ارزیابی اثر ضد لیشمانیایی عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی بر پروماستیگوت های انگل *لیشمانیا ماژور* (*MHOM/IR/75/ER*) با 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* درشرایط آزمایشگاهی طراحی و اجرا شد.

روش بررسی: ابتدا عصاره به روش خیساندن آماده شد. سپس عصاره خشک شد و در DMSO ۵٪ حل شد. در مرحله بعد پروماستیگوت های *لیشمانیا ماژور* در دمای۲۵±۲°Cدر فاز ثابت در محیط RPMI۱۶۴۰ غنی شده با سرم جنین گوساله FCS ۱۰٪ و آنتی بیوتیک پنی سیلین - استرپتومایسین کشت داده شد. سپس با استفاده از روش رنگ سنجیMTT ، 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 مقدارIC۵۰ محاسبه گردید. همه تست ها ۳ بار تکرار شد.

یافته ها: IC۵۰ گلوکانتیم ۱۸/ ۶۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر بود و IC۵۰ 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 پروماستیگوتهای *لیشمانیا ماژور* بود.

نتیجه گیری: با توجه به این که عصاره الکلـی بـرگ گیـاه کاسـنی دارای اثـرات ضـد لیشـمانیایی در محـیط آزمایشگاه می باشد، لزوم انجام آزمایشات بیشتر برای ارزیابی اثر این عصـاره بـر روی انگـل لیشـمانیا در مـدل حیوانی احساس می شود.

واژه های کلیدی : **لیشمانیا ماژور، 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[1]، در پشه‌های خاکی و محیط کشت ایجاد می‌گردد. پروماستیگوت ها اجسام متحرک و باریک به طول ۳۰-۱۵ میکرومتر و قطر ۳-۱/۵ میکرومتر می‌باشند این اشکال دارای یک تاژک جلویی هم‌طول یا بلندتر از جسم انگل می‌باشند که از جسم قاعده‌ای[2] منشاء می‌گیرد. یک غشای دولایه‌ای، سیتوپلاسم را که شامل هسته، کینتوپلاست، جسم قاعده‌ای و بقیه اندامک‌ها می‌باشد، در برمی‌گیرد[۴-۶-۱۰]. ارزیابی علمی در تهیه‌ی گیاهان دارویی در بین مردم باقی مانده است. پزشکی مدرن با تأیید داروسازی درمان بیماری‌های ایجاد شده به وسیله تک یاخته‌های انگلی را فراهم کرده است. بعضی متابولیت‌های به دست آمده از گیاهان استفاده شده در درمان بیماری‌های ایجاد شده به وسیله تک یاخته‌های انگلی کوئینون، آلکالوئید و ترپن‌ها هستند [۷].کاسنی(*Cichorium intybus*) گیاهی است از راسته گل مینا (*Asterales*) تیره گل ستاره‌ای‌ها (*Asteraceae*) از سرده کاسنی‌ها (*Cichorium*). از این گیاه دو گونه کِشتی 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

[1]-promastigot.

[2]- Basal body.

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

پیشینه تحقیق:

الله دین وهمکاران درسال۱۳۹۳ روی گیاه چای سبز (*کاملیا سننسیس*) انجام شد، فعالیت عصاره چای سبز علیه پروماستیگوت های *لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفنتوم* با روش رنگ سنجیMTT، در شرایط In vitro، بررسی کردند. میزانIC۵۰ عصاره، بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون برای *لیشمانیا ماژور* ۱۹میکروگرم برمیلی لیتر و برای *لیشمانیا اینفنتوم* ۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد. به طوری که میزانIC۵۰ داروی گلوکانتیوم، برابر۲۱/۸ و۱۰/۶۱ میکروگرم برمیلی لیتر، به ترتیب برای لیشمانیا های نام برده بود.

یخچالی وهمکاران درسال۱۳۹۲ اثرگیاه خرزهره، دانه فلفل، پودر بادام وروغن کرچک برروی گونه های انگل جلدی *لیشمانیا* درشرایط آزمایشگاهی و تاثیر آن بر روند ایجاد ضایعه درموش سوری مورد بررسی قرار دادند. ازنظرکمی، تعداد پروماستیگوت های انگل *لیشمانیا* در مواجه 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 باگروه شاهد بود. ارزیابی اثر این ترکیب گیاهی بر رشد انگل درشرایط آزمایشگاهی و درتلقیح به موش سوری بیانگر تاثیر مثبت آن بر *لیشمانیا* وروند تشکیل زخم بود.

نصرت آبادی وهمکاران در سال ۲۰۱۳ارزیابی اثرات عصاره متانولی وآبی گیاه اکالیپتوس(*یوکالپتوس کاملجو لنسیس*) علیه پروماستیگوت های *لیشمانیا ماژور* به روش MTT در شرایط In vitro، انجام دادند . میزانIC۵۰ بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون برای عصاره متانولی و آبی به ترتیب، ۵۸۶/۲ و۶/ ۱۱۰۸میکروگرم برمیلی لیتر محاسبه شد. میزانIC۵۰ داروی کنترل تار تارامتیک برابر ۳۲/۵ میکروگرم برمیلی لیتر محاسبه شد نتیجه این که عصاره گیاه اکالیپتوس فعالیت ضد لیشمانیایی خوبی علیه پروماستیگوت های انگل در غلظت های مختلف ازهم نشان داد.

تاران وهمکاران در سال۲۰۱۰ اثر بخشی صمغ *پیستاسیا آتلانتیکا* را به صورت موضعی در درمان لیشمانیوز پوستی درمدل حیوانی (موش Balb/c) را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد صمغ این درخت می‌تواند برای کنترل لیشمانیوز جلدی روستایی استفاده شود و مانع پیشرفت زخم سالک گردد.

مواد وروشها:

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 اتانول۸۰ 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 ۲ساعت 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 الکل 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. عصاره‌ای که در ابتدا خارج شد غلیظ‌تر و بتدریج رقیق‌تر و شفاف‌تر 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 در۷۰-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 ۳-۴روز کشت مکرر انجام شد. پس از تولید انبوه در مرحله ایستا و انتقال به محیط تازه در ویال های مناسب تقسیم و به مدت۲۴ساعت در۲۰-درجه سانتی گراد و پس از آن در ۱۹۵- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

اثر کشندگی عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی:

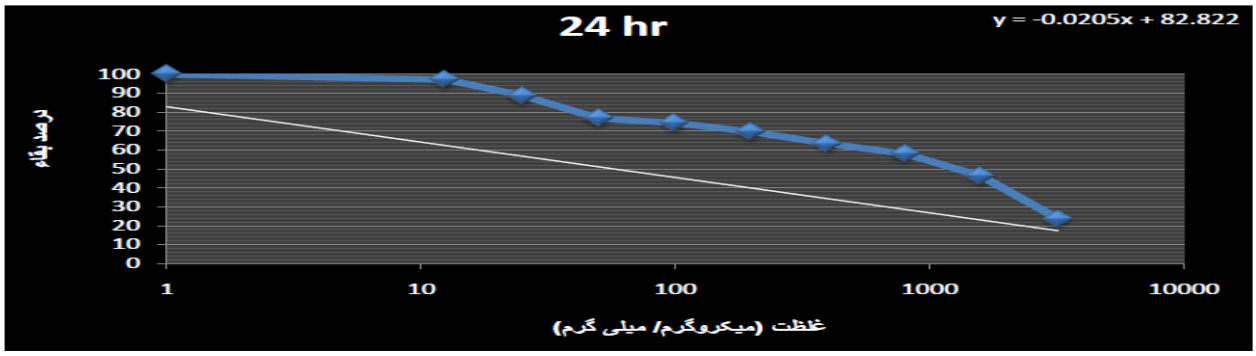
پس از تغلیظ و خشک شدن عصاره گیاهی مورد مطالعه، عصاره ابتدا توسط DMSO (دی متیل سولفوکسید ۵ درصد) حل شده و سپس توسط محیط کشت RPMI رقیق شد تا در نهایت غلظت DMSO به کمتر از ۱٪ برسد. سپس غلظت‌های مختلف عصاره به محیط کشت حاوی پروماستیگوت های زنده افزوده شد. عصاره با ۱۰ غلظت µg/ml ۰، ۱۲/۵، ۲۵،۵۰،۱۰۰،۲۰۰،۴۰۰،۸۰۰،۱۶۰۰،۳۲۰۰ 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. IC۵۰ 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 IC۵۰ ، عصاره با کمترین IC۵۰ جهت بررسی های بعدی انتخاب شد. از داروی گلوکانتیم به عنوان داروی شاهد ۴۰ میلی‌گرم پودر گلوکانتیم را در ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (PBS) حل کرده، سپس ۵۰۰ میکرولیتر از محیط RPMI به ویال‌های اپندورف اضافه و به طور سری داروی گلوکانتیم رقیق شد، بدین صورت که ۵۰۰ میکرولیتر از ویال اپندروف اولی به دومی اضافه و تا اپندروف پنجم ادامه داده تا رقت‌سازی تمام شد، از گلوکانتیم هم هفت رقت (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰،۸۰۰) تهیه ، سپس رقت‌های عصاره و گلوکانتیم از فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرون عبور داده شد تا استریل شود.

نتایج :

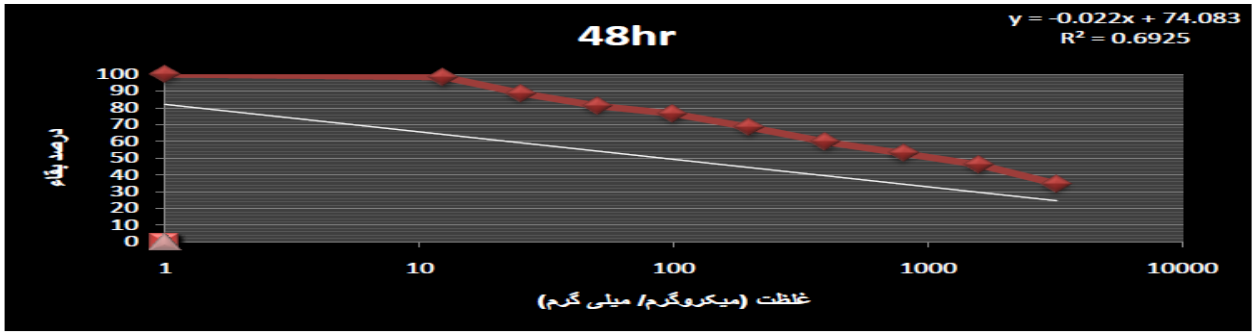
در این مطالعه، بعد از تهیه عصاره از برگ گیاه کاسنی در غلظت های متفاوت و در ساعت های مختلف ۲۴،۴۸ و۷۲ ساعت با پروماستیگوت های انگل *لیشمانیا ماژور* مجاور و تاثیر آنها با روش MTT و میکروسکوپی بررسی شد. IC۵۰ عصاره گیاه مورد مطالعه در ساعت های مختلف ۲۴،۴۸ و۷۲ به صورت مجزا اندازه گیری شد، که به تفسیر در ذیل ارائه شده است.

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

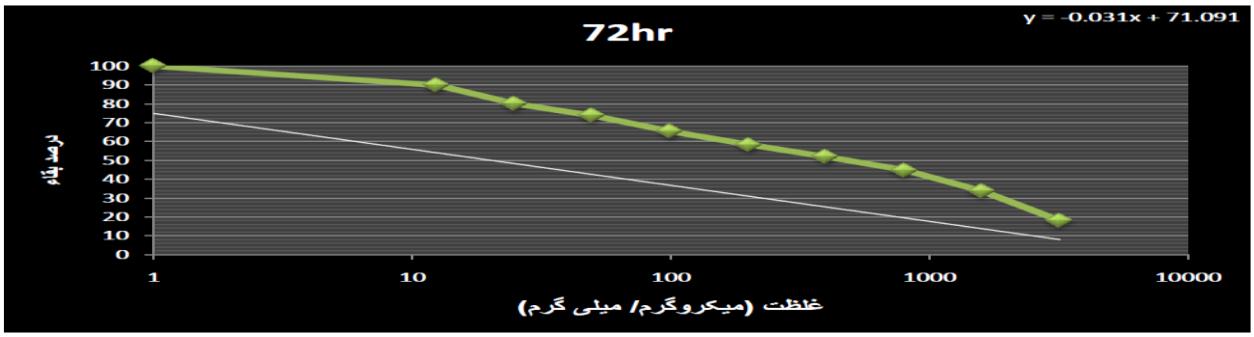
نمودار ۱-۱ : محاسبه IC۵۰=۱۶۰۱/۱ µg/ml عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) با استفاده از نتایج به دست آمده حاصل از اثر غلظت های مختلف این عصاره برپروماستیگوت های *لیشمانیا ماژور* در شرایط in vitro به روش MTT بعد از ۲۴ ساعت.



نمودار ۱-۲ : محاسبه IC۵۰=۱۰۹۴ µg/ml عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) با استفاده ازنتایج به دست آمده حاصل از اثر غلظت های مختلف این عصاره بر پروماستیگوت های *لیشمانیا ماژور* در شرایط in vitro به روش MTT بعداز ۴۸ ساعت.

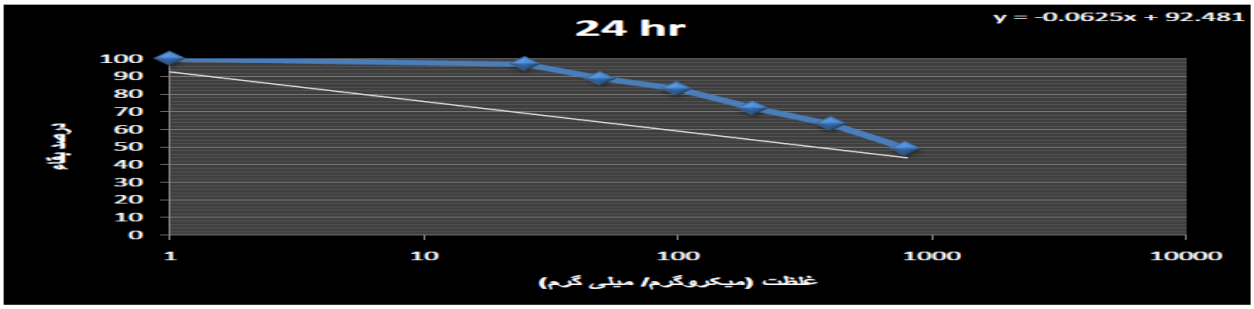


نمودار ۱-۳ : محاسبه IC۵۰= ۶۸۰/۳۵ µg/ml عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*)با استفاده از نتایج به دست آمده حاصل از اثرغلظت های مختلف شرایط برپروماستیگوت های *لیشمانیاماژور*در شرایط in vitro به روش MTT بعداز ۷۲ ساعت.

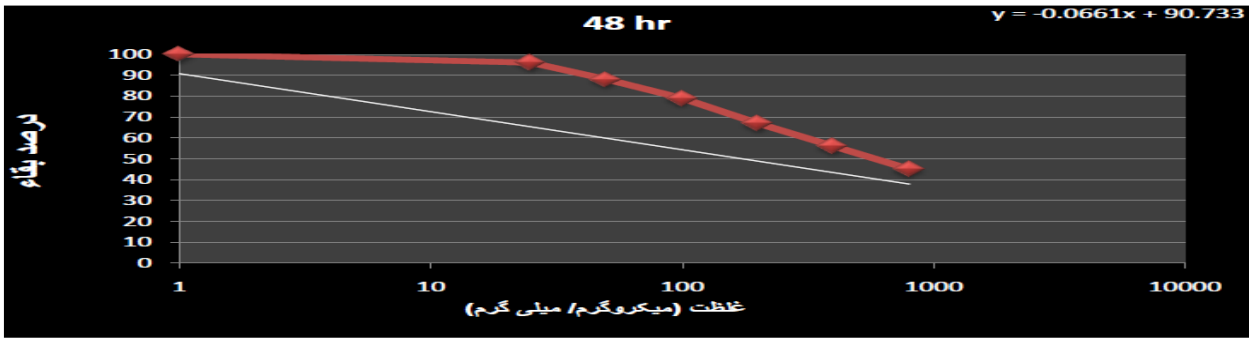


۲- نتایج اثر داروی گلوکانتیم جهت مقایسه عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*)

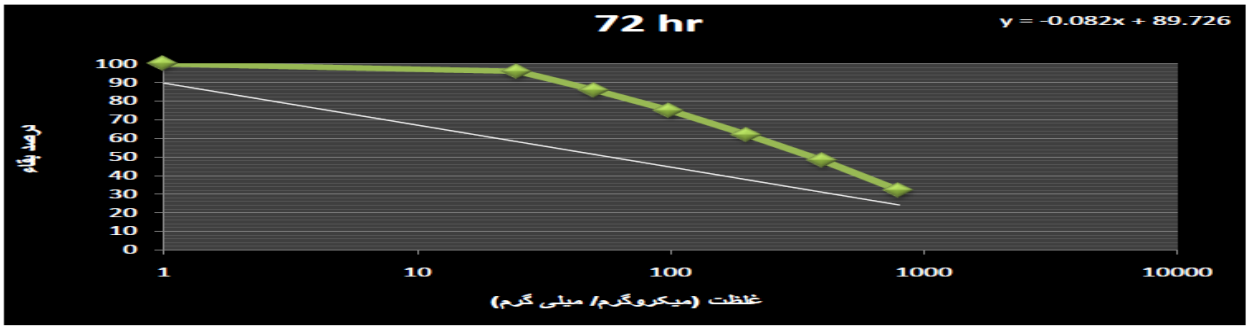
نمودار۲-۱: محاسبه IC۵۰ =۶۸۰ µg/ml داروی گلوکانتیم، به عنوان داروی کنترل بر پروماستیگوت های *لیشمانیا ماژور* در شرایط in vitro، به روش MTT بعد از ۲۴ ساعت .



نمودار ۲-۲: محاسبه IC۵۰ =۶۱۶/۱۸ µg/ml داروی گلوکانتیم، به عنوان داروی کنترل بر پروماستیگوت های *لیشمانیا ماژور* در محیط in vitro، به روش MTT بعد از ۴۸ ساعت .



نمودار۲-۳: محاسبه IC۵۰=۴۸۴/۳۹ µg/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 درسال۱۳۹۳ که روی گیاه چای سبز(کاملیا سننسیس) انجام شد، فعالیت عصاره چای سبزعلیه پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفنتوم با روش رنگ سنجیMTT، در شرایط Invitro، بررسی شد. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی اثرات ضد لیشمانیایی عصاره گیاه چای سبز در مقایسه با داروی کنترل مگلومین آنتیمونات (گلوکانتیم) با استفاده از روش رنگ سنجی MTT است. پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفانتوم در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد FCS و آنتی‌بیوتیک هست در دمای ۲۴درجه ی سانتی گراد کشت داده شد و تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره چای سبز در مقایسه با گلوکانتیم بر روی پروماستیگوت‌های 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 طول‌موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد و سپس نتایج به‌صورت IC50 بیان شده است. میزان IC50 عصاره بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون، برای لیشمانیا ماژور µg/ml۱۹ و برای لیشمانیا اینفانتوم µg/ml۱۲ به دست آمد به‌طوری‌که میزان IC50 داروی کنترل گلوکانتیم برابر ۸/۲۱g/ml و ۱۶/۱۰g/ml به ترتیب برای لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفانتوم است. اثربخشی این عصاره بر روی این‌گونه انگل تقریباً معادل گلوکانتیم می‌باشد و بنابراین دارای پتانسیل استفاده از آن به‌عنوان داروی ضد لیشمانیایی می‌باشد. و اما در مطالعه حاضر اثر ضدلیشمانیایی عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی(*Cichorium intybus*)در محیط in vitro بررسی شد. پروماستیگوتهای *لیشمانیا ماژور* در دمای۲۵±۲°Cدر فاز ثابت در محیط RPMI۱۶۴۰غنی شده با سرم جنین گوساله۱۰٪FCS و آنتی بیوتیک پنی سیلین - استرپتومایسین کشت داده شد ودر محیطSchneider insect medium به کشت انبوه رسانده شد. به طوری که انگل لیشمانیا ماژور علاوه بر محیط مایع اشنایدر در محیط دو فازیNNN (Novy-MacNeal-Nicolle)نیزرشد 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 سنجیMTT، 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 الیزاریدر(ElisA reader)سنجیده شده و مقدارIC50 (که ۵۰٪غلظت مهار کننده است) محاسبه گردید. IC50گلوکانتیم ۶۱۶/۱۸میکروگرم بر میلی لیتر بود وIC50 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 همکارن درسال ۱۳۹۰تاثیر عصاره آبی دوگیاه تشنه داری (Scrophularia striata Boiss)ودرمنه (Artemisiasieberi Besser) بر رشد لیشمانیاماژور در شرایطIn vitro را مورد تحقیق قرار دادند. طبق یافته های این بررسی، پروماستیگوتهای لیشمانیا ماژور در محیط کشت RPMI تحت تأثیر غلظتهای۲۰٪و ۲۵٪ درمنه، درهمان روز اول به طورکامل از بین رفتند. درحالی که تشنه داری درغلظت۲۵٪ و در روز سوم باعث مرگ انگل گردید. کاهش رشد انگل درمحیط کشت RPMI تحت تأثیر درمنه درهر ۳غلظت به طور معنی داری بیشتر از تشنه داری بود. غلظتهای۲۰٪ درمنه در روز دوم وغلظت ۲۰ ٪ تشنه داری در روز سوم باعث ازبین بردن کامل آماستیگوتهای لیشمانیا ماژور در ماکروفاژ گردید. واما در مطالعه حاضر اثر ضدلیشمانیایی عصاره الکلی برگ گیاه کاسنی(*Cichorium intybus*)در محیط in vitro با استفاده از تست MTT، بررسی شد. پروماستیگوتهای *لیشمانیا ماژور* در دمای۲۵±۲°Cدر فاز ثابت در محیط RPMI۱۶۴۰ غنی شده با سرم جنین گوساله FCS۱۰٪ و آنتی بیوتیک پنی سیلین - استرپتومایسین کشت داده شد که در مطالعه حاضر سپس با استفاده از روش رنگ سنجیMTT، 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 الیزاریدر(ElisA reader)سنجیده شده و مقدارIC50 (که ۵۰٪غلظت مهار کننده است) محاسبه گردید. در مطالعه حاضر بر اساس قراردادن تست رنگ سنجیMTT، و هم چنین قابل مقایسه با داروی استاندارد گلوکانتیم می باشد نسبت به این تحقیق برتری دارد. IC50گلوکانتیم ۶۱۶/۱۸میکروگرم بر میلی لیتر بود IC50 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 IC۵۰ برابر µg/ml ۱۰۹۴ بود ، ولی IC۵۰ گلوکانتیم ۱۸/ ۶۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد ، ولی به دلیل عوارض کمتر گیاهان دارویی و تأثیر خوبی که این گیاه بر پروماستیگوت های *لیشمانیا ماژور* 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 پرنسل 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 انگل‌های *لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفانتوم* 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 دوره۵،شماره۱،صفحات۱۲۳-۱۲۴، ۱۳۹۰

۳- مشارکت‌کنندگان ویکی‌پدیا(Chicory) ویکی‌پدیای انگلیسی؛ دانشنامه آزاد، نسخه ۱۵، ژانویه ۲۰۰۶

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

5-Babaee KL, Mohebali M, Nikan L. et a,lThe therapeutic effect of eucalyptus, Myrtus,ferula, aretmisia, allium and urtica extracts against cutaneous leishmaniasis caused by leishmania major in smal 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 Chemothrapy,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 striat*a 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, Mohebali 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.