

## بررسی اثرات ضد لیشمانیائی عصاره روغنی (*Pistacia atlantica*) پسته کوهی (بنه) بر پروماستیگوت لیشمانیا ماژور (*Leishmania major*) در شرایط برون تنی

میلاذ دولتیاپی<sup>۱</sup>، غزاله ادهمی<sup>۲\*</sup>، یحیی معروفی<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته دکترای حرفه ای، دانشکده دامپزشکی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

۲- استادیار گروه پاتوبیولوژی دامپزشکی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

۳- استادیار گروه علوم پایه دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

دریافت مقاله: ۱۳ دی ۱۴۰۰، بازنگری: ۲۰ بهمن ۱۴۰۰، پذیرش نهایی: ۵ اسفند ۱۴۰۰

### چکیده

لیشمانیوز یک زئونوز، تک‌یاخته‌ای و از معضلات بهداشت عمومی می‌باشد. استفاده از ترکیبات آنتی‌موان پنج ظرفیتی به‌عنوان داروهای شیمیایی در درمان لیشمانیازیس جلدی همراه با محدودیت‌ها و عوارض جانبی متعدد می‌باشند. امروزه عصاره‌های گیاهی و ترکیبات مشتق شده از آنها منابع نوید بخشی در طب گیاهان دارویی هستند. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی اثر عصاره روغنی (*Pistacia atlantica*) منطقه اورامانات در استان کردستان ایران بر روی پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در شرایط آزمایشگاهی بود. در این مطالعه، غلظت‌های ۱۰، ۱۵، ۲۵، ۵۰ درصد عصاره روغنی (*Pistacia atlantica*) به پلیت حاوی سویه استاندارد پروماستیگوت لیشمانیا ماژور اضافه شد. اثر بخشی غلظت‌های مختلف عصاره روغنی با روش رنگ‌سنجی MTT (3-(4,5)-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) و شمارش پروماستیگوت‌های زنده تعیین گردید. نتایج مطالعه حاضر نشان داد غلظت‌های مختلف عصاره روغنی اثر مهاری بر روی پروماستیگوت لیشمانیا داشته و غلظت ۵۰ درصد عصاره روغنی بیشترین تأثیر را نشان داد. نتایج مطالعه نشان داد بین تعداد پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در غلظت‌های مختلف عصاره روغنی و زمان‌های مختلف مورد مطالعه (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مواجهه) اختلاف معنی‌داری وجود دارد ( $P \leq 0.05$ ). نتایج مطالعه نشان داد که عصاره روغنی این گیاه در شرایط آزمایشگاهی تأثیر مطلوبی بر لیشمانیا ماژور دارد. لذا ارزیابی تأثیر عصاره روغنی گیاه بر زخم لیشمانیائی پیشنهاد می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** لیشمانیا ماژور، پروماستیگوت، پسته کوهی، MTT.

لیشمانیوز بیماری منتقله از بندپایان می باشد که ۴۰۰ میلیون نفر در سراسر دنیا مبتلا به آن هستند (۲۱). لیشمانیوز معضل بهداشت عمومی و بیماری اندمیک در ۸۸ کشور می باشد. بعد از مالاریا، لیشمانیوز مهم ترین بیماری انگلی به شمار می رود (۲۱). لیشمانیوز جلدی متداول ترین فرم لیشمانیوز است که به صورت وسیع کشورهای فقیر و توسعه یافته را درگیر کرده است (۸). این عفونت همه گیر به وسیله جنس *لیشمانیا* با دامنه وسیعی از تظاهرات بالینی از اشکال بدون علامت تا زخم های سطحی جدی توسط *لیشمانیا مائزور* ایجاد می شود (۱۲). لیشمانیوز از طریق نیش پشه خاکی به انسان منتقل می شود (۶). ترکیبات پنج ظرفیتی آنتیمنوان به عنوان داروهای خط اول در درمان لیشمانیوز جلدی در نظر گرفته می شود اما تجویز این داروها با اشکالات متعددی مرتبط است از آن جمله می توان به عدم دسترسی به دارو، هزینه بالای دارو، تزریق دردناک، طول دوره کمون طولانی، عوارض جانبی سمی جدی بر روی کلیه ها و قلب، بازگشت مجدد بیماری، بافت اسکار، و مقاومت داروئی اشاره کرد (۱۴). انسان از زمان های قدیم محصولات طبیعی و عصاره های گیاهی را جهت درمان بیماری های متعدد به دلیل عوارض جانبی کم، قیمت ارزان و در دسترس بودن بالای آنها به کار برده است (۱۵). یکی از این گیاهان مورد توجه که به طور وسیعی در طب سنتی ایران استفاده می شود، پسته کوهی می باشد (۱۶).

بر اساس مطالعات گذشته گیاه داروئی پسته کوهی کردی (بنه) به صورت سنتی به عنوان عامل درمانی در عفونت های مختلف به کار رفته است (۱۶). بنه یا پسته کوهی (*Pistacia atlantica*) *subsp. Kurdica* یک گیاه از خانواده آناکاردیاسه می باشد که بومی ایران بخصوص در منطقه اورامانات

استان کردستان غرب ایران می باشد (۱۹). ترکیبات موجود در آن نظیر آلفا توجن ( $\alpha$ -Thujene)، آلفا پینن ( $\alpha$ -Pinene)، کامفن (Camphene)، سابینن (Sabinene)، بتا پینن (Pinene)، لیمونن (Limonene)، و ترکیبات فنلی موجود در آن به گیاه خواص ضد میکروبی بخشیده است (۳).

بهره برداری از پسته کوهی تاریخچه طولانی در کردستان داشته و به صورت سنتی در درمان بیماری زخم معده و التیام زخم ها به کار رفته است (۲۲). پسته کوهی گونه کردی یک گیاه کوهی بومی کردستان می باشد که به طور وسیعی در کوهستان های زاگرس کردستان پراکنده شده است (۵). طبق گزارشات، در مطالعات متعدد بخش های مختلف گیاه دارای اثرات بیولوژیکی نظیر فعالیت ضد التهابی می باشد (۷). همچنین طبق گزارشات، عصاره روغنی گیاه اثرات ضد میکروبی قابل توجهی دارد (۱۳). در مطالعات دیگر همچنین به ویژگی های فارماکولوژیکی متعدد پسته کوهی نظیر فعالیت ضد باکتریائی، ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد انگلی در برابر تعدادی از گونه های بیماری زا اشاره شده است (۱۷). بنه (*pistacia atlantica*) از خانواده آناکاردیاسه، یکی از گونه های پسته کوهی در ایران است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی فعالیت ضد لیشمانیائی عصاره روغنی پسته کوهی گونه *kurdica* بر پروماستیگوت های *لیشمانیا مائزور* می باشد.

در مطالعات صورت گرفته توسط Mutoro و همکاران بر روی بادمجان تاجریزی (*Solanum nigrum*)، محمودوند و همکاران بر روی عصاره متانولی مورد (*Myrtle*)، میرزائی و همکاران بر روی عصاره اسپند، احمدی رنانی و همکاران بر روی عصاره سیر، شمشادی و همکاران بر روی هندوانه کوهی (*Caparis Spinoza*)، فرقی و همکاران بر روی عصاره الکلی بلوط حلبی، محمودوند و همکاران

کشت پروماستیگوت‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف عصاره روغنی بنه: به پروماستیگوت‌های کشت داده شده در محیط کشت RPMI، لیشمانیا ماژور همراه با ۱۵ درصد سرم جنین گاوی در پلیت‌های ۹۶ خانه با تراکم  $4 \times 10^4$  انگل در هر میلی‌لیتر (شمارش با استفاده از لام نئوبار) در ۳ تکرار عصاره روغنی بنه به نسبت ۱۰، ۱۵، ۲۵ و ۵۰ درصد محیط کشت اضافه شده و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید (۱۱).

**تست ارزیابی زنده ماننی پروماستیگوت:** ارزیابی میزان تکثیر پروماستیگوت، به‌وسیله شمارش سلول‌های انگل با لام هماسیتومتر (نئوبار) قبل و بعد از اضافه کردن عصاره روغنی بنه در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از انکوباسیون انجام شد (۳۳). گروه کنترل منفی شامل پروماستیگوت کشت داده شده در سه تکرار بدون عصاره روغنی بنه بوده و سپس  $IC_{50}$  محاسبه گردید (۱۱).

**تست سنجش MTT:** در این روش، آنزیماتیک به‌عنوان سوبسترای واکنش از نمک‌های محلول تترازولیوم که مهم‌ترین آنها MTT است استفاده می‌شود. MTT قادر به عبور از غشا سلول‌ها می‌باشد. آنزیم دهیدروژناز میتوکندریائی قادر است پس از ورود MTT به سلول‌های سالم حلقه تترازولیوم آن را بشکند و آن را به فورمازان نامحلول و آبی رنگ تبدیل کند. در حالی که سلول‌های مرده از این عمل ناتوان هستند. به وسیله این آزمایش ساده و دقیق می‌توان پاسخ سلول‌های مختلف را به داروهای سایتوتوکسیک ارزیابی کرد. این روش نسبت به سایر روش‌ها ساده‌تر بوده و با امکانات موجود در اغلب آزمایشگاه‌ها قابل اجرا است. به علاوه کلیه مراحل آزمایش در پلیت‌های ۹۶ خانه کشت سلولی انجام شده و نتایج با دستگاه الایزا ریدر قرائت گردید (۱۱).

قابلیت زنده‌مانی پروماستیگوت‌ها با سنجش MTT ارزیابی شد. پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در پلیت‌های ۹۶ خانه به تعداد  $4 \times 10^4$  در هر چاهک در حضور غلظت‌های ۱۰، ۱۵، ۲۵ و ۵۰ عصاره

بر روی عصاره الکلی پسته، ابراهیمی صدر و همکاران بر روی جعفری فرنگی (*Chaerophyllum*)، برازجانی و همکاران بر روی *Arnebia Euchroma* عزت‌پور و همکاران، بر روی گیاهان فوق‌واجد اثرات ضد لیشمانیائی بوده‌اند. از آنجا که داروهای گیاهی از لحاظ قیمت مقرون به صرفه است و نیز معمولاً فاقد عوارض داروهای شیمیائی می‌باشد می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیائی باشند (۲۱، ۱۸، ۲۰، ۴، ۲۴، ۱۴، ۱۷، ۱۲، ۱۰، ۱۳).

جهت تشخیص لیشمانیوز از روش‌های مختلف می‌توان استفاده کرد. الایزا یکی از تکنیک‌های بکار گرفته جهت تشخیص لیشمانیوز می‌باشد که در آن تعداد زیادی نمونه را می‌توان همزمان آزمایش کرد (۱۱).

### مواد و روش‌ها

**کشت انگل:** سویه استاندارد لیشمانیا ماژور (MRHO/IR/75/ER) جهت کشت انگل از آزمایشگاه دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران تهیه و در محیط کشت RPMI-1640 به همراه پنی‌سیلین (Iu/ml ۱۰۰)، استرپتومایسین (mg/ml ۱۰۰) و ۱۵ درصد سرم جنین گاوی (FCS) غیر فعال شده با حرارت کشت داده شد (۱۷). سپس ۳ بار با سالین فسفات بافر (PBS) شستشو داده شده و در ۱۵۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفوژ شد (۲۰). پس از کشت انگل محیط‌های کشت به‌طور مرتب از نظر رشد پروماستیگوت، تعداد و حرکت آنها و آلودگی ثانویه مورد بررسی قرار گرفتند.

**مواد گیاهی:** پسته وحشی پس از جمع‌آوری در منطقه اورامانات، تمیز کردن و شستشو با آب معمولی، توسط جریان هوا خشک و سپس توسط دستگاه خردکن به صورت پودر درآورده شده و پس از مالش‌های متوالی در دستگاه پرس، عصاره (روغن) آن گرفته شد (۹). گیاهان جمع‌آوری شده توسط مرکز تحقیقات کشاورزی دامپرووری و گیاهان داروئی دانشگاه آزاد سنندج تأیید شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای مقایسه نتایج اثربخشی غلظت‌های مختلف در زمان‌های متفاوت گروه‌های آزمون و کنترل، از روش ANOVA یک طرفه و نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ استفاده شده و سطح معنی‌داری  $P < 0/5$  در نظر گرفته شد.

### نتایج

نتایج اثرات سایتوتوکسیک عصاره روغنی بنه بر *لیشمانیا مازور* در جدول (۱)، اثرات ممانعت از رشد چهار غلظت عصاره روغنی بنه بر پروماستیگوت‌ها در زمان‌های مختلف درج شده است. اثرات ممانعت‌کنندگی از رشد وابسته به دوز بوده، به گونه‌ای که غلظت‌های ۱۰ درصد بعد از ۲۴ ساعت و غلظت ۵۰ درصد پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون به ترتیب کمترین و بیشترین درصد مرگ و میر را نشان دادند. کمترین تعداد پروماستیگوت در هر میلی‌لیتر در ۷۲ ساعت پس از کشت در غلظت ۵۰ درصد  $41633/3 \pm 186/6 \times 10^4$  بود ( $P < 0/5$ ) (جدول ۱).

روغنی بنه در ۲۴ درجه انکوبه شدند (۹). پروماستیگوت‌های بدون عصاره روغنی در محیط کشت با ۱۵ درصد سرم جنین گاوی به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد (۳۳). ۳ چاهک حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت همچنین به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شد. بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از انکوباسیون چاهک‌ها، ۲۰ میکرولیتر MTT (۱۷ mg/ml) به چاهک‌ها اضافه شده و انکوباسیون به مدت ۴ ساعت در ۲۴ درجه و اتاق تاریک صورت گرفت (۱۱). چاهک‌ها سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به پلیت‌ها اضافه شده و مجدد انکوباسیون صورت گرفت. بعد از ۱۰ دقیقه، جذب نوری چاهک‌ها (OD) به‌وسیله الیزا ریدر در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت شد. درصد زنده‌مانی به‌وسیله فرمول محاسبه گردید.

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار پروماستیگوت‌های *لیشمانیا مازور* در زمان‌های مورد بررسی در محیط‌های کشت با غلظت‌های مختلف

p-value<0/05	۷۲ ساعت پس از مواجهه	۴۸ ساعت پس از مواجهه	۲۴ ساعت پس از مواجهه	قبل از مواجهه	
	$452 \times 10^4 \pm 0/000$	$449 \times 10^4 \pm 0/000$	$443 \times 10^4 \pm 0/000$	$440 \times 10^4 \pm 0/000$	کنترل مثبت
	$330 \times 10^4 \pm 5/0000$	$371 \times 10^4 \pm 5/000$	$10^4 \times 338 \pm 32145/5$	$440 \times 10^4 \pm 0/000$	غلظت ۱۰٪
	$271/3 \times 10^4 \pm 102632/1$	$305/3 \times 10^4 \pm 4932/8$	$360/6 \times 10^4 \pm 95043/8$	$440 \times 10^4 \pm 0/000$	غلظت ۱۵٪
	$256 \times 10^4 \pm 242693/2$	$279 \times 10^4 \pm 121243/5$	$292/3 \times 10^4 \pm 125032/3$	$440 \times 10^4 \pm 0/000$	غلظت ۲۵٪
	$186/6 \times 10^4 \pm 41633/3$	$221 \times 10^4 \pm 50322/3$	$226 \times 10^4 \pm 50322/3$	$440 \times 10^4 \pm 0/000$	غلظت ۵۰٪

P<0/5

لیشمانیوز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های انگلی در سراسر دنیا می‌باشد (۲۴). طبق گزارشات سازمان بهداشت جهانی قریب به ۳۵۰ میلیون نفر در ۸۸ کشور دنیا در معرض مخاطرات این بیماری می‌باشند. سالانه حدود ۱-۲ میلیون نفر به موارد ابتلا جدید افزوده می‌شود. حدود ۹۰ درصد از مبتلایان به لیشمانیوز جلدی ساکن کشورهای افغانستان، برزیل، ایران، پرو، عربستان سعودی و

در ارزیابی اثر کشندگی عصاره روغنی بنه بر رشد پروماستیگوت *لیشمانیا مازور* نتایج نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره روغنی بنه قدرت زنده‌مانی پروماستیگوت‌ها کاهش یافت. ۳۷ درصد پروماستیگوت‌ها، ۷۲ ساعت پس از کشت انگل تیمار شده با غلظت ۵۰ درصد عصاره روغنی گیاه از بین رفتند ( $P < 0/5$ ) (جدول ۲).

### بحث

## بررسی اثرات ضد لیشمانیائی عصاره روغنی پسته کوهی (بنه) بر پروماستیگوت ...

لیشمانیا، ایجاد مقاومت بر علیه داروها و طولانی بودن دوره درمانی این داروها و نبود واکنش مؤثر بر علیه آن علیرغم سرمایه‌گذاری‌های ملی و بین‌المللی همگی دلالت بر اهمیت این بیماری زئونوتیک دارد (۱).

سوریه می‌باشند. لیشمانیوز جلدی از زمان‌های دور در ایران وجود داشته و امروزه کشور ما یکی از کانون‌های مهم این بیماری در جهان محسوب می‌شود. هزینه‌های درمانی، نا کارآمدی روش‌های کنترل ناقصین و مخازن، عوارض داروهای ضد

جدول (۲). میانگین OD، درصد زنده مانی و درصد کشتندگی در زمان‌های مورد بررسی در محیط‌های کشت با غلظت‌های مختلف

۲۴ ساعت پس از مواجهه	۴۸ ساعت پس از مواجهه	۷۲ ساعت پس از مواجهه		
۰/۳۳۹	۰/۳۳۳	۰/۳۲۸	OD	کنترل
۹۶	۹۲	۸۸	درصد زنده مانی	
۴	۸	۱۲	درصد کشتندگی	
۰/۳۳۴	۰/۳۲۸	۰/۳۲۱	OD	غلظت ۱۰٪
۹۲	۸۹	۸۵/۵	درصد زنده مانی	
۸	۱۱	۱۴/۵	درصد کشتندگی	
۰/۳۳۱	۰/۳۲۴	۰/۳۱۸	OD	غلظت ۱۵٪
۹۰/۵	۸۷	۸۴	درصد زنده مانی	
۹/۵	۱۳	۱۶	درصد کشتندگی	
۰/۳۲۷	۰/۳۲۰	۰/۳۱۹	OD	غلظت ۲۵٪
۸۸/۵	۸۵	۶۹/۵	درصد زنده مانی	
۱۱/۵	۱۵	۳۰/۵	درصد کشتندگی	
۰/۲۹۳	۰/۲۸۱	۰/۲۷۶	OD	غلظت ۵۰٪
۷۱/۵	۶۵/۵	۶۳	درصد زنده مانی	
۲۸/۵	۳۴/۵	۳۷	درصد کشتندگی	

بنه تأثیرات مطلوب درمانی بر روی پروماستیگوت لیشمانیا مازور دارد و استفاده از عصاره روغنی بنه باعث کاهش تعداد پروماستیگوت‌های لیشمانیا مازور گردید. اثربخشی عصاره روغنی بنه بر پروماستیگوت‌های انگل با توجه به مقایسه تعداد انگل در گروه کنترل با گروه‌های آزمون در زمان‌های مختلف وابسته به غلظت و زمان است و با افزایش غلظت عصاره روغنی و زمان تأثیر، تعداد انگل کاهش می‌یابد. تعداد پروماستیگوت‌ها پس از کشت در بالاترین غلظت استفاده شده، پس از ۲۴ ساعت از کشت به  $10^4 \times 226$  کاهش یافت، در حالی که در گروه کنترل، تعداد پروماستیگوت‌ها به  $10^4 \times 443$  رسید و تعداد پروماستیگوت‌ها پس از ۷۲ ساعت به  $10^4 \times 186/6$  کاهش یافت که نشان از تأثیر مطلوب

در ذکر اهمیت لیشمانیوز جالب است که بدانیم ساخت داروی مؤثر بر علیه لیشمانیوز هفتمین اولویت پژوهشی تحقیقاتی WHO می‌باشد و علیرغم انجام پژوهش‌های گسترده در این زمینه هنوز درمان مشخصی برای این بیماری یافت نشده و روزانه شاهد موارد جدید ابتلا به بیماری هستیم (۲).

لذا توسعه داروهای کمتر سمی، ارزان، مؤثر و در دسترس از اهم امور بوده و داروهای گیاهی بهترین جایگزین می‌باشند (۲۲). در میان طیف وسیعی از گیاهان، آن دسته که سابقه طولانی مصرف به‌عنوان غذا یا دارویی در طب سنتی را داشته‌اند از اهمیت بیشتری در مطالعات بیولوژیکی برخوردارند (۲۲).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره روغنی

در سایر مطالعات صورت گرفته همچنین اثرات ضد لیشمانیائی سیر، چای سبز، سیاه دانه، حنا، درمنه، آویشن و شیرین بیان اشاره شده است (۲).

### نتیجه گیری

امروزه استفاده از داروهای گیاهی در درمان بیماری‌های انگلی و به‌خصوص لیشمانیوز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و در سال‌های اخیر، از عصاره و اسانس گیاهان مختلف برای درمان سالک استفاده شده است (۹). پسته کوهی گیاه بومی غرب ایران می‌باشد و نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که عصاره روغنی این گیاه در شرایط آزمایشگاهی تأثیر مطلوبی بر لیشمانیا مازور دارد. لذا بررسی تأثیر گیاه بر زخم لیشمانیائی توصیه می‌شود.

عصاره روغنی بنه بر پروماستیگوت‌های انگل دارد. طبق نتایج آزمون MTT نیز با افزایش زمان انکوباسیون و افزایش غلظت عصاره روغنی، درصد زنده ماندن پروماستیگوت‌های انگل کاهش می‌یابد، به‌طوری‌که ۷۲ ساعت پس از کشت و در غلظت ۵۰ درصد، این میزان به ۶۳ درصد رسید که نتایج به‌دست آمده از آزمون MTT با روش شمارش همخوانی داشت.

در مطالعه اسکندری و همکاران عصاره‌های ترخون و بابونه دارای فعالیت ضد لیشمانیائی قابل توجهی بودند. در مطالعات دیگر فعالیت ضد لیشمانیائی عصاره گیاه سدآب، گل همیشه بهار، اکیناسه، باجاری، آلوئه، یونجه سیاه، آلوئه ورا، درمنه کوهی، آنقوره و قوزه پنبه گزارش شده است (۱).

### References

- 1- Farivand S, Doodi M, Shoaii Gh. Evaluation of anti-leishmaniasis effect of alcoholic extract of black alfalfa leaves (*Medicago lupulina*) on promastigotes of *Leishmania major* (MRHO / IR / 75 / ER) in vitro by MTT and microscopic methods and determination of its compounds by GC / MS method. *Journal of Medicinal Plant*. 2017; 16(61): 77-93 [In Persian].
- 2- Fooladvand M, Borazjani M, Khorami S. Evaluation of anti-leishmaniasis effect of extracts of three species of native Persian Gulf's marine animals in vitro. *Armaghane danesh Journal*. 2020; 25(4): 438-450 [In Persian].
- 3- Matini M, Bakhtiyar Nejad S, Dastan D, Maghsood A, Fallah M. Investigation of in-vitro efficacy of pistacia atlantica subsp. kurdica extracts against trichomonas vaginalis. *Stud Med Sci*. 2018; 29(3): 198-207 [In Persian].
- 4- Ahmadi-Renani K, Mahmoodzadeh A, Cheraghali AM, Esfahani AA. Effect of garlic extract on cutaneous leishmaniasis and the role of nitric oxide. *Iranian J Med Sci*. 2015; 27(3): 97-100 [In Persian].
- 5- Ahmed HM. Traditional uses of Kurdish medicinal plant *Pistacia atlantica* subsp. *kurdica* Zohary in Ranya, Southern Kurdistan. *Genet Resour Crop Evol*. 2017; 64(6): 473-1484.
- 6- Ahua KM, Ioset JR, Ioset KN, Diallo D, Mauël J, Hostettmann K. Antileishmanial activities associated with plants used in the Malian traditional medicine. *J Ethnopharma*. 2007; 110(1): 99-104.
- 7- Amri O, Zekhnini A, Bouhaimi A, Tahrouch S, Hatimi A. Anti-inflammatory Activity of Methanolic Extract from *Pistacia atlantica* Desf. Leaves. *Pharma J*. 2018; 10(1): 71-76.
- 8- Beaufay C, Nghiem DT, Mingeot-Leclercq MP, Quetin-Leclercq J. In Vitro Anti-Leishmanial Activity of Essential Oils Extracted from Vietnamese Plants. *Molecules*. 2017; 22(7): 1071.
- 9- Bonyadian M, Hejazi H, Azizi H, Habibi-an S, Sayahi E. Antileishmania activity of *Levandula officinalis* oily extract against *Leishmania major* in in vitro media. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. 2015; 1: 1-17 [In Persian].
- 10- Borazjani R, Aminnia S, Rastegarian M, Hosseini M, Ghanbarinasab Z, Ashkani-Esfahani S, et al. Effect of Hydroalcoholic Extract of *Arnebia Euchroma* on the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. *Journal of Clinical & Diagnostic Research*. 2018; 12(8): 21-23 [In Persian].
- 11- Delavari M, Dalimi A, Ghaffarifar F,

**Sadraei J.** In vitro study on cytotoxic effects of ZnO nanoparticles on promastigote and amastigote forms of *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER). *Iranian Journal of Parasitology*. 2014; 9(1): 1-6 [In Persian].

**12- Ebrahimisadr P, Majidiani H, Bineshian F, Jameie F, Ghasemi E, Ghaffarifar F.** Evaluation of the Cytotoxicity Effect of Chaerophyllum Extract on *Leishmania major* and J774 Cell Line in Vitro. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 2017; 12(3): e38948 [In Persian].

**13- Ezatpour B, Saedi Dezaki E, Mahmoudvand H, Azadpour M, Ezzatkah F.** In vitro and in vivo antileishmanial effects of Pistacia khinjuk against *Leishmania tropica* and *Leishmania major*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015; 1: 149707 [In Persian].

**14- Farghi Yamchi A, Dabirzadeh M, Maroufi Y.** In Vitro Effect of Methanolic Extract of *Quercus infectoria* Galls on Promastigotes and Amastigotes of *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER). *Medical Laboratory Journal*. 2018; 12(5): 23-28.

**15- Hesami G, Bahramian S, Fatemi A, Hesami S.** Effect of Pistacia atlantica subsp. kurdica essential oil and acetic acid on *Botrytis cinerea* growth in culture media and strawberry fruits. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*. 2014; 3(2): 100-106 [In Persian].

**16- Khodavaisy S, Rezaie S, Noorbakhsh F, Baghdadi E, Sharifynia S, Aala F.** Effects of Pistacia atlantica subsp. kurdica on Growth and Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus*. *Jundishapur journal of microbiology*. 2016; 9(7): e35452 [In Persian].

**17- Mahmoudvand H, Doostishoar F.** Effects of Pistacia vera methanolic extract against *Leishmania major* promastigotes. *Scholars Research*

*Library*. 2016; 8(10): 136-139 [In Persian].

**18- Mahmoudvand H, Lalehmarzi HS, Falahi S, Baharanchi MM, Bayat P, Jahanbakhsh S.** Antileishmanial Activity of Myrtle Methanolic Extract against *Leishmaniamajor*: an In Vitro Study. *Herbal Medicines Journal*. 2017; 22(6): 122-125 [In Persian].

**19- Minaiyan M, Karimi F, Ghannadi A.** Anti-inflammatory effect of Pistacia atlantica subsp. kurdica volatile oil and gum on acetic acid-induced acute colitis in rat. *Research Journal of Pharmacognosy*. 2015; 2(2): 1-12 [In Persian].

**20- Mirzaie M, Nosratabadi SJ, Derakhshanfard A, Sharif I.** Antileishmanial activity of Peganum harmala extract on the in vitro growth of *Leishmania major* promastigotes in comparison to a trivalent antimony drug. *Veterinarski Arhiv*. 2007; 77(4): 365-371 [In Persian].

**21- Mutoro CN, Kinyua JK, Kariuki DW, Ingonga JM, Anjili CO.** In vitro study of the efficacy of Solanum nigrum against *Leishmania major*. *F1000Research*. 2018; 7: 1329.

**22- Ozbilgin A, Durmuskahya C, Kayalar H, Ertabaklar H, Gunduz C, Ural A, et al.,** Antileishmanial activity of selected turkish medicinal plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2014; 13(12): 2047-2055.

**23- Rahimi AR, Hadian J, Azizi M, Abdosi V, Larijani K.** Quantity and Quality of Essential Oil of Pistacia atlantica Subsp. Kurdica in Response to Gradual Harvest of Oleoresin. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2016; 19(3): 616-623.

**24- Shemshadi B, Ranjbar-Bahadory S, Ahmadi H.** Effect of Caparis spinosa root extract on promastigotes and amastigotes of *Leishmania major*. *Journal of Paramedical Sciences*. 2015; 6(1): 1-15.



## Effect of *Pistacia atlantica* (kurdica) oil extract on promastigotes of *Leishmania major*

Milad Dolatyabi<sup>1</sup>, Ghazaaleh Adhami<sup>2\*</sup>, Yahya maroufi<sup>3</sup>

1- Veterinary graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Veterinary Pathobiology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.

3- Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

Accept: February 24, 2022 Receive: January 3, 2022, Revise: February 9, 2022,

### Summary

---

Leishmaniasis is a protozoan zoonosis that causes problems for public health. The use of pentavalent antimony compounds as chemical drugs in the treatment of cutaneous leishmaniasis are associated with various limitations and side effects. Today, the plant extracts and their derivations are the promising sources in herbal medicine. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of oil extract *Pistacia atlantica* from Uramanat area in Kurdistan Province, Iran, on promastigotes of standard strain *Leishmania major in vitro*. In this study, 10, 15, 25, and 50% concentrations of oily extract were added to the plate containing promastigotes of *Leishmania major*. The effectiveness of different concentrations of extract was determined by MTT (3-[4, 5-(dimethylthiazole-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) colorimetric method and counting of living promastigotes. The results of the present study showed that different concentrations of oil extract has an inhibitory effect on promastigotes of *Leishmania* and the extract 50% has the most effect. The results showed a significant difference in the number of promastigotes of *Leishmania major* in different concentrations of extract and in different exposure times (24, 48, and 72 hours) ( $P < 0.05$ ). The results show that extract of *pistacia atlantica* has an appropriate effect on *Leishmania major in vitro*. Therefore, it is suggested to evaluate the effect of the extract *Pistacia atlantica* on leishmaniasis wounds.

**Keywords:** *Leishmania major*, *Promastigotes*, *Pistacia atlantica*, *MTT*