

تأثیر اسانس و عصاره میانولی گیاه مورد (Myrtus communis) بر تریکوموناس

واژینالیس

دکتر محمد آزاد بخت - هاجر ضیائی - فاطمه عبدالله - بیژن شعبانخانی*

*دانشیار رشته فارماکوگنوزی - دانشکده دارو سازی - دانشگاه علوم پزشکی مازندران

**مربي گروه انگل شناسی - دانشگاه علوم پزشکی مازندران

***مربي گروه بهداشت - دانشکده بهداشت - دانشگاه علوم پزشکی مازندران

****مربي گروه آمار حیاتی - دانشکده بهداشت - دانشگاه علوم پزشکی مازندران

چکیده

مقدمه: با توجه به شیوع بالای واژینیت تریکومونایی و عوارض شناخته شده مترونیدازول، گیاه درمانی جهت کاهش عوارض دارویی در دهه‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است.

هدف: تعیین تأثیر گیاه مورد بر درمان عفونت تریکومونایی واژن در محیط in-vitro است.

مواد و روش‌ها: این تحقیق یک مطالعه تجربی دو سویه ناآگاه در دو گروه آزمون و شاهد است. عصاره گیری به روش پرکولاسیون انجام و اسانس به روش تقطیر (Hydrodistillation) (تئیه شد پس از نمونه‌گیری از ترشحات واژن و تأیید انگل به روش مستقیم، انگل در لوله‌های پنج تایی حاوی محیط کشت درسه، مترونیدازول، دی‌متیل سولفوکساید (DMSO)، عصاره‌های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۲، ۰/۰۰۰۴ و ۰/۰۰۰۱ گیاه مورد در قرارداده شد تا تأثیر آنها در زمانهای مختلف متفاوت (از بدو کشت تا ۷۲ ساعت) بر توقف رشد و از بین رفتن انگل بررسی شود.

نتایج: انگل تریکومونا تا ۷۲ ساعت در محیط کشت درسه (تئیه شده از تخمر مرغ) زنده ماند و در مجاورت داروی مترونیدازول یک ساعت بعد و در محیط DMSO بعد از ۶ ساعت از بین رفت. همچنین نتایج نشان داد زمان تأثیر عصاره میانولی برگ مورد در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ بدو کشت و زمان تأثیر اسانس در غلظت‌های ۰/۰۰۰۴ و ۰/۰۰۰۱ نیز بدو کشت و در غلظت‌های ۰/۰۰۰۲ و ۰/۰۰۰۰ به ترتیب دو ساعت و چهار ساعت بعد می‌باشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثر قابل توجه اسانس و عصاره گیاه مورد بر تریکومونا در محیط in-vitro، تأثیر مواد موثر گیاه فوق به صورت in-vivo در روی انگل مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت تأثیر، به شکل دارو از آن استفاده گردد.

کلید واژه‌ها: التهاب مهبل / التهاب مهبلی ناشی از تریکوموناس / تریکوموناس مهبلی / گیاهان شفابخش

مقدمه

گرفته است، به طوری که ۲۵٪ کل داروهای موجود در آمریکا مشتق از گیاهان دارویی است (۲، ۳، ۱۲ و ۱۳). یکی از گیاهان دارویی که از قدیم الایام مورد شناسایی ایرانیان بوده و از آن به عنوان ماده ضد عفونی کننده، قابض، ضد التهاب، ضد درد، ضد بیروس و ضد باکتری استفاده شده، گیاه مورد بوده است (۱۳ و ۱۴). گیاه مورد، با نام علمی Myrtaceae communis از خانواده میرتاسه (Myrtaceae)، در ختیجه کوچکی با ارتفاع ۱-۳ متر است که در نقاط خشک و استپی ایران می‌روید و داروهای متعددی از

واژینیت تریکومونایی از متداول‌ترین تشخیص‌های زینکولوژیست به طوری که ۲۰-۲۵٪ علت واژینیت‌ها تریکوموناس واژینالیس (Trichomonas vaginalis) است، که عوارض شناخته شده و متعددی در هر دو جنس دارد (۱). در سالهای اخیر موثرترین کشنده‌ی تریکومونا، مترونیدازول بوده، ولی گزارش‌های متعدد از اکثر مناطق دنیا دال بر شیوع مقاومت و عوارض آن، بخصوص در سه ماهه اول بارداری، وجود دارد (۱۰ و ۱۱). در دهه‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی مورد توجه قرار

(Hydrodistilation) آماده گردید. سپس ترشحات واژینال زنان دارای علائم واژینیت، مراجعه کننده به مرکز درمانی، به روش مستقیم مشاهده شد و پس از تأثید، انگل تریکوموناس در محیط درسه (تهیه شده از تخمرغ) کشت داده شد. آنگاه لو لهای پنج تایی حاوی محیط کشت و T.vaginalis به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و لوله‌های پنج تایی حاوی مترونیدازول و T.vaginalis و DMSO و عصاره خشک با غلظت ۱٪ در آب و T.vaginalis و اسانس‌های با غلظت ۰.۱٪، ۰.۰۱٪، ۰.۰۰۱٪، ۰.۰۰۰۲٪، ۰.۰۰۰۴٪ و ۰.۰۰۰۱٪ در حلال DMSO و T.vaginalis نیز آماده گردید و داخل اینکوباتور C³⁷° قرار داده شد.

نمونه‌های فوق در بدو کشت و در فواصل زمانی تا ۱۲ ساعت، هر ساعت و سپس ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد به صورت کاملاً ناآگاهانه مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

نتایج نشان داد که انگل T.vaginalis در محیط کشت درسه تا ۷۲ ساعت زنده مانده، در مجاورت مترونیدازول ۱ ساعت بعد در محیط DMSO بعد از ۶ ساعت از بین رفت همچنین نتایج تأثیر اسانس و عصاره متابولی برگ مورد بر تریکومونادر زمانها و غلظتها مختلف در جداول شماره ۱ و ۲ نشان داده شده و با مترونیدازول مقایسه شده است.

اسانس و عصاره آن تهیه می‌شود(۲). استخراج مواد تاننی (Tannin) و مطالعات انجام گرفته بر روی گیاه منجر به جدا شدن مواد کریستالی از برگ‌های این گیاه شده که در آزمایشگاه دارای خاصیت باکتریو استاتیکی و در غلظت بالاتر دارای اثر میکروب کش است. این خاصیت به مواد فنلی و پلی فنلی آن مربوط است (۳، ۷، ۸، ۱۴، ۱۵).

نتایج تحقیقات دیگر نیز بیانگر خاصیت ضد قارچی گیاه در شرایط in-vitro بوده است.(۳).

با توجه به اثرات بارز درمانی اسانس و عصاره مورد و با این که گیاه مورد که جزء فلور گیاهی ایران است تاکنون اثرات آن روی این انگل ارزیابی نشده است و با در نظر گرفتن موارد مزمن و عودکننده تریکومونیازیس و تلاش جهت یافتن داروی موثرتر و با عوارض کمتر، این تحقیق جهت تعیین تاثیر اسانس و عصاره متابولی برگ مورد بر (Trichomonas vaginalis) TV (جداشده از مبتلایان به واژینیت تریکوموناس در شرایط in-vitro انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی پس از جمع آوری گیاه مورد از منطقه فیروز آباد شیراز و تأثید نام علمی، تهیه هرباریوم، برگ‌های آن جدا و خشک و پودر گردید و در ظروف تیره نگهداری شد. عصاره‌گیری با حلال متابولی به روش پرکولاسیون انجام شد و اسانس آن به روش تقطیر

جدول ۱: تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس مورد در حلال DMSO بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس (T.vaginalis) در مقایسه با مترونیدازول

نمونه	زمان	در بدوزن	در بدوزن	۱ ساعت	۲ ساعت	۴ ساعت	۶ ساعت	تا ۷۲ ساعت	بعد از ۷۲ ساعت
انگل در محیط کشت									
زنده با تحرک کم و سپس مرده بدون دیواره	+	+	+	+	+	+	+		
انگل در محیط DMSO									
مرده و بدون دیواره	زنده با تحرک کم و سپس مرده بدون دیواره	+	+	+	+	+	+		
در مجاورت مترونیدازول									
مرده و بدون دیواره	مرده و بدون دیواره	زنده با تحرک کم و سپس مرده بدون دیواره	-	-	-	-	-	-	-
۰/۱ درصد									

بقیه جدول ۱

زمان	نمونه	در بد و کشت	۱ ساعت	۲ ساعت	۴ ساعت	۶ ساعت	تا ۷ ساعت	بعد از ۷۲ ساعت
۰/۰۱ در صد	مرده و بدون دیواره	-	-	-	-	-	-	-
۰/۰۱ در صد	کروی و غیرفعال و سپس مرده	-	-	-	-	-	-	-
۰/۰۰۰۴ در صد	زنده با تحرک کم و سپس مرده بدون دیواره	-	-	-	-	-	-	-
۰/۰۰۰۲ در صد	کروی و غیرفعال و سپس مرده بدون دیواره	+	-	-	-	-	-	-
۰/۰۰۰۱ در صد	زنده با تحرک کم و سپس مرده بدون دیواره	+	+	-	-	-	-	-

= فعال و متحرک

= مرده و بدون دیواره

جدول ۲: تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره مورد در حلال DMSO بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس (*T.vaginalis*) در مقایسه با مترونیدازول

زمان	نمونه	در بد و کشت	۱ ساعت	۲ ساعت	۴ ساعت	۶ ساعت	تا ۷ ساعت	بعد از ۷۲ ساعت
انگل در محیط کشت	انگل	+	+	+	+	+	+	زنده با تحرک کم و سپس مرده بدون دیواره
انگل در محیط	DMSO	+	+	+	+	+	+	مرده و بدون دیواره
در مجاورت مترونیدازول		+	-	مرده و بدون دیواره	زنده با تحرک کم و سپس مرده بدون دیواره	مرده و بدون دیواره	-	-
۰/۱ در صد		-	-	-	-	-	مرده و بدون دیواره	-
۰/۰۱ در صد		-	-	-	-	-	کروی و غیرفعال	-

= فعال و متحرک

= مرده و بدون دیواره

بحث و نتیجه‌گیری

صرف داروهای مناسب است، گیاهان نیز همیشه یکی از منابع عمومی داروها، چه به صورت traditional (ستی) و چه به شکل فرآورده‌های خالص، بوده اند. لذا همین مسئله موجب شده است که سازمان بهداشت جهانی لیست جامعی از گیاهان دارویی و عصاره‌های آنها ارائه دهد(۱۶). زیرا این قبیل گیاهان می‌توانند حتی جانشین

نتایج نشان داد که غلظت ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۰۴، ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۰۱ به ترتیب دو ساعت و ۴ ساعت بعد در محیط کشت در سه سبب از بین رفتن *T.vaginalis* شده است. با توجه به این که یکی از شرایط لازم برای توفیق در معالجه بیماریها و مراقبتها اولیه بهداشتی وجود و

باکتریایی همچون استافیلوکوکوس اورئوس، پسودوموناس آئروژینوزا ثابت شده است.

در تحقیق ما اثر عصاره و اسانس برگ مورد روی تریکوموناس واژینالیس در *In vitro* ارزیابی شده است. نتایج نشان داد که غلظتهای ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۴ عصاره و غلظتهای ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ اسانس مورد در بدوفکش و غلظتهای ۰/۰۰۰۲ و ۰/۰۰۰۱ اسانس مورد برتریب بعد از ۲ ساعت و ۴ ساعت در محیط کشت درسه سبب از بین رفتن T.V شده است.

تأثیر هر عامل در درمان شیمیایی وابسته به میزان معالجه مطلوب است و داروی مطلوب نیز باید از رشد انگل ممانعت کند و یا آنرا بکشد، اما تأثیر سمی اندک و یا بدون تأثیر سمی بر روی میزان باشد. گرچه تعدادی از محصولات طبیعی قادر به ممانعت از رشد یک یا چند گونه تک یاخته هستند اما تعداد خیلی کمی بطور اختصاصی انگل را از بین می برنند و انتخاب داروی مناسب مربوط به تفاوت‌های بیوشیمیایی بین انگل و میزان است. یک دارو می تواند بر روی یک هدف بیوشیمی در انگل عمل کند که یا در میزان وجود ندارد و یا بطور قابل توجهی از آن هدف در میزان متفاوت است بطور مثال مترونیدازول یک داروی ضد آمیب، ژیاردیا و تریکومونا و سنتیک است که سبب شکستن زنجیره های DNA می شود. بیماران تریکومونایی گاهی به دلیل عود مجدد عفونت ناچار به دوره درمانی چند مرحله ای در طی زندگی خود هستند لذا در چنین موقعی وجود یک طرح درمانی مناسب می تواند جانشین باشد.

بعضی فرآورده های دارویی بسیار موثر و مهم گردند. امروزه دانشمندان در چین و ژاپن توجه مخصوصی نسبت به تهیه فرآورده های گیاهی مبذول داشته اند (۱۷ و ۱۸). از آنجا که منابع طبیعی گیاهان معمولاً فراوان، سالم و پایدار و استاندارد شده هستند، راه تحقیق روی گیاهان جدید باز است. بررسی گیاهان دارویی، یا به کار برد درمانی یک گیاه جدید منجر شده، و یا موجب کشف یک ماده شیمیایی موثر مشتق از آن گیاه خواهد شد، که اثرات بیولوژیکی جالب آن ایجاب می کند به عنوان یک داروی جدید معرفی و پیشنهاد گردد (۱۹).

سرانو و همکاران اثر عصاره های گیاهان آمریکا را، به صورت *In vitro*، روی تریپانوزوم کروزی و تریکوموناس واژینالیس بررسی نمودند. آنها فعالیت ضد تریکومونایی گیاهان را در کشت انگل در محیط دیاموند اندازه گیری نمودند و از شمارش میکروسکوپی انگلها، بعد از کشت دادن در حضور غلظتهای متفاوت عصاره های خام، برای تعیین میزان اثر گیاهان در مقایسه با کشت کترل، استفاده نمودند.

در این بررسی عصاره گیاهان *Micania cordifolia* (از خانواده Asteraceae)، *Scutia buafolia* (از خانواده Neurolarea lobalia (Rhamnaceae) (از خانواده Asteraceae) بیشترین اثر را روی تریکوموناس واژینالیس داشتند (۲۰).

ترزا و همکاران مقایسه اثر ضد تریکومونایی گوسیپول (*Gossipol*) را با مترونیدازول در *In vitro* بررسی نمودند. گوسیپول یک ترکیب سزکوئی ترپن پلی فنولیک است که از پنبه دانه استخراج می شود. مهمترین بررسی روی گوسیپول مربوط به اثرات اسپرم کشی آن در مردان است. آنان نشان دادند که مترونیدازول ۱۰ برابر قوی تر از گوسیپول با غلظت معادل روی تریکوموناس اثر دارد (۲۱). از گیاه مورد در طب سنتی ایران بعنوان ضد عفونی کننده استفاده می شود (۹). اثر عصاره مثانولی برگ مورد بر روی

منابع

علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین، ۱۳۷۷، سال دوم شماره ۶۰۷، صص: ۳-۹.

10. Muller M, et al. Three Metronidazole – Resistant of Trichomonas Vaginalis from the United States. Am J Obstet Gynecol 1980; 138:808-812.

11. Laurence DR, Bennett PN, Brown M J. Clinical pharmacology 6 th ed. EIBS(English Language book Society. New York Churchill Livingston, 1997: 225-7.

12. Grag SC, Denger SL. Antifungal Activity of the Essential Oil of Myrtus Communisvar. Microphyllya Herba Hungarica 1988; 27(2-3): 123-124.

13. Hines T, Hill T. Encyclopedia of Medicinal plants. 15 th ed. London: Dorsley Kinderseley, 1996-2360.

14. Twaij A A, et al. pharmacological Phytochemical and Antiphotochemical Studies of Myrtus Communis Patrati: Cardiovascular and Phytochemical tuiies. J Bio Sci Res 1988;19: 29-38.

15. leblekeh, et al. Oral Toxicity – of On Essential Oil from Njurtie and Adaptive Liver Stimulation. Toxicology 1979; 12: 33 β - α 2.

16. WHO(1092): WHO/ PAHO Informal Consultation on Intestinal Protozoal Infections: Geneva: WHO/CDS/IPI, 1992:20.

17. Ma Teresa Gonzalez Garza, et al. In-Vitro Anti-Trichomonad Effectiveness of a Gossy-Pol Metronidazol Blend - International Journal of Antimicrobial Agents 1997; 9: 57-60.

18. Trease Evan S. Pharmacognosy. 19 th ed. London: WB Saunders, 1996: 50-55, 89,477-493.

19. Huang KC. The Pharmacognosy of Chinese Herbs. 2 nd ed. New York: CRC, 1999: 407-408.

20. Budvari S, Maryadele O. The Merck Index. 2nd ed. Washington: Merck, 1996- 119.

21. Muelas – Serrano, et al. In- Vitro Screening of American Plant Extracts on Trypanosoma Cruzi and Trichomonas Vaginalis J of Ethnopharmacology 2000; 71: 101-7.

۱- صائبی، اسماعیل: بیماریهای انگلی در ایران. ج. اول. تهران: چهر، ۱۳۶۱ ، صص: ۱۰۹-۱۲۵

۲- میر حیدر، حسین: معارف گیاهی. تهران: نشر فرهنگ اسلامی ، ۱۳۷۴، صص: ۳۱۰-۱۵

۳- قرینه، معصومه: بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان سنتی. پایان نامه چاپ نشده دکترای داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، ۱۳۷۳

۴- صالح نیا، علی نظر: استخراج و شناسایی مواد مؤثره (مورد سبز) و بررسی آن علیه میکروباهای بیماریزا. پایان نامه چاپ نشده دکترای داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۶۹

۵- نوروزی، بهروز: بررسی بالینی گیاه مورد در بیماری زونا. پایان نامه چاپ نشده دکترای داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۴

۶- زرگری، علی: گیاهان داروئی. ج. دوم. تهران: دانشگاه تهران: ۱۳۷۴، صص: ۲۰۱-۶

۷- نبی نژاد، عبدالرضا: بررسی تأثیر ضد میکروبی برخی از انسانهای گیاهی بر روی لیستر یامونوستیوتوزن. پایان نامه چاپ نشده دکترای دامپزشکی دانشگاه شیراز، ۱۳۷۵

۸- ناصریان جهرمی، رضا: بررسی اثر ضد میکروبی اسانس و عصاره گیاه مورد. پایان نامه چاپ نشده دکترای داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ۱۳۷۶

۹- عظیمی حسینی، صدیقه: بررسی تأثیر داروی گیاهی مورد در درمان ضایعات آفتی مخاط دهان. مجله دانشگاه

Effect of Methanolic Essence and Extract of Myrtus Communis on Trichomonas Vaginalis

Azadbakht M, Ziaie H, Abdollahi F, Shabankhani B.

Abstract

Introduction: Considering the high prevalence of Trichomonas vaginalis (TV) in women and the known side effects of Metronidazol, the focus has been concentrated on herbal therapy in order to reduce drug side- effects in the recent decades.

Objective: To determine of *M.communis* effect on Trichomonas Vaginalis infection.

Materials and Methods: This study has been carried out as double blind in test and control groups. Methanolic extraction was performed by percolation and essential oil prepared by hydrodistillation. The parasite was isolated from vagina and determined directly. Samples were collected from vaginal discharges. Identification were done through direct smear preparation. Parasite was added to the 5 test tubes containing Drosse medium, metronidazole, Dimethyl sulfoxide (DMSO) myrtus extraction with concentration of (0.1, 0.01 ml and essential oil with concentrations of (0.1, 0.01, 0.001, 0.004, 0.0002 and 0.0001) in order to determine the effect of these concentrations within 72 hours.

Results: Findings suggested that Trichomonas could be alive in Drosse medium for 72 hours, in presence of Metronidazole for one hour and in Drosse medium for 6 hours. Also, the results revealed that methanolic extract at concentrations of 0.1 and 0.01 and essential oil at concentrations of 0.1, 0.01, 0.001 and 0.0004 were effective at the beginning of the inoculation and at concentrations of 0.0002 and 0.0001 after 2 and 9 hours respectively.

Conclusion: Considering the significant effect of essential oil and methanolic extract of *M.communis* on Trichomonas in-vitro condition, it is recommended that the therapeutic effects of the substance from this plant be studied in- vitro condition and if having positive effect, to be used as a drug.

Key words: Plants, Medicinal/ Trichomonas Vaginalis/ Trichomonas/ Vaginitis