

بررسی تاثیر اسانس گیاه درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد بر تریکوموناس واژینالیس

محمد آزادبخت^{۱*}، هاجر ضیایی^۲، فاطمه عبداللهی^۳، بیژن شعبانخانی^۴

- ۱- دانشیار فارماکونوزی، دانشکده داروسازی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
 ۲- مربی انگل شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
 ۳- مربی مامایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
 ۴- مربی آمار، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
 *آدرس مکاتبه: ساری، دانشکده داروسازی، صندوق پستی: ۸۶۱-۴۸۱۷۵
 تلفن: ۳۲۵۹۸۰۲-۳۲۵۹۸۰۲ (۰۱۵۱)، نمابر: ۳۲۵۴۰۶۰ (۰۱۵۱)
 پست الکترونیک: azadbakhtm@yahoo.com

چکیده

۲۵ درصد کل داروهای موجود در آمریکا مشتق از گیاهان دارویی است. با توجه به عوارض و هزینه کمتر و سازگاری بیشتر بیماران با این داروها و به لحاظ عوارض شناخته شده داروهای سنتتیک و افزایش شیوع بیماری‌های STDs در دهه‌های اخیر این تحقیق با هدف تعیین تاثیر اسانس گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) و مورد (*Myrtus communis* L.) بر روی تریکوموناس واژینالیس به صورت *In vitro* انجام گرفته است. این تحقیق یک مطالعه تجربی به روش دو سویه کور در دو گروه کنترل و شاهد انجام گرفته است. عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون و تهیه اسانس به روش تقطیر (Hydrodistillation) انجام شد و پس از تهیه ترشحات واژن و تایید انگل به روش مستقیم، انگل در لوله‌های پنج‌تایی حاوی محیط کشت درسه (Dorse) (تهیه شده از تخم مرغ)، مترونیدازول، دی متیل سولفوکساید (DMSO)، اسانس‌های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۴، ۰/۰۰۰۲ و ۰/۰۰۰۱ گیاهان درمنه کوهی، آویشن شیرازی، مورد در DMSO قرار داده شد تا تاثیر آنها در زمان‌های مختلف (بدو کشت تا ۷۲ ساعت) بر توقف رشد و از بین رفتن انگل بررسی شود. نتایج نشان داد که انگل تریکوموناس تا ۷۲ ساعت در محیط کشت در سه زنده مانده و در مجاورت داروی مترونیدازول یک ساعت بعد و در محیط DMSO بعد از ۶ ساعت از بین رفت. همچنین نتایج نشان داد زمان تاثیر اسانس درمنه کوهی در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ بدو کشت و در غلظت‌های ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۱ به ترتیب یک ساعت و دو ساعت بعد از کشت می‌باشد. زمان تاثیر اسانس آویشن شیرازی در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۴ در بدو کشت و در غلظت‌های ۰/۰۰۰۲ و ۰/۰۰۰۱ تا یک ساعت بعد از کشت می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد زمان تاثیر اسانس مورد در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۴، بدو کشت و در غلظت‌های ۰/۰۰۰۲ و ۰/۰۰۰۱ به ترتیب دو ساعت و چهار ساعت بعد از کشت می‌باشد. با توجه به تاثیر قابل قبول اسانس گیاهان فوق بر تریکوموناس واژینالیس پیشنهاد می‌شود تاثیر مواد موثر گیاهان فوق به صورت جداگانه یا ترکیبی از سه گیاه به صورت *In-vivo* بر روی انگل مورد بررسی قرار گیرد.
 گل‌واژگان: درمنه کوهی، مورد، آویشن شیرازی، تریکوموناس، اسانس

مقدمه

تاریخچه مصرف گیاهان در امور پزشکی قدمت طولانی دارد [۱] به طوری که ۲۵ درصد کل داروهای موجود در امریکا مشتق از گیاهان دارویی است [۲،۳،۴،۵]. گیاه درمانی به دلیل عوارض و هزینه کمتر و سازگاری بیشتر بیماران به این داروها در دهه‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است [۶]. بر خلاف داروهای سنتتیک که مواد خام آنها از مواد شیمیایی به دست می‌آید گیاهان دارویی به طور طبیعی استخراج شده و سبب طبیعی شدن عملکرد فیزیولوژیکی و اصلاح علت اختلال می‌شود [۷،۸]. کشت گیاهان دارویی می‌تواند به عنوان منبع درآمد برای خانواده‌های فقیر باشد و نیز در کشورهای در حال توسعه به صورت بومی در دسترس بوده و مقاومت نسبت به گیاهان دارویی کمتر مشاهده می‌شود و در جریان تولید و مصرف این داروها، آلوده‌کننده‌های کمتری وارد محیط زیست می‌شوند [۱].

تحقیقات گزارش می‌دهد سالانه یک‌سوم مردم جهان به بیماری‌های منتقله جنسی (STDs) مبتلا می‌شوند [۸] و شایع‌ترین عفونت در این میان تریکومونازیس می‌باشد که میزان شیوع آن ۱۸۰ میلیون زن در سال می‌باشد [۹]. تعداد زیادی از داروها مانند مترونیدازول برای درمان بیماری‌ها STDs در دسترس است اما مقاومت به این‌گونه داروها و عوارض سمی آن درمان با این داروها را با مشکل مواجه کرده است [۱۰،۱۱].

در دهه‌های اخیر تلاش‌های بیشماری جهت انتخاب، استخراج و چگونگی مکانیسم اثر ترکیبات گیاهی بر پاتورژن‌های STDs انجام شده است. تاثیر درمان چندین گیاه بر روی تریکومونازیس ثابت شده است.

Pena از اسانس ۰/۴ *Melaleuca alternifolia* محلول در یک لیتر آب به صورت دوش واژینال جهت

درمان تریکوموناس در بیماران استفاده می‌کرده است [۱۲].

Murray و Pizzorno تحقیقات مشابهی جهت تاثیر عصاره آبی ریشه، ریزوم و جوانه گیاهان *Echinacea* و *Angelica* بر روی انگل تریکوموناس انجام داده‌اند و تحقیق مشابهی توسط همین محققین بر روی برگ و پوسته گیاه *Neuyolaena lobata* و *Scutia buaifolia* به صورت *in vitro* انجام پذیرفته است. نتایج نشان داد که این داروها سبب توقف رشد تریکوموناس می‌گردند [۶] و نیز jankov و همکاران گزارش نمودند اسانس گیاهان *Lavandula angustifolia*، *Mentha piperita* تریکوموناسایدیهای قوی می‌باشند [۱۳]. گیاهان درمانه کوهی و آویشن شیرازی و مورد در کتاب‌های طب سنتی ایران به عنوان داروهای ضدانگلی معرفی شده‌اند [۱۴]. درمانه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.) گیاهی است علفی که دارای خواص قابض، ضدعفونی‌کننده، ضد میکروب و انگل و ضد مسمومیت و... داشته و پراکندگی وسیعی در شمال ایران دارد.

آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) از تیره نعنائیان است که در ایران می‌روید و دارای اثرات ضد درد، ضد التهاب، آنتی‌اکسیدان، ضد عفونی‌کننده، ضد انگل و ... می‌باشد [۱۵،۱۶]. مورد (*Myrtus communis* L.) از خانواده میرتاسه (*Myrtaceae*) است که در نقاط خشک و استپی ایران می‌روید و دارای خواص ضد عفونی‌کننده و قابض، ضد التهاب، ضد درد، ضد ویروس و ضد باکتری می‌باشد [۲،۵،۱۶،۱۷،۱۸].

با توجه به اثرات دارویی این گیاهان و عنایت به اینکه گیاهان مذکور جزء فلور گیاهی ایران هستند که تاکنون اثرات ضد تریکومونایی آنان مورد ارزیابی قرار نگرفته است و با توجه به شیوع بالای عفونت تریکومونایی و نیاز به کشف داروی موثرتر و با

(کنترل منفی) و اسانس با غلظت ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۴، ۰/۰۰۰۲ و ۰/۰۰۰۱ درصد گیاهان درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد در حلال DMSO و تریکوموناس نیز آماده گردید و داخل اینکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نمونه‌های فوق در بدو کشت و در فواصل زمانی تا ۱۲ ساعت هر ساعت و سپس ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد به صورت کاملاً ناآگاهانه مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

پنج مورد ترشحات تریکومونایی از ۱۰۰ بیمار مراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی درمانی شهرستان ساری با علت واژینیت‌های مختلف جدا و به روش مستقیم بررسی شده و انگل تریکوموناس در محیط کشت تهیه شده از تخم‌مرغ (درسه) تا ۷۲ ساعت زنده ماند و در مجاورت مترونیدازول ۱ ساعت بعد و در محیط DMSO بعد از ۶ ساعت از بین رفت. همچنین تاثیر اسانس‌های گیاهان درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد بر تریکوموناس در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف در جداول ۳-۱ نشان داده شده و با هم مقایسه شده‌اند.

عوارض کمتر این تحقیق به بررسی تاثیر اسانس گیاهان درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد بر روی انگل تریکومونای جدا شده از مبتلایان به واژینیت تریکومونایی در شرایط *in vitro* پرداخته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی و پس از جمع‌آوری گیاهان درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.) از ساری و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) و مورد (*Myrtus communis* L.) از فیروزآباد شیراز و تایید نام علمی و تهیه نمونه هرباریومی، برگ‌های آن جدا، خشک و پودر گردید و در ظروف تیره نگهداری شد. اسانس آن به روش تقطیر (Hydrodistillation) آماده گردید. سپس ترشحات واژینال زنان دارای علائم واژینیت، مراجعه‌کننده به مراکز درمانی تهیه و به روش مستقیم مشاهده و آلودگی انگل تایید شد. انگل تریکوموناس در محیط درسه (تهیه شده از تخم مرغ) کشت داده شد، آنگاه لوله‌های پنج‌تایی حاوی محیط کشت و تریکوموناس به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و لوله‌های پنج‌تایی حاوی مترونیدازول، تریکوموناس (کنترل مثبت) و DMSO تریکوموناس

جدول شماره ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس درمنه کوهی در DMSO روی تریکوموناس واژینالیس در زمان‌های مختلف

غلظت (درصد)	زمان	بدو کشت	پس از ۱ ساعت	پس از ۲ ساعت	پس از ۴ ساعت	پس از ۶ ساعت	پس از ۷۲ ساعت
۰/۱		+	+	+	+	+	+
۰/۰۱		+	+	+	+	+	+
۰/۰۰۱		+	+	+	+	+	+
۰/۰۰۰۴		-	-	+	+	+	+
۰/۰۰۰۲		-	-	+	+	+	+
۰/۰۰۰۱		-	-	+	+	+	+
	در مجاورت مترونیدازول	-	-	+	+	+	+
	انگل در محیط DMSO	-	-	-	-	+	+
	انگل در محیط کشت درسه	-	-	-	-	-	+

(+) = از بین رفتن انگل و (-) = زنده ماندن انگل

جدول شماره ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی در DMSO روی تریکوموناس واژینالیس در زمان‌های مختلف

پس از ۷۲ ساعت	پس از ۶ ساعت	پس از ۴ ساعت	پس از ۲ ساعت	پس از ۱ ساعت	بدو کشت	زمان غلظت (درصد)
+	+	+	+	+	+	۰/۱
+	+	+	+	+	+	۰/۰۱
+	+	+	+	+	+	۰/۰۰۱
+	+	+	+	+	+	۰/۰۰۰۴
+	+	+	+	+	-	۰/۰۰۰۲
+	+	+	+	+	-	۰/۰۰۰۱
+	+	+	+	+	-	در مجاورت مترونیدازول
+	+	-	-	-	-	انگل در محیط DMSO
+	-	-	-	-	-	انگل در محیط کشت درسه

(+) = از بین رفتن انگل و (-) = زنده ماندن انگل

جدول شماره ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس مورد در DMSO روی تریکوموناس واژینالیس در زمان‌های مختلف

پس از ۷۲ ساعت	پس از ۶ ساعت	پس از ۴ ساعت	پس از ۲ ساعت	پس از ۱ ساعت	بدو کشت	زمان غلظت (درصد)
+	+	+	+	+	+	۰/۱
+	+	+	+	+	+	۰/۰۱
+	+	+	+	+	+	۰/۰۰۱
+	+	+	+	+	+	۰/۰۰۰۴
+	+	+	+	-	-	۰/۰۰۰۲
+	+	+	-	-	-	۰/۰۰۰۱
+	+	+	+	+	-	در مجاورت مترونیدازول
+	+	-	-	-	-	انگل در محیط DMSO
+	-	-	-	-	-	انگل در محیط کشت درسه

(+) = از بین رفتن انگل و (-) = زنده ماندن انگل

بحث

این مطالعه قدرت ضدانگلی اسانس‌های درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد را نسبت به داروی مترونیدازول بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس بررسی کرده است. نتایج نشان داد که میزان تاثیر سه گیاه بر روی انگل با اندکی تفاوت نسبت به هم با داروی مترونیدازول قابل ملاحظه بوده است که این اختلاف تاثیر اسانس‌های متفاوت بر روی انگل نشان‌دهنده ترکیبات شیمیایی موثر متفاوت و

خاص هر گیاه نسبت به یکدیگر است. گذشت زمان تاثیر قابل‌ملاحظه‌ای روی قدرت ضدانگلی اسانس‌های نداشت و می‌توان ادعا نمود که در صورت نگهداری اسانس‌های فوق در رقت‌های پایین‌تر می‌توانند مدت مدیدی خاصیت ضدانگلی خود را حفظ کنند.

مطالعه تاثیر ضدانگلی اسانس‌های گیاهان فوق و زمان تاثیرگذاری آنان در رقت‌های به‌دست آمده نشان داد که زمان تاثیر اسانس‌های مورد و آویشن



تریکوموناساید های قوی می‌باشند [۱۳]. اما نتایج تازا و همکاران جهت مقایسه اثر ضدتریکوموناسی گوسیپول و مترونیدازول در شرایط *In vitro* نشان داد که مترونیدازول ۱۰ برابر قوی‌تر از گوسیپول با غلظت معادل روی تریکوموناس اثر دارد [۲۰]. تحقیقات بر روی گیاهان مختلف منجر به تولید داروهای مختلف ضدتریکومونایی در جهان شده است. PH5 مشق از چند گیاه از جمله *Embllica officinalis*, *T. chebula*, *Terminalia belerica*, *Rosa centifolia*, و *Elletaria cardamomum* *Vitex* و *Boerhaevia diffusa*, *Curcuma longa* *negundo* می‌باشد که به صورت ژل واژینال در سوپرمارکت‌های هندوستان به فروش می‌رسد [۲۱]. قرص، سوسپانسیون و کرم چند گیاهی *Praneem* به عنوان ضدباکتری، قارچ، انگل و ویروس در هندوستان، مصر و ایالت دومینیکن استفاده می‌شود [۲۲].

با توجه به موثر بودن داروهای گیاهی فوق و نیز تاثیر مثبت اسانس درمنه کوهی و آویشن شیرازی و مورد و عنایت به اینکه این گیاهان جزء فلورگیاهی ایران می‌باشد، پیشنهاد می‌گردد که اثر ضد تریکومونایی ترکیبی یا جداگانه گیاهان به صورت *In vitro* مورد بررسی قرار گیرد.

شیرازی و درمنه کوهی در بدو کشت به ترتیب در رقت‌های ۰/۰۰۴، ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۱ درصد و در کمترین رقت (۰/۰۰۰۱) تاثیر اسانس گیاهان آویشن شیرازی، درمنه کوهی و مورد به ترتیب بعد از یک ساعت، دو ساعت و چهار ساعت بعد از کشت بوده است. با توجه به نتایج بالا اسانس هر سه گیاه بر تریکوموناس موثرتر از دارو بوده است. گیاهان همیشه از منابع عمومی داروها چه به صورت سنتی و یا فرآورده‌های خالص بوده‌اند بنابراین می‌توانند جانشین بعضی از فرآورده‌های دارویی گردند در دهه‌های اخیر تلاش‌های بیشماری جهت انتخاب، استخراج و چگونگی مکانیسم اثر ترکیبات گیاهی بر علیه پاتوژن‌های STDs انجام و تاثیر درمان چندین گیاه بر روی تریکومونیاژیس ثابت شده است. سرانو و همکاران اثر عصاره‌های گیاهان امریکا را به صورت *in vitro* روی تریکوموناس بررسی نمودند. در این بررسی عصاره گیاهان *Micania cordifolia* (از خانواده Asteraceae) و *Scutia-buafulia* (از خانواده Asteraceae) *Lobalia neurolarea* (از خانواده Rhamnaceae) بیشترین اثر را روی تریکوموناس واژینالیس داشتند [۱۹،۲۰]. Pena از اسانس ۴ درصد *Melaleuca alternifolia* محلول در یک لیتر آب به صورت دوش واژینال جهت درمان تریکوموناس استفاده می‌کرده است [۱۲]. Jankov و همکاران گزارش نمودند اسانس گیاهان *Mentha piperita* و *Lavandula angustifolia*

منابع

1. Kavita Vermani, Sanjay Garg. Herbal medicines for sexually transmitted diseases and AIDS. *J. Ethnopharmacol.* 2002; 80: 49-66.
2. میرحیدر حسین. معارف گیاهی. چاپ دوم، نشر فرهنگ اسلامی، ۱۳۷۴، صفحات: ۳۱۰-۳۱۵
3. قرینه معصومه. بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان سنتی. دانشکده داروسازی شهید بهشتی. پایان‌نامه ۱۳۹۰-۷۳-۱۳۷۲.
4. Grag SC and Denger SL. Antifungal activity of the essential oil of *Myrtus Communis* var, *microphylla. herba hungarica*. 1988; 27: 123-24.
5. Dorsley, Kindersley. Encyclopedia of medicinal plants. 1st ed. London. 1996; pp: 23-60.

6. Murray MT, Pizzorno JE. Textbook of natural medicine. Churchill livingStone. London. 1999.
7. Samanta MK, Mukherjee PK, Prasad MK, Suresh. B. Development of natural products. *eastern pharmacist*. 2000; (August): 23-7.
8. Heather W, Suemc A. Sexual health foundations for practice. 2000; p: 4.
9. صائبی اسماعیل. بیماری‌های انگلی در ایران. ۱۳۶۱، جلد اول، صفحات ۲۵-۱۰۹.
10. Muller M. Three metronidazole – resistant of trichomonas vaginalis from the United States. *Am. J. Obstet gynecol*. 1980; 138: 808-12.
11. Laurence DR, Nett BE, Brown MJ. *Clinical pharmacology*. 8th ed. 1997, pp: 225-27.
12. Pena EF. *Melaleuca alternifolia* oil-its use for trichomonal vaginalis and other vaginal infections. *Obstetrics and Gynecology*. 1992; 19: 793-95.
13. Jankov N, Boltova E, Topalov V. Action of some essential oils on trichomonas vaginalis. *Folia medica*. 1988; 10: 308.
۱۴. افشار سیستانی ایرج. پزشکی سنتی مردم ایران جلد اول و دوم. صفحات ۱۷۰-۱۲۰.
15. Ziyyat AL. Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental morocco. *J. Ethnopharmacol*. 1997; 58: 45-54.
۱۶. صالح‌نیا علی نظر. استخراج و شناسایی مواد موثر (مورد سبز) و بررسی آن علیه میکروب‌های بیماری‌زا. دانشکده داروسازی تهران. پایان‌نامه شماره ۲۶۷۶ سال ۶۹-۷۸.
17. Hossinzadeh H, Ramezani M. Antinociceptive, anti- inflammatory and acute toxicity effects of Zataria multiflora boiss extracts in mice and rats. *J. Ethnopharmacol*. 2000; 73: 379-86.
۱۸. عالی شهناز. مقایسه اثر عصاره متانولی برگ مورد و کلوتریمازول بر کاندیدا آلبیکنس جدا شده از مبتلایان به واژینیت کاندیدایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان. ۱۳۷۷، دوره پنجم، شماره ۲، صفحات ۷۸-۸۳.
19. Udvari BS, Maryadele O. *Merch research laboratories the Merch index*. 2th ed. USA. 1996, p: 119.
20. Muelas S. Invitro screening of American plant extracts on trypanosoma cruzi and trichomonas vaginalis. *J. Ethnopharmacol*. 2000; 71: 101-7.
21. Mitra SK, Sunitha A, kumar V, Pooranesan R, Satyarup S. Multicentric trial on the effect of V- Gel (PDP-959gel) in vaginitis. *The Indian practitioner*. 1997; 50: 951.
22. Thompson KD. Antiviral activity of viracea against acyclovir susceptible and resistant strains of herpes simplex virus. *Antiviral research*. 1998; 39: 55-61.

