

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

واژینالیس

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

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

** مربی گروه انگل شناسی - دانشگاه علوم پزشکی مازندران

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

****مربی 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 دهه های اخیر مورد توجه قرار گرفته است.

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

مواد و روش ها: این تحقیق یک مطالعه تجربی دو سوبه ناکاه در دو گروه آزمون و شاهد است. عصاره گیری به روش پرکولاسیون انجام و اسانس به روش تقطیر (Hydrodistillation) تهیه شد پس از نمونه گیری از ترشحات واژن و تأیید انگل به روش مستقیم، انگل در لوله های پنج تایی حاوی محیط کشت درسه، مترونیدازول، دی متیل سولفوکساید (DMSO)، عصاره های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۰۰۱ گیاه مورد در DMSO قرار داده شد تا تأثیر آنها در زمانهای متفاوت (از بدو کشت تا ۲۲ ساعت) بر توقف رشد و از بین رفتن انگل بررسی شود.

نتایج: انگل تریکومونا تا ۲۲ ساعت در محیط کشت درسه (تهیه شده از تخم 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 متانولی برگ مورد در غلظت های ۰/۱ و ۰/۰۱ بدو کشت و زمان تأثیر اسانس در غلظت های ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۰۱ نیز بدو کشت و در غلظت های ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۰۱ به ترتیب دو ساعت و چهار ساعت بعد می باشد.

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

کلید واژه ها: التهاب مهبل / التهاب مهبل ناشی از تریکوموناس / تریکوموناس مهبل / گیاهان شفا بخش

مقدمه

واژینیت تریکومونایی از متداولترین تشخیصهای ژینکولوژیست به طوری که ۲۵-۲۰٪ 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 دهه های اخیر استفاده از گیاهان دارویی مورد توجه قرار

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 ویروس و ضد باکتری استفاده شده، گیاه مورد بوده است (۱۳ و ۱۴). گیاه مورد، با نام علمی communis Myrtus از خانواده میرتاسه (Myrtaceae)، درختچه کوچکی با ارتفاع ۳-۱ متر است که در نقاط خشک و استپی ایران می روید و داروهای متعددی از

اسانس و عصاره آن تهیه می شود (۲). استخراج مواد تانی (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، ۶، ۷، ۸، ۱۴ و 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 عودکنندهی تریکومونیاژیس و تلاش جهت یافتن داروی موثرتر و با عوارض کمتر، این تحقیق جهت تعیین تاثیر اسانس و عصاره متانولی برگ مورد بر TV (*Trichomonas vaginalis*) 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 تأیید نام علمی، تهیه هرباریوم، برگهای آن جدا و خشک و پودر گردید و در ظروف تیره نگهداری شد. عصاره‌گیری با حلال متانول به روش پیرکولاسیون انجام شد و اسانس آن به روش تقطیر

(Hydrodistillation) آماده گردید. سپس ترشحات واژینال زنان دارای علائم واژینیت، مراجعه کننده به مراکز درمانی، به روش مستقیم مشاهده شد و پس از تأیید، انگل تریکوموناس در محیط درسه (تهیه شده از تخم مرغ) کشت داده شد. آنگاه لوله‌های پنج تایی حاوی محیط کشت و *T.vaginalis* به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و لوله‌های پنج تایی حاوی مترونیدازول و *T.vaginalis*، DMSO و *T.vaginalis* و عصاره خشک با غلظت ۰/۱، ۰/۰۱ در آب و *T.vaginalis* و اسانس‌های با غلظت ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۴، ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۱ در حلال DMSO و *T.vaginalis* نیز آماده گردید و داخل اینکوباتور C ۳۷° 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 متانولی برگ مورد بر تریکومونادر زمان‌ها و غلظتهای مختلف در جداول شماره ۱ و ۲ نشان داده شده و با مترونیدازول مقایسه شده است.

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

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

بقیه جدول ۱

نمونه	زمان	در بدو کشت	۱ ساعت	۲ ساعت	۴ ساعت	۶ ساعت	تا ۷ ساعت	بعد از ۷۲ ساعت
۰/۰۱ درصد	مرده و بدون دیواره	-	-	-	-	-	-	-
۰/۰۰۱ درصد	کروی و غیرفعال و سپس مرده	-	-	-	-	-	-	-
۰/۰۰۰۴ درصد	زنده با تحرک کم و سپس مرده بدون دیواره	-	-	-	-	-	-	-
۰/۰۰۰۲ درصد	زنده با تحرک کم	+	زنده با تحرک کم	کروی و غیرفعال و سپس مرده و بدون دیواره	-	-	-	-
۰/۰۰۰۱ درصد	+	+	زنده با تحرک کم	کروی و غیرفعال و سپس مرده و 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

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

+ = فعال و متحرک

- = مرده و بدون دیواره

بحث و نتیجه گیری

مصرف داروهای مناسب است، گیاهان نیز همیشه یکی از منابع عمومی داروها، چه به صورت traditional (سنتی) و چه به شکل فرآورده های خالص، بوده اند. لذا همین مسئله موجب شده است که سازمان بهداشت جهانی لیست جامعی از گیاهان دارویی و عصاره های آنها ارائه دهد (۱۶). زیرا این قبیل گیاهان می توانند حتی جانشین

نتایج نشان داد که غلظت ۰/۱، ۰/۰۱ عصاره و ۰/۱، ۰/۰۱ اسانس مورد در بدو کشت و غلظت ۰/۰۰۰۲، ۰/۰۰۰۱ به ترتیب دوساعت 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 مراقبتهای اولیه بهداشتی وجود و

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 کنترل، استفاده نمودند.

در این بررسی عصاره گیاهان *Micania cordifolia* (از خانواده *Scutia buafulia*، (Asteraceae) 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 باغلظت معادل روی تریکوموناس اثر دارد (۲۱). از گیاه مورد در طب سنتی ایران بعنوان ضد عفونی کننده استفاده می شود (۹). اثر عصاره متانولی برگ مورد بر روی

باکتریایی همچون استافیلوکوکوس اورئوس، پseudomonas 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، ۰/۰۰۴ اسانس مورد در غلظتهای ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۱ اسانس مورد بدو کشت و غلظتهای ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۱ اسانس مورد بترتیب 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 میزبان باشد. گر چه 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 برند و انتخاب داروی مناسب مربوط به تفاوت های بیوشیمیایی بین انگل و میزبان است. یک دارو می تواند بر روی یک هدف بیوشیمی در انگل عمل کند که یا در میزبان وجود ندارد و یا بطور قابل توجهی از آن هدف در میزبان متفاوت است بطور مثال مترونیدازول یک داروی ضد آمیب، ژیا ردیا و تریکومونا و سنتتیک 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 مواقعی وجود یک طرح درمانی مناسب می تواند جاننشین باشد.

منابع

- ۱- صائی، اسماعیل: بیماریهای انگلی در ایران. ج. اول. تهران: چهر، ۱۳۶۱، صص: ۱۰۹-۱۲۵.
- ۲- میرحیدر، حسین: معارف گیاهی. تهران: نشر فرهنگ اسلامی، ۱۳۷۴، صص: ۱۵-۳۱۰.
- ۳- قرینه، معصومه: بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان سستی. 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 میکروبهای 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 دارویی. ج. دوم. تهران: دانشگاه تهران، ۱۳۷۴، صص: ۶-۳۰۱.
- ۷- نبی نژاد، عبدالرضا: بررسی تأثیر ضد میکروبی برخی از اسانسهای گیاهی بر روی لیستر یامونوسیتوزنز. 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
- علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین، ۱۳۷۷، سال دوم شماره ۷ و ۶، 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, Bannett 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 Communis* var. *Microphylla 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 Antiphytochemical Studies of *Myrtus Communis* Patrti: Cardiovascular and Phytochemical tuies. *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.

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 Metronidazole, 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