائه بدهد، چراکه تعیین دوز مؤثر در محیط برون تنی لازمه بررسی های مدل تجربی درون تنی است. اولین مطالعه از فعالیت های ضدلیشمانیایی گیاه بابونه که در سال ۲۰۱۸ انجام شده است نیز فعالیت ضدلیشمانیایی مواد مؤثره گیاه بابونه (آلفا-بیزابولول) بر لیشمانیا / اینفانتوم و لیشمانیا / مازونسیس در شرایط برون تنی و با روش های دقیق مولکولی و سلولی را مورد بررسی قرار داده است و یافته های IC50 محاسبه شده آنها از ۰/۱ میکروگرم بر میلی لیتر تا ۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر در مورد هر دو گونه انگل متغیر بود که یافته های مطالعه حاضر نیز به طور تقریبی منطبق با نتایج این محققان بود (۳۶). فعالیت های مهاری ذکر شده ناشی از ترکیبات فعال

حاصل از بابونه در سطح سلولی و مولکولی در شرایط برون تنی و بر روی دو گونه دیگر از انگل لیشمانیا، می تواند مستقیماً با زنده مانى سلول مرتبط بوده و تعیین دقیق دوزهای مهاری مواد مؤثره این گیاه دلیلی بر طراحی مطالعه حاضر بر روی لیشمانیا ماژور بود. همان طور که اشاره شد، این گیاه نیز همانند گلرنگ دارای ترکیب مؤثر فلاونوئید بوده که در منابع متعددی به فعالیت های ضد میکروبی این ترکیب نیز اشاره شده است. ترکیبات لیپوفیلیک موجود در اسانس بابونه به دلیل ایجاد تغییرات ساختاری در میتوکندری سلول منجر به آسیب به پاتوژن شده و همین تأثیر می تواند در استفاده مستقیم بر عامل بیماری، خصوصاً انگل موجود در موضع زخم لیشمانیوز مؤثر باشد (۳۷). ترکیب مهم دیگر در این گیاه آلفا-بیزابولول می باشد، در پژوهش های قبلی لوپز و همکاران ثابت شده است که این ترکیب باعث آپوپتوز لیشمانیا / تروپیکا می شود و این اثر وابسته به دوز و زمان تیمار سلول ها با این ماده می باشد (۳۸) که علاوه بر آن در مطالعه دیگری از اثرات سایتوتوکسیک بر سلول های بدخیمی گلیوما در رت و انسان (۳۹) و نیز برخی سرطان ها از جمله لاین سلولی کارسینوما کبد انسان را گزارش داده اند (۴۰)، با توجه به وجود ترکیبات و مواد مؤثر بسیار متنوع و گسترده در بابونه، آنالیز شیمیایی عصاره این گیاه لازم بوده و بررسی اثرات ضد میکروبی هر کدام از ترکیبات مؤثره به خصوص بر علیه عوامل بیماری با مقاومت های دارویی و یا

ایجاد کننده عوارض مصرف داروهای شیمیایی از جمله گونه‌های مختلف لیشمانیا مهم و ارزشمند می‌باشد، از این‌رو دستیابی به دوز مؤثر از گیاه بابونه به عنوان یک ترکیب گیاهی پرمصرف در بین عوام و تعیین پروفایل کامل از مواد مؤثره این گیاه می‌تواند در تهیه دارو با پایه گیاهی بسیار مهم و حائز اهمیت باشد. عدم اطلاع کافی از نوع ترکیب مؤثر با قابلیت ضدانگلی موجود در گیاهان گلرنگ و بابونه از محدودیت‌های پژوهش حاضر بوده و طراحی یک مطالعه بر اساس تعیین ترکیبات مؤثره این دو گیاه جهت تکمیل و گسترش یافته‌های آزمایشگاهی و بالینی توصیه می‌شود؛ از طرفی تأثیر غلظت‌های کم گیاهان گلرنگ و بابونه بر مهار رشد انگل در این پژوهش حائز اهمیت بوده و به دلیل محدودیت استفاده از ترکیبات گیاهی با دوز بالا به دلیل اثرات توکسیک بر ارگان‌های بدن ارزشمند است و انجام پژوهش‌های درون تنی مبنی بر تعیین غلظت مؤثر و اثربخش بر روی زخم لیشمانیوز توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که گیاه گلرنگ دارای فعالیت ضد لیشمانیایی مؤثر در غلظت‌های پایین بر علیه پروماستیگوت‌های *لیشمانیا* *ماژور* در محیط برون تنی بوده و می‌تواند به عنوان یک ترکیب جدید در شرایط درون‌تنی در موضع زخم لیشمانیوز جلدی مورد بررسی قرار گیرد. گیاه پرمصرف بابونه نیز اثر قابل توجهی را بر روی

پروماستیگوت‌های *لیشمانیا* *ماژور* در غلظت‌های کم ایجاد کرده و با توجه به فعالیت ترکیبات مؤثر گیاه بابونه بر ساختار سلول، این مقادیر مهاری در غلظت‌های کم مهم بوده و در مدل درون‌تنی نیز قابل بررسی است. میزان زنده ماندن انگل در مواجهه با هر دو گیاه که دارای ترکیبات مشترک ضد لیشمانیایی هستند نیز دلیلی بر وجود ترکیبات مؤثر ضدلیشمانیایی در هر دو گیاه می‌باشد. اثرات ضد میکروبی گیاه با غلظت‌های کم یک نکته قابل توجه در تهیه فرمولاسیون داروهای گیاهی است، چرا که وجود برخی ترکیبات در گیاه می‌تواند در مقادیر بالا اثرات توکسیک بر فعالیت‌های بیولوژیک بدن موجود زنده داشته باشد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله از کارشناس محترم آزمایشگاه مواد غذایی دانشکده دامپزشکی خانم فاطمه قاسمی کمال تقدیر و تشکر را دارند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

حمایت مالی

پژوهش حاضر با حمایت‌های مالی دانشگاه بوعلی سینا صورت گرفته است.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی بخش کشت سلولی مرتبط با پروژه دانشجویان کارشناسی علوم آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا، با کد اخلاق IR.BASU.REC.1403.055 می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

طراحی، انجام برخی آزمایشات برون‌تنی، تحلیل نتایج و نگارش مقاله به وسیله سحرهامون نور، مشاوره در طرح اصلی پژوهش به وسیله حسین رضوان، تهیه و عصاره گیری گیاه به وسیله مارال ملکی و حمیدرضا حیدریان پور، انجام برخی آزمایشات برون تنی به وسیله فاطمه بهداروند و مشاوره در زمینه تهیه عصاره گیاه به وسیله بهناز بازرگانی گیلانی صورت گرفته است.

REFERENCES

1. Jabini R, Jaafari M, Hasani FV, Ghazizadeh F, Khamesipour A, Karimi G. Effects of combined therapy with silymarin and glucantime on leishmaniasis induced by *Leishmania major* in BALB/c mice. *Drug Research* 2015; 65(03): 119-24.
2. Diro E, Lynen L, Mohammed R, Boelaert M, Hailu A, van Griensven J. High parasitological failure rate of visceral leishmaniasis to sodium stibogluconate among HIV co-infected adults in Ethiopia. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2014; 8(5): e2875.
3. Machado M, Pires P, Dinis A, Santos-Rosa M, Alves V, Salgueiro L, et al. Monoterpenic aldehydes as potential anti-*Leishmania* agents: activity of *Cymbopogon citratus* and citral on *L. infantum*, *L. tropica* and *L. major*. *Experimental Parasitology* 2012; 130(3): 223-31.
4. Oryan A, Alidadi S, Akbari M. Risk factors associated with leishmaniasis. *Trop Med Surg* 2014; 2(3): e118.
5. Sifaoui I, López-Arencibia A, Martín-Navarro CM, Chammem N, Reyes-Batlle M, Mejri M, et al. Activity of olive leaf extracts against the promastigote stage of *Leishmania* species and their correlation with the antioxidant activity. *Experimental Parasitology* 2014; 141: 106-11.
6. Oryan A. Plant-derived compounds in treatment of leishmaniasis. *Iranian Journal of Veterinary Research* 2015; 16(1): 1.
7. Zhao G, Zheng X-W, Gai Y, Chu WJ, Qin GW, Guo LH. Safflower extracts functionally regulate monoamine transporters. *Journal of Ethnopharmacology* 2009; 124(1): 116-24.
8. Shirwaikar A, Khan S, Kamariya YH, Patel BD, Gajera FP. Medicinal plants for the management of post menopausal osteoporosis: A review. *The Open Bone Journal* 2010; 2(1): 1-13.
9. Singh V, Nimbkar N. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Chapter 2006; 6: 167-94.
10. Zhou XiDan ZX, Tang LiYing TL, Xu YiLong XY, Zhou GuoHong ZG, Wang ZhuJu WZ. Towards a better understanding of medicinal uses of *Carthamus tinctorius* L. In *Traditional Chinese Medicine: a Phytochemical and Pharmacological Review* 2014; 151(1): 27-43.
11. Hiramatsu M, Takahashi T, Komatsu M, Kido T, Kasahara Y. Antioxidant and neuroprotective activities of Mogami-benibana (safflower, *Carthamus tinctorius* Linne). *Neurochemical Research* 2009; 34: 795-805.
12. Esmaeili S, Ghiaee A, Naghibi F, Mosaddegh M. Antiplasmodial activity and cytotoxicity of plants used in traditional medicine of Iran for the treatment of fever. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR* 2015; 14(Suppl): 103.
13. Singh O, Khanam Z, Misra N, Srivastava MK. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. *Pharmacognosy Reviews* 2011; 5(9): 82.
14. Živković J, Ilić M, Šavikin K, Zdunić G, Ilić A, Stojković D. Traditional use of medicinal plants in South-Eastern Serbia (Pčinja District): Ethnopharmacological investigation on the current status and comparison with half a century old data. *Frontiers in Pharmacology* 2020; 11: 1020.
15. Petrakou K, Iatrou G, Lamari FN. Ethnopharmacological survey of medicinal plants traded in herbal markets in the Peloponnisos, Greece. *Journal of Herbal Medicine* 2020; 19: 100305.
16. El Mihyaoui A, Esteves da Silva JC, Charfi S, Candela Castillo ME, Lamarti A, Arnao MB. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): a review of ethnomedicinal use, phytochemistry and pharmacological uses. *Life* 2022; 12(4): 479.
17. Dashtpeima A, Moshfe A, Manzoori L, Arefkhah N, Shahryari S, Mohseni M, et al. The Effect (s) of *Matricaria chamomilla* on *Leishmania major* Ulcers in Balb/c Mice. *Armaghane Danesh* 2015; 20(2): 127-37.
18. Zargari A, Mazandarani M, Hoseini S. Effect of safflower (*Carthamus tinctorius*) extract on the nonspecific immune system of rainbow trout. *Oncorhynchus Mykiss* (Walbaum, 1792) 2020; 7(4): 118-32.
19. Costescu CI, Hadaruga N, Rivas A, Hadaruga D, Lupea A, Pârvu D. Antioxidant activity evaluation of some *Matricaria chamomilla* L. extracts. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 2008; 14(2): 417-32.
20. Farahani MK, Bitaraf FS, Atashi A, Jabbarpour Z. Evaluation of anticancer effects of frankincense on breast cancer stem-like cells. *Cancer Reports* 2023; 6(2): e1693.
21. Akbari M, Oryan A, Hatam G. Application of nanotechnology in treatment of leishmaniasis: a review. *Acta Tropica* 2017; 1(172): 86-90.
22. Salem MM, Werbovetz KA. Natural products from plants as drug candidates and lead compounds against leishmaniasis and trypanosomiasis. *Current Medicinal Chemistry* 2006; 13(21): 2571-98.

23. Hassan AA, Khalid HE, Abdalla AH, Mukhtar MM, Osman WJ, Efferth T. Antileishmanial activities of medicinal herbs and phytochemicals in vitro and in vivo: An update for the years 2015 to 2021. *Molecules* 2022; 27(21): 7579.
24. Zadeh Mehrizi T, Pirali Hamedani M, Ebrahimi Shahmabadi H, Mirzaei M, Shafiee Ardestani M, Haji Molla Hoseini M, et al. Effective materials of medicinal plants for leishmania treatment in vivo environment. *Journal of Medicinal Plants* 2020; 19(74): 39-62.
25. Rezvan H, Ali SA, Navard SH, Rees R. Evaluation of murine OX40L-murine IgG1(MM1) fusion protein on immunogenicity against *L. mexicana* infection in BALB/c mice. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 2023; 99: 102011,1-5.
26. Hamoon Navard SH, Rezvan H, Haddad MHF, Ali S, Nourian A, Eslaminejad MB, et al. Therapeutic effects of mesenchymal stem cells on cutaneous leishmaniasis lesions caused by *Leishmania major*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2020; 23: 243-50.
27. Hamoon Navard S, Rezvan H, Feiz Haddad MH, Baghaban Eslaminejad M, Azami S. Expression of cytokine genes in *Leishmania major*-infected BALB/c mice treated with mesenchymal stem cells. *Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases* 2020; 8(1): 7-13.
28. Hussain AY, Hussein HJ, Al-Rubaye AF. Antifungal Activity of the Secondary Metabolites Extracted. *Clin Schizophr Relat Psychoses* 2021; 15(6): 1-6.
29. Harsh M, Nag T. Flavonoids with antimicrobial activities of arid zone plants. *Geobios, India*, 1988; 15(1); 32-5.
30. Kermanshahi K, Moater F, Soleimani Manesh A. Evaluation of the antibacterial effects of aqueous and ethanolic extracts of safflower on a bacteria. *Journal of the Faculty of Science of Shahid chamran University* 2006; 15: 18-26.
31. Karimkhani M, Shaddel R, Khodaparast M, Vazirian M, Piri-Gheshlaghi S. Antioxidant and antibacterial activity of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) extract from four different cultivars. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods* 2016; 8(4): 565-74.
32. Dobrin A, Popa G. Evaluation of the antimicrobial activity of *Carthamus tinctorius* extracts against nosocomial microorganisms. *Scientific Papers Series B Horticulture* 2022; 66(1): 799-806.
33. Haleem AM, Hameed A, Al-Majeed RA, Hussein NN, Hikmat RA, Queen BK, editors. Anticancer, Antioxidant, Antimicrobial and Cytogenetic Effects of Ethanol Leaves Extract of *Carthamus tinctorius*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*; 2023: IOP Publishing. 4th International Conference of Modern Technologies in Agricultural Sciences.
34. Stanojevic LP, Marjanovic-Balaban ZR, Kalaba VD, Stanojevic JS, Cvetkovic DJ. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of chamomile flowers essential oil (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 2016; 19(8): 2017-28.
35. Akram W, Ahmed S, Rihan M, Arora S, Khalid M, Ahmad S, et al. An updated comprehensive review of the therapeutic properties of Chamomile) *Matricaria chamomilla* L.). *International Journal of Food Properties* 2024; 27(1): 133-64.
36. Hajaji S, Sifaoui I, López-Arencibia A, Reyes-Battle M, Jiménez IA, Bazzocchi IL, et al. Leishmanicidal activity of α -bisabolol from Tunisian chamomile essential oil. *Parasitology Research* 2018; 117: 2855–67.
37. Morales-Yuste M, Morillas-Márquez F, Martín-Sánchez J, Valero-López A, Navarro-Moll M. Activity of (-) α -bisabolol against *Leishmania infantum* promastigotes. *Phytomedicine* 2010; 17(3-4): 279–81.
38. Corpas-López V, Merino-Espinosa G, López-Viota M, Gijón-Robles P, Morillas-Mancilla MJ, López-Viota J, et al. Topical treatment of *Leishmania tropica* infection using (-)- α -bisabolol ointment in a hamster model: Effectiveness and safety assessment. *Journal of Natural Products* 2016; 79(9): 2403–7.
39. Cavalieri E, Mariotto S, Fabrizi C, de Prati AC, Gottardo R, Leone S, et al. α -Bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004; 315(3): 589–94.
40. Chen W, Hou J, Yin Y, Jang J, Zheng Z, Fan H, et al. α -Bisabolol induces dose- and time-dependent apoptosis in HepG2 cells via a Fas- and mitochondrial-related pathway, involves p53 and NF κ B. *Biochemical Pharmacology* 2010; 80(2): 247–54.

Anti-leishmanial activity of *Carthamus tinctorius* and *Matricaria chamomilla* extracts on the survival of promastigotes of *Leishmania major*

Hamoonnavard S^{1*}, Rezvan H¹, Maleki M¹, Heydarianpour H¹, Bazargani-Gilani B², Behdarvand F¹

¹Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran,
²Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

Received Date: 07 Dec 2024 Accepted Date: 19 Feb 2025

Abstract

Background & aim: Side effects and resistance to chemical treatments of cutaneous leishmaniasis have led to intensive research into the use of herbal agents to treat this disease. The antimicrobial properties of *Carthamus tinctorius* and *Matricaria chamomilla* extract have been studied on many microorganisms. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of safflower (*Carthamus tinctorius*) and chamomile (*Matricaria chamomilla*) extracts on the survival of *Leishmania major* promastigotes.

Methods: In this experimental study, which was conducted at Bu-Ali-Sina University in 2024. The standard strain of *Leishmania major* was obtained from Pasteur Institute of Iran. Ethanol extract of safflower and aqueous-ethanol extract of chamomile were prepared at concentrations of 15, 25, 50, 75, 100 and 200 µg/ml and exposed to promastigotes cultured in 96 plates in triplicate and incubated for 24 hours. Using colorimetric method and tetrazolium reduction, the viability of promastigotes was evaluated by absorbance at 490nm. The collected data were analyzed using non-linear regression analysis to determine the inhibitory doses (IC₁₀, IC₅₀, and IC₈₀) of each extract, analysis of variance, and Tukey's test.

Results: Exposure to *Carthamus tinctorius* and *Matricaria chamomilla* extracts at all concentrations reduced parasite survival ($p \leq 0.05$), with inhibitory concentrations for safflower at IC₁₀: 21.10 µg/ml, IC₅₀: 3.85 µg/ml and IC₈₀: 1.31 µg/ml and inhibitory concentrations for chamomile extract at IC₁₀: 24.27 µg/ml, IC₅₀: 17.69 µg/ml, IC₈₀: 14.48 µg/ml. Concentrations of more than 15 µg/ml (*Carthamus tinctorius*) and more than 25 µg/ml (*Matricaria chamomilla*) had significant anti-leishmanial effect compared to the untreated control ($p \leq 0.05$).

Conclusion: The anti-leishmanial effect of *Carthamus tinctorius* and *Matricaria chamomilla* extracts on *Leishmania major* was remarkable at low concentrations and could be investigated as an herbal compound in the *in vivo* model of cutaneous leishmaniasis.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, *Leishmania major*, *Carthamus tinctorius*, *Matricaria chamomilla*, Viability.

***Corresponding author:** Hamoonnavard S, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

Email: s.hamoonnavard@basu.ac.ir

Please cite this article as follows: Hamoonnavard S, Rezvan H, Maleki M, Heydarianpour H, Bazargani-Gilani B, Behdarvand F. Anti-leishmanial activity of *Carthamus tinctorius* and *Matricaria chamomilla* extracts on the survival of promastigotes of *Leishmania major*. Armaghane-danesh 2025; 30(1): 50-65.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal