Original Article

Effect of methanolic extract of hawthorn (*Crataegus aronia*) fruit on *Leishmania major* in vitro

Maroufi Y[1*], Dabirzadeh M[2], Hossein-Pour-Mousavi SH[2]

1- Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, I. R. Iran.
2- Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, I. R. Iran.

Received May 6, 2015; Accepted January 30, 2016

Abstract:

Background: Pentavalent antimonate compounds are the routine drugs for leishmaniasis. Apart from side effects, relapse and drug resistance are among the main problems of these compounds. Hawthorn has antioxidant and antibacterial effects. The aim of present study was to determine the anti-leishmanial effect of hawthorn fruit extract in vitro.
Materials and Methods: In this experimental study different doses of hawthorn fruit extract was added to *Leishmania major* promastigotes. Cytotoxicity was investigated by both direct counting and MTT assay after 24, 48 and 72 hours. In addition, hawthorn extract was added to amastigote-infected macrophages and then the mean of amastigote per macrophage was counted after 24 and 48 hours. Data were analyzed using one-way ANOVA.
Results: The cytotoxicity of the highest and lowest concentration of the extract (60 µg/ml and 0.5 µg/ml) after 24, 48 and 72 hours was 31.86%, 27.93%; 20.11%, 20.94%; and 35.19%, 55.14%, respectively. After 24 hours the IC_{50} was 49.13 µg/ml; the mean number of amastigote per macrophage in Control and Plant extract-treated groups (1, 10 and 100 µg/ml) were: 3.91; (1.97, 1.76 and 1.78), respectively.
Conclusion: The results showed that hawthorn fruit extract has no significant cytotoxic effect on promastigotes. However, to some extent it can inhibit the proliferation of amastiogtes inside macrophages.

Keywords: Hawthorn, Leishmania major, Promastigote, Amastigote

*** Corresponding Author.**
Email: maroofi.y@gmail.com
Tel: 0098 918 375 5825
Fax: 0098 873 366 4674

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2016; Vol. 20, No 1, Pages 11-15

Please cite this article as: Maroufi Y, Dabirzadeh M, Hossein-Pour-Mousavi SH. Effect of methanolic extract of hawthorn (*Crataegus aronia*) fruit on *Leishmania major* in vitro. ***Feyz*** 2016; 20(1): 11-5.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]

بررسی تاثیر عصاره متانولی میوه زالزالک بر *لیشمانیا ماژور* در شرایط برون‌تنی

یحیی معروفی [۱*]، منصور دبیرزاده [۲]، سید حسن حسین‌پور موسوی [۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: ترکیبات پنج ظرفیتی آنتیموآن داروی رایج لیشمانیوز هستند. علاوه بر عوارض جانبی، عود و مقاومت دارویی از مشکلات اصلی این داروهاست. زالزالک دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی است. هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر ضد لیشمانیایی عصاره میوه زالزالک در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی عصاره زالزالک با غلظت‌های مختلف به پروماستیگوت‌های *لیشمانیا ماژور* افزوده شد. بعد از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، میزان کشندگی با دو روش شمارش مستقیم و روش رنگ‌سنجی MTT بررسی شد. هم‌چنین، عصاره زالزالک به ماکروفاژ آلوده به آماستیگوت انگل افزوده شد و پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت، میانگین تعداد آماستیگوت در ماکروفاژ آلوده محاسبه گردید.

نتایج: میزان کشندگی بیشترین و کمترین غلظت (۶۰ و ۰/۵ µg/ml) به‌ترتیب بعد از گذشت ۲۴ ساعت، ۳۱/۸۶ و ۲۷/۹۳ درصد، بعد از ۴۸ ساعت، ۲۰/۱۱ و ۲۰/۹۴ درصد و بعد از ۷۲ ساعت، ۳۵/۱۹ و ۵۵/۱۴ درصد بود. IC_{50} بعد از ۲۴ ساعت، ۴۹/۱۳ µg/ml به‌دست آمد. میانگین تعداد آماستیگوت در هر ماکروفاژ پس از ۲۴ ساعت در گروه‌های کنترل، زالزالک با غلظت‌های ۱ µg/ml، ۱۰ و ۱۰۰ به‌ترتیب ۳/۹۱، ۱/۹۷، ۱/۷۶ و ۱/۷۸ محاسبه گردید.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که اگرچه عصاره میوه زالزالک اثر کشندگی چندانی بر پروماستیگوت ندارد ولی تا حدودی مانع از تکثیر آماستیگوت در داخل ماکروفاژ می‌شود.

واژگان کلیدی: زالزالک، لیشمانیا ماژور، پروماستیگوت، آماستیگوت

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵، صفحات ۱۵-۱۱

مقدمه

لیشمانیا تک‌یاخته‌ایی تاژک‌دار است که عامل بیماری لیشمانیوز است. علائم بالینی این بیماری به سه شکل جلدی، جلدی-مخاطی و احشایی می‌باشد [۳-۱]. لیشمانیوز یکی از شش بیماری مهم انگلی مناطق گرمسیری است که از سراسر جهان گزارش شده است [۴]. ایران برای لیشمانیوز جلدی اندمیک است [۵]. شایع‌ترین فرم لیشمانیوز نوع جلدی است که به دو صورت خشک (شهری) و مرطوب (روستایی) مشاهده می‌شود [۶]. هم‌اکنون در بسیاری از نقاط جهان تحقیقات گسترده‌ایی جهت درمان و کنترل این بیماری در حال انجام است [۷]. داروهای مورد استفاده در درمان لیشمانیوز ترکیبات ۵ ظرفیتی آنتیموان، گلوکانیتم و پنتوستام است.

[۱] استادیار، گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان

[۲] استادیار، گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل

[۳] دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی پزشکی، گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زابل

* **نشانی نویسنده مسئول:**

سنندج، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی

تلفن: ۰۹۱۸۳۷۵۵۸۲۵ **دورنویس:** ۰۸۷۳ ۳۶۶۴۶۷۴

پست الکترونیک: maroofi.y@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۶ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۴/۱۱/۱۰

به‌دلیل عوارض جانبی این داروها، احتمال عود بیماری و به‌جا ماندن جوشگاه تحقیقات زیادی در جهت ابداع و ارزیابی روش‌های مختلف درمانی لیشمانیوز، به‌خصوص استفاده از گیاهان دارویی، در حال انجام است. گیاهان بومی به‌دلیل در دسترس بودن و مقرون به صرفه بودن در اکثر این تحقیقات استفاده شده است [۱۰-۸]. درخت زالزالک (*Crataegus aronia*) به‌صورت وحشی و خودرو در مناطق شمال، شمال غرب و غرب ایران یافت می‌شود. قرن‌هاست که از میوه این گیاه به‌عنوان غذا و دارو در چین و اروپا استفاده می‌شود. گرچه تاکنون داده‌ایی مبنی بر بررسی اثر زالرالک بر لیشمانیا و لیمشانیوز ثبت نشده است، اما مطالعات زیادی اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدویروسی و ضدباکتریایی این گیاه را نشان داده‌اند. این گیاه دارای ترکیبات پُلی‌فنُلی زیادی است که علاوه بر خواص ضد-باکتریایی و ضدالتهابی، مقاومت دارویی در عوامل بیماری‌زا را هم سرکوب می‌کنند [۱۶-۱۱]. در اغلب کشورهای اروپایی به‌خصوص آلمان برای درمان بی‌نظمی ضربان قلب از گیاه زالزالک استفاده می‌شود. هم‌چنین، زالزالک در درمان آنژین و تصلب شرایین (سفت شدن دیواره رگ‌ها) کاربرد دارد [۱۷]. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر کشندگی عصاره میوه زالزالک بر *لیشمانیا ماژور* در شرایط آزمایشگاهی است.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]

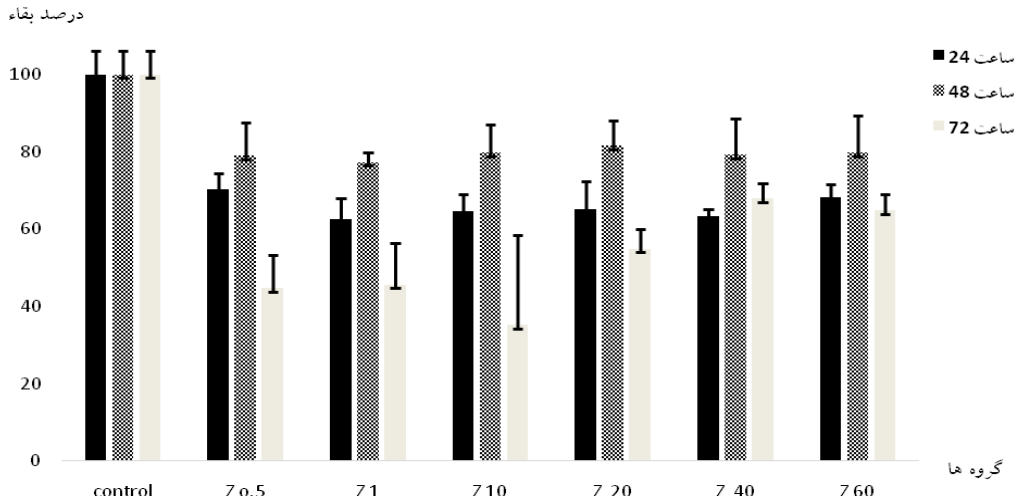
مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۳ در آزمایشگاه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی زابل انجام شد. *لیشمانیا ماژور* سویه MRHO/IR/75/ER از دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. سپس، در محیط RPMI ۱۶۴۰ و سرم جنین گاوی (FCS) ۱۰ درصد (غیر فعال شده با حرارت) و دمای ۲۱ °C کشت داده شد. میوه زالزالک از ارتفاعات جنگلی منطقه مازندران جمع‌آوری گردید. بعد از خشک شدن در محیط مناسب و فاقد نور، عصاره گیری به روش پرکولاسیون با استفاده از متانول ۸۰ درصد انجام شد. سپس، در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و فشار کم با استفاده از دستگاه روتاری اوپورین (IKA WERKE; RVO6-ML) حلال تبخیر شده و عصاره تغلیظ شد. پس از خشک شدن، عصاره بسته بندی شده و در دمای صفر درجه سانتی‌گراد و تاریکی تا انجام آزمایشات نگهداری شد. از عصاره به‌دست آمده غلظت‌های µg/ml ۰/۵، ۱، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ تهیه شد. سپس، 10^6 cell/ml پروماستیگوت که در فاز لگاریتمی قرار داشتند، به همراه غلظت‌های تهیه شده از زالزالک در پلیت کشت ۹۶ خانه‌ایی و دمای ۲۱ °C انکوبه شد. تعدادی از چاهک‌ها فقط حاوی انگل بود که به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شدند. تمام گروه‌ها به‌صورت ۴ بار تکرار انجام گرفت. اثر عصاره گیاه بر میزان کشندگی انگل پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با روش شمارش مستقیم و روش رنگ‌سنجی MTT تعیین شد.MTT (3-(4,5-dimethyl thiazolyl-2)-2,5-diphenyle tetrazolium bromide) یک روش رنگ‌سنجی است که طی آن نمک تترازولیوم تحت تاثیر آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی به یک ماده نامحلول بنام فورامازان تبدیل می‌گردد. سلول‌های مرده قادر به انجام این عمل نمی‌باشند [۱۸]. محلول MTT با غلظت نهایی mg/ml ۰/۵ به هر چاهک اضافه شد و مجددا پلیت به‌مدت ۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۱ °C انکوبه شد. سپس، ml ۱۰۰ محلول DMSO به هر چاهک افزوده شد و ۱۰ دقیقه بعد جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر قرائت شد [۱۸]. برای بررسی اثر عصاره زالزالک بر آماستیگوت لیشمانیا از ماکروفاژهای صفاقی موش سوری استفاده شد. لامل‌های گرد استریل در ته چاهک‌های پلیت ۱۲ خانه گذاشته شد و تعداد 5×10^4 ماکروفاژ در محیط کشت RPMI 1640 به همراه FCS ۱۰ درصد و جنتامایسین ۰/۵ درصد و دمای ۳۷ °C و CO2 ۵ درصد کشت داده شد. ۲۴ ساعت بعد، به هر چاهک 5×10^5 پروماستیگوت انگل که در فاز ایستایی قرار داشتند، افزوده شد [۱۹]. بعد از گذشت ۲۴ ساعت محلول رویی خالی شده و محیط کشت جدید به همراه غلظت‌های µg/ml ۱، ۱۰ و ۱۰۰ از عصاره زالزالک به چاهک‌ها افزوده شد. ماکروفاژ آلوده بدون عصاره گیاه به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد. در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از افزودن دارو، لامل‌ها از چاهک خارج گشته و پس از فیکس کردن با متانول با روش گیمسا رنگ آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری تعداد آماستیگوت‌ها در ۱۰۰ ماکروفاژ شمارش گشته و متوسط تعداد آماستیگوت در هر ماکروفاژ در گروه‌های محاسبه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

میزان کشندگی غلظت‌های µg/ml ۰/۵، ۱، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ در پروماستیگوت‌ها بعد از ۲۴ ساعت به ترتیب ۲۹/۷۳، ۳۷/۴۴، ۳۵/۴۰، ۳۴/۷۷، ۳۶/۶۵، ۳۱/۸۶ درصد بود. این مقادیر پس از ۴۸ ساعت به‌ترتیب ۲۰/۹۴، ۲۲/۶۵، ۲۰/۱۵، ۱۸/۳۶، ۲۰/۶۵، ۲۰/۱۱ درصد و پس از ۷۲ ساعت به‌ترتیب ۵۵/۱۴، ۵۴/۳۱، ۶۴/۸۴، ۴۵/۰۶، ۳۲/۰۲، ۳۵/۱۹ درصد بود. در نمودار شماره ۱ درصد بقاء (که با کم کردن درصد کشندگی از ۱۰۰ به‌دست آمده) نشان داده شده است. IC_{50} بعد از ۲۴ ساعت، µg/ml ۴۹/۱۳ به‌دست آمد. بعد از گذشت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تمامی گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های زالزالک با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<$۰/۰۵). متوسط تعداد آماستیگوت در هر ماکروفاژ در گروه‌های کنترل و زالزالک µg/ml ۱، ۱۰ و ۱۰۰ بعد از گذشت ۲۴ ساعت به‌ترتیب ۳/۹۱، ۱/۹۷، ۱/۷۶ و ۱/۷۸ و بعد از ۴۸ ساعت به‌ترتیب ۱/۱۱، ۱/۱۷، ۱/۱۵ و ۰/۷ بود (جدول شماره ۱). بعد از ۲۴ ساعت گروه‌های تیمار شده با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار داشت. بعد از ۴۸ ساعت تنها گروه زالزالک µg/ml ۱۰۰ با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار داشت ($P<$۰/۰۵).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]



نمودار شماره ۱– درصد بقاء در پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور تحت تاثیر عصاره زالزالک با غلظت‌های مختلف پس از سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

جدول شماره ۱- میانگین تعداد آماستیگوت در هر ماکروفاژ پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت $\overline{X} \pm SD$

زمان گروه‌ها	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
کنترل	۳/۹۱±۰/۳۴	۱/۱۱±۰/۱۶
Zal۱	۱/۹۷±۰/۱۶	۱/۱۷±۰/۱۴
Zal۱۰	۱/۷۶±۰/۱۷	۱/۱۵±۰/۱۶
Zal۱۰۰	۱/۷۸±۰/۱۹	۰/۷±۰/۱۳

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پس از ۲۴ ساعت تمامی گروه‌ها با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار داشتند، ولی در بین خود گروه‌ها تنها گروه‌های ۰/۵ و ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر اختلاف معنی‌دار داشتند. بعد از ۴۸ ساعت هیچ‌کدام از گروه‌های زالزالک اختلاف معنی‌دار باهم نداشتند. پس از ۷۲ ساعت گروه‌های ۰/۵ و ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر با غلظت‌های بالا (۴۰ و ۶۰ µg/ml) اختلاف معنی‌دار داشتند. اثر عصاره زالزالک بر تکثیر آماستیگوت در ماکروفاژهای صفاقی موش بعد از ۲۴ ساعت کاملا مشهود بود، ولی بعد از ۴۸ ساعت این اثر تنها در گروه زالزالک ۱۰۰ µg/ml مشاهده شد. این تحقیق اولین مطالعه در رابطه با اثر کشندگی عصاره میوه زالزالک بر لیشمانیا است و تاکنون داده‌ایی مبنی بر اثر کشندگی زالزالک بر لیشمانیا و انگل‌های دیگر ثبت نشده است. بااین‌وجود، در تحقیقات دیگران اثرات ضدباکتریایی و ضدویروسی زالزالک مشخص شده است. اثرات کشندگی عصاره زالزالک با غلظت‌های مختلف از ۱۰۰ µg/ml تا ۱ mg/ml بر باکتری‌های گرم مثبت نشان داده شده است [۲۰،۱۵،۱۲،۱۱]. ما نیز در مطالعه اولیه از غلظت‌های بالا یعنی ۱ mg/ml استفاده کردیم، ولی مشخص شد که تنها غلظت‌های پایین‌تر از ۱۰۰ µg/ml اثر کشندگی بر پروماستیگوت‌های *لیشمانیا ماژور* داشتند. اسدی و همکاران اثر عصاره هیدروالکلی چای کوهی و برگ ازگیل را بر روی پروماستیگوت لیشمانیا ماژور در شرایط برون‌تنی بررسی کرده‌اند و کشندگی عصاره این گیاهان را در پروماستیگوت‌های لیشمانیا گزارش کرده‌اند [۲۱]. هم‌چنین شریعتی‌فر و همکاران اثربخشی عصاره ازگیل بر لیشمانیازیس جلدی در موش سوری را گزارش کرده‌اند [۲۲]. در یک مطالعه دیگر اثر ضدلیشمانیایی عصاره گل گاوزبان و اسپند هم در پروماستیگوت و هم در آماسیتگوت گزارش شده است [۲۳].

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که اگرچه عصاره میوه زالزالک اثر کشندگی چندانی بر پروماستیگوت ندارد، ولی تاحدودی مانع از تکثیر آماستیگوت در داخل ماکروفاژ می‌شود.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر در قالب پایان‌نامه دانشجویی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد می‌باشد. بدین‌وسیله، نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زابل اعلام می‌دارند.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]

References:

[1] Singh N, Kumar M, Singh RK. Leishmaniasis: current status of available drugs and new potential drug targets. ***Asian Pac J Trop Med*** 2012; 5(6): 485-97.

[2] Hepburn NC. Cutaneous leishmaniasis. ***Clin Exp Dermatol*** 2000; 25(5): 363-70.

[3] Postigo JA. Leishmaniasis in the World Health Organization Eastern Mediterranean Region. ***Int J Antimicrob Agents*** 2010; 36 Suppl 1: 62-5.

[4] Bermarn JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic and chemotherapeutic developments in the last 10 years. ***Clin Infect Dis*** 1997; 24(4): 684–703.

[5] Athari A, Jalallu N. Epidemiological survey of cutaneous leishmaniasis in Iran 2001-2005. ***Sci J Isfahan Univ Med Sci*** 2006; 24(82): 8–13. [in Persian]

[6] Hewaldt BL. Leishmaniasis. ***Lancet*** 1999; 354(9185): 1191–9.

[7] Moskowitz PF, Kurban AK. Treatment of cutaneous leishmaniasis: retrospectives and advances for the 21st century. ***Clin Dermatol*** 1999; 17(3): 305–15.

[8] Santos DO, Coutinho CE, Madeira MF, Bottino CG, Vieira RT, Nascimento SB, et al. Leishmaniasis treatment-a challenge that remains: a review. ***Parasitol Res*** 2008; 103(1): 1-10.

[9] Saldanha AC, Romero GA, Merchan-Hamann E, Magalhães AV, Macedo Vde O. A comparative study between sodium stibogluconate BP 88R and meglumine antimoniate in the treatment of cutaneous leishmaniasis. I. The efficacy and safety. ***Rev Soc Bras Med Trop*** 1999; 32(4): 383-7.

[10] Kobets T, Grekov I, Lipoldova M. Leishmaniasis: prevention, parasite detection and treatment. ***Curr Med Chem*** 2012; 19(10): 1443-74.

[11] Benmalek Y, Yahia OA, Belkebir B, Fardeau ML. Anti-microbial and anti-oxidant activities of *Illicium verum, Crataegus oxyacantha* ssp *monogyna* and *Allium cepa* red and white varieties. ***Bioengineered*** 2013; 4(4): 244–8.

[12] Djeddi S, Boutaleb H. Evaluation of antioxidative and antibacterial potentials of Crataegus monogyna Jacq. from Mahouna mountain (Algeria). ***J Advanced Sci Applied Engineering*** 2014; 1(1): 60-3.

[13] Kao ES, Wang CJ, Lin WL, Yin YF, Wang CP, Tseng TH. Anti-inflammatory potential of flavonoid contents from dried fruit of crataegus pinnatifida in vitro and in vivo. ***J Agric Food Chem*** 2005; 53(2): 430-36.

[14] Shahat AA, Cos P, De Bruyne T, Apers S, Hammouda FM, Ismail SI, , et al. Antiviral and antioxidant activity of flavonoids and proanthocyanidins from Crataegus sinaica. ***Planta Med*** 2002; 68(6): 539-41.

[15] Kostic DA, Velickovic JM, Mitic SS, Mitic MN, Randelovic SS. Phenolic Content, and Antioxidant and Antimicrobia Activities of Crataegus Oxyacantha *L (Rosaceae)* Fruit Extract from Southeast Serbia. ***Trop J Pharm Res*** 2012; 11(1): 117-24.

[16] Ignat I, Radu DG, Volf I, Pag AI, Popa VI. Antioxidant and antibacterial activities of some natural polyphenols. ***Cell Chem Technol*** 2013; 47 (5-6): 387-99.

[17] Schüssler M, Hölzl J, Fricke U. Myocardial effects of flavonoids from Crataegus species. ***Arzneimittelforschung*** 1995; 45(8): 842-45.

[18] Maroufi Y, Ghaffarifar F, Dalimi A, Sharifi Z, Hasan Z. A study on the cytotoxic effect of cantharidin on Leishmania majorpromastigote and amastigote survival in vitro. ***Feyz*** 2012; 16(5): 406-13. [in Persian]

[19] Maroufi Y, Ghaffarifar F, Dalimi A, Sharifi Z, Hassan Z. Cantharidin-induced apoptosis in Leishmania major promastigotes and macrophages infected by Leishmania major amastigotes in vitro. ***J Mazandaran Univ Med Sci*** 2012; 22(89): 32-40. [in Persian]

[20] Salmanian S, Sadeghi AR, Alami M, Ghorbani M. Phenolic Content, Antiradical, Antioxidant, and Antibacterial Properties of Hawthorn (*Crataegus elbursensis*) Seed and Pulp Extract. ***J Agr Sci Tech*** 2014; 16(2): 343-54.

[21] Asadi M, Bahrami S, Ansari Samani R, Pakniat N. Effect of hydroalcoholic extracts of Stachys lavandulifolia Vahl and Mespilus germanica leaves on Leishmania major. ***J Med Hormozgan*** 2012 15(4): 279-84. [in Persian]

[22] Shariatifar N, Rahimnia R, Jamshidi AM, Pirali Hamedani M, Shoeibi Sh. Effect of Ethanolic Extract of Mespilus germanica on Cutaneous Leishmaniasis in BALB/c Mice***. J Med Plans*** 2010; 10(39): 76-81.

[23] Yousefi R, Ghaffarifar F, Dalimi A. The Effect of Alkanna tincturia and Peganum harmala Extracts on Leishmania major (MRHO/IR/75/ER) in vitro*.* ***Iran J Parasitol*** 2009; 4(1): 40-7.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-14]