

بررسی تاثیر عصاره های گیاهی افسنتین، بومادران و برگ گردو بر انگل تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت آزمایشگاهی

دکتر بهمن خلیلی دهکردی*^۱، دکتر محمود رفیعیان^۲، دکتر سید حسین حجازی^۳، حسین علی یوسفی^۴، نرگس یکتائیان^۱، لیلا شیرانی بیدآبادی^۴

^۱ گروه انگل شناسی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران، ^۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران، ^۳ گروه انگل شناسی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ^۴ مرکز تحقیقات بیماری های پوستی و سالک - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۹/۱۰/۱۶ اصلاح نهایی: ۱۹/۱۱/۷ تاریخ پذیرش: ۱۹/۱۱/۳۰

چکیده:

زمینه و هدف: تریکوموناس واژینالیس یکی از عوامل ایجاد کننده بیماری مقاربتی تک یاخته ای سیستم تناسلی - ادراری است. در سال های اخیر، استفاده از گیاه درمانی و داروهای با منشأ گیاهی روبه فزونی است. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر عصاره سه گیاه بومادران، برگ گردو و افسنتین در غلظت های مختلف بر انگل تریکوموناس واژینالیس در محیط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ده سری لوله آزمایش جهت بررسی عصاره های گیاهی بومادران، برگ گردو و افسنتین با غلظت های ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ mg/ml تهیه گردید. همچنین غلظت های مختلف مترونیدازول و عصاره های گیاهی در 2% DMSO (Dimethyl sulfoxide) حل شده و به محیط های کشت اضافه گردید. سپس در ساعات ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ از نظر زنده ماندن و تحرک انگل بررسی گردیدند. داده ها به کمک آزمون های آماری آنالیز واریانس مشاهدات تکراری تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: عصاره های گیاهان برگ گردو، بومادران و افسنتین بر انگل تریکوموناس واژینالیس روند کاهش معنی داری در تعداد انگل ها بر حسب زمان وجود نشان دادند ($P < 0/05$). در حالی که مترونیدازول حداکثر بعد از نیم ساعت باعث نابودی انگل گردید. این زمان برای عصاره این گیاهان، ۲۴ ساعت بود.

نتیجه گیری: عصاره های گیاهی بومادران، افسنتین و برگ گردو در غلظت های مختلف بر رشد انگل تریکوموناس واژینالیس تاثیر دارند و پیشنهاد می گردد بررسی های بیشتری بر روی مدل حیوانی و افراد آلوده به انگل تریکوموناس واژینالیس انجام داده شود.

واژه های کلیدی: افسنتین، بومادران، برگ گردو، تریکوموناس واژینالیس.

مقدمه:

عفونت های واژینال یکی از مشکلات بهداشتی زنان در سیستم های مراقبت های بهداشتی می باشد (۱). تریکومونازیس جهانی ترین بیماری مقاربتی تک یاخته ای دستگاه ادراری - تناسلی است. هر سال بیش از ۲۰۰ میلیون نفر از مردم دنیا به این انگل مبتلا می شوند (۳،۲). در نقاط مختلف دنیا نسبت آلودگی بسیار متغیر بوده و درصد آلودگی بین ۹-۲ درصد

گزارش شده است. مهمترین درمان های رایج این بیماری مترونیدازول است ولی گزارشات متعددی از بسیاری از کشورها مبنی بر شیوع مقاومت به این دارو توسط تریکوموناس واژینالیس وجود دارد (۴). در سالهای اخیر، استفاده از گیاه درمانی و داروهای با منشأ گیاهی روبه فزونی است به طوری که در حال

و ۴ نفثو کیئون موجود در آن که باعث ایجاد سیکل احیاء و اکنش با گلو تاتیون می گردد (۲۰).

افسنطین (*Artemisia absinthium*) معروف به worm wood می باشد، که به علت دارا بودن خواصی از جمله حشره کشی، اشتها آوری، زدودن کرم روده و همچنین داشتن ترکیبات تلخ و معطر از قدیم الایام در طب سنتی مورد استفاده قرار می گرفته است. ترکیبات معطر، موثرترین و کتون که خاصیت ضد التهاب و ضد میکروبی دارد از ترکیبات موثر موجود در عصاره این گیاه می باشد (۲۱).

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر عصاره سه گیاه بومادران، برگ گردو و افسنطین در غلظت های مختلف بر انگل تریکوموناس واژینالیس در محیط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی:

این مطالعه به صورت تجربی بوده که در سال ۸۹-۱۳۸۸ طراحی و اجرا گردید. گیاهان بومادران، افسنطین و برگ گردو پس از تهیه توسط کارشناس مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد شناسایی و در هر باریوم این مرکز ثبت گردید. پس از تمیز کردن، در سینی های مخصوص در درجه حرارت اتاق و در سایه خشک شده با آسیاب الکتریکی خرد شده و از الک شماره ۱۰ عبور داده شد. پودر حاصله به نسبت پنج به یک با الکل اتیلیک ۸۰ درجه مخلوط و به روش پرکولاسیون به مدت ۷۲ ساعت عصاره گیری شد. سپس عصاره به دست آمده تا حد خروج تمام الکل با دستگاه تبخیر در خلاء دوار تقطیر و عصاره گیاهی حاصله آماده بهره برداری در مرحله بعدی گردید.

اثر عصاره ها روی انگل تریکوموناس واژینالیس بر اساس MIC (Minimum inhibitory concentration) بدست آمده، در مقالات، برابر ۱۰۰ mg/ml در نظر گرفته شدند (۲۳-۲۴). بر اساس غلظت های به دست آمده برای عصاره ها در طول مطالعه این غلظت ها را

حاضر حدود یک سوم تا نیمی از فرآورده های دارویی موجود در آمریکا دارای منشاء گیاهی هستند (۵). این استفاده گسترده می تواند به دلایل مختلفی چون کمتر بودن عوارض جانبی، پذیرش بهتر بیمار به علت توصیه طب سنتی، استفاده نسل های گذشته، قیمت کمتر گیاهان دارویی و همچنین سازگاری با عملکرد فیزیولوژیک طبیعی بدن انسان باشد (۶). گیاه درمانی، شاخه ای از طب سنتی کشورهای با تمدن قدیمی مثل ایران است که تا یک سده قبل نقش اصلی را در درمان بیماری ها بازی می کرد (۷).

بومادران (*Achillea millefolium*) یکی از مشهورترین گیاهان دارویی است که به وفور در طب کهن برای درمان بیماری ها به طور عام و زخم ها و سوختگی ها به طور خاص مورد استفاده قرار گرفته است (۸). مطالعات انجام شده روی این گیاه نشان دهنده اثرات ضد تشنجی (۹)، ضد التهابی (۱۰)، ضد اسپاسمی (۱۱)، آنتی باکتریال و ضد قارچ (۱۲، ۱۳)، ضد درد (۱۴)، کاهش دهنده فشار خون و چربی خون (۱۵)، ضد آریتمی قلبی (۱۶) و آنتی اکسیدان گیاه می باشد (۱۷).

گردو گیاهی از خانواده Juglandaceae و جنس *Juglans regia* می باشد. عصاره برگ درخت گردو خاصیت میکروب کشی و باکتری کشی دارد، برگ و پوست گردو تصفیه کننده خون است. برگ ها و پوست آن بخصوص بخاطر تانن تلخ آن در مداوای بیماری های جلدی و خنازیر مفید واقع می شوند (۱۸، ۱۹).

برگ گردو برای شستشوی زخم ها و التیام آنها بسیار مفید و جوشانده برگ درخت گردو درمان کننده سردرد، سرماخوردگی و بیماری های پوستی است. در درمان موضعی آکنه (Acne)، بیماری های التهابی، کچلی و عفونت های قارچی، باکتریایی و ویروسی بکار می رود. خواص ضد باکتریایی، قارچی و ویروسی این گیاه به واسطه وجود ترکیب شیمیایی ۵-هیدروکسی ۱

جهت مقایسه تاثیر عصاره گیاهان در زمان های تحت بررسی بر حسب غلظت از آزمون آنالیز واریانس در تکرار مشاهدات استفاده شده است. سطح معنی داری در کلیه موارد کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

یافته ها:

بررسی تاثیر عصاره بومادران بر انگل تریکوموناس واژینالیس:

در بررسی تاثیر عصاره بومادران بر انگل تریکوموناس مشاهده شد در محیط شاهد (بدون وجود عصاره بومادران) در تعداد انگل ها افزایش مشاهده گردید که این افزایش معنی دار بود ($P < 0/05$). تمامی غلظت های مورد بررسی عصاره بومادران باعث کاهش تعداد انگل های تریکوموناس شد که در مقایسه با محیط شاهد این کاهش در تمامی غلظت ها بجز غلظت های (۳/۱، ۶/۲۵ و ۱۲/۵) معنی دار بود ($P < 0/05$) (جدول شماره ۱).

تاثیر عصاره برگ گردو بر انگل تریکوموناس واژینالیس:

در بررسی تاثیر عصاره برگ گردو بر انگل دیده شد که عصاره این گیاه در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ عصاره باعث کاهش تعداد انگل های تریکوموناس شد که از نظر آماری و در مقایسه با محیط شاهد معنی دار بودند ($P < 0/05$) (جدول شماره ۲).

تاثیر عصاره افسنتین بر انگل تریکوموناس واژینالیس:

در بررسی تاثیر عصاره افسنتین بر تعداد انگل دیده شد که تمامی غلظت های مختلف عصاره گیاه بر روی انگل تریکوموناس موثر بوده و باعث کاهش تعداد انگل های تریکوموناس شده است که تاثیرات تمامی غلظت ها از نظر آماری در مقایسه با محیط شاهد بجز غلظت ۳/۱ عصاره معنی دار بود ($P < 0/05$) (جدول شماره ۳).

مترونیدازول حداکثر بعد از نیم ساعت باعث نابودی انگل در کلیه غلظت ها گردید.

به عنوان غلظت استاندارد در نظر گرفته و با رقیق سازی سایر غلظت ها برابر ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ mg/ml در نظر گرفته شد.

سوش تریکوموناس واژینالیس از دانشکده پزشکی اصفهان تهیه و در محیط کشت CPLM (Cysteine peptone liver- infusion maltose) (ساخت شرکت Himedia) در لوله های در پیچ دار پروسیلیکات کشت داده شد. در مراحل بعدی غلظت های متفاوت مترونیدازول و عصاره ها، ابتدا در آب مقطر و سپس در ۲٪ DMSO (دیمتیل سولفو کساید) حل شده و به محیط های کشت اضافه گردید.

گروه های مورد مطالعه شامل: ۱- محیط کشت حاوی مترونیدازول (شرکت داروسازی فارابی) با غلظت های ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ در آب مقطر، ۲٪ DMSO و تریکوموناس واژینالیس (کنترل مثبت)، ۲- محیط حاوی تریکوموناس واژینالیس تنها (گروه شاهد)، ۳- محیط حاوی بافر فسفات سالین PBS + ۲٪ DMSO و انگل تریکوموناس واژینالیس (گروه کنترل منفی)، ۴- محیط کشت انگل تریکوموناس واژینالیس و عصاره افسنتین، بومادران و برگ گردو بصورت مجزا با غلظت های ۳/۱، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ mg/ml در بافر PBS + ۲٪ DMSO، نهایتاً در لوله ۰/۵ سی سی از رقت های بدست آمده تهیه و تا با رقت ۰/۵cc از سوسپانسیون انگل با غلظت ۱۰^۴ در هر میلی لیتر به محیط کشت اضافه تا حجم نهایی به یک میلی لیتر برسد.

برای بررسی تاثیر عصاره ها روی انگل ها بعد از آماده سازی و انکوبه کردن انگل ها در انکوباتور ۳۷ درجه پایان ۶ ساعت اول و سپس بعد از ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت توسط کارشناسی که از نحوه افزودن عصاره ها و اینکه محیط های حاوی کدام انگل یا عصاره است اطلاعی نداشت پس از کد گذاری از نظر زنده ماندن و تحریک انگل بررسی گردیدند (۲۱، ۲۵).

جدول شماره ۱: میانگین تعداد انگل تریکوموناس در زمان های مورد بررسی در محیط های کشت حاوی غلظت های مختلف عصاره گیاه بومادران

گروه	زمان	ساعت صفر	ساعت ۶	ساعت ۲۴	ساعت ۴۸	ساعت ۷۲
شاهد		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۲۰۶/۷±۸۱/۴	۲۴۰±۹۶/۴	۲۵۶/۷±۶۰/۳	۲۱۶/۷±۴۷/۳
۸۰۰*		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۰	۰	۰	۰
۴۰۰*		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۳۳/۳±۱۴/۴	۱۳/۳±۱۲/۶	۰	۰
۲۰۰*		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۵۸/۳±۳۸/۲	۴۱/۷±۱۶/۱	۲۵ ± ۲۵	۰
۱۰۰*		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۸۱/۷±۳۵/۵	۵۸/۳±۳۸/۳	۳۳/۳±۳۸/۲	۸/۳±۱۴/۴
۵۰*		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۹۸/۳±۲۲/۵	۷۵±۲۵	۵۰ ± ۲۵	۲۵ ± ۲۵
۲۵*		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۱۲۰/۳±۲۶/۴	۹۰±۲۶	۶۶/۷ ± ۲۸/۹	۴۱/۷±۲۸/۹
۱۲/۵		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۱۵۶/۷±۴۰/۴	۱۱۶/۷±۲۸/۹	۹۰ ± ۲۶	۶۶/۷±۲۸/۹
۶/۲۵		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۱۹۰±۵۲/۹	۱۴۰±۵۲/۹	۱۱۶/۷±۲۸/۹	۹۰ ± ۲۶
۳/۱		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۱۹۶/۷±۶۴/۳	۱۵۶/۷±۸۱/۴	۱۲۶/۷±۴۶/۲	۱۰۸/۳±۳۸/۲
میانگین		۲۰۶/۷±۸۱/۴	۱۱۴/۲±۷۸/۷	۹۳/۲±۸۱	۷۶/۵±۷۹/۴	۵۵/۷±۶۹/۹

مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده اند. $P < 0/05$ نسبت به گروه شاهد.

تمامی داده ها $\times 10^4$ می باشد.

جدول شماره ۲: میانگین تعداد انگل تریکوموناس در زمانهای مورد بررسی در محیط های کشت حاوی غلظت های مختلف عصاره برگ گردو

گروه	زمان	ساعت صفر	ساعت ۶	ساعت ۲۴	ساعت ۴۸	ساعت ۷۲
شاهد		۱۵۰±۵۰	۱۵۰ ± ۵۰	۱۹۰±۶۵/۶	۱۷۶/۷±۶۵/۱	۱۶۰±۵۰
۸۰۰*		۱۵۰±۵۰	۰	۰	۰	۰
۴۰۰*		۱۵۰ ± ۵۰	۱۶/۷±۲۸/۹	۰	۰	۰
۲۰۰*		۱۵۰ ± ۵۰	۵۰ ± ۲۵	۲۵ ± ۲۵	۸/۳±۱۴/۴	۰
۱۰۰*		۱۵۰ ± ۵۰	۹۰ ± ۳۶	۵۰ ± ۲۵	۲۵ ± ۲۵	۸/۳±۱۴/۴
۵۰*		۱۵۰ ± ۵۰	۱۰۸/۳±۳۸/۲	۷۵ ± ۴۳/۳	۶۳/۳ ± ۳۴	۴۱/۷±۳۸/۲
۲۵		۱۵۰ ± ۵۰	۱۲۱/۷±۴۷/۵	۱۰۶/۷±۵۱/۳	۸۱/۷ ± ۵۰	۶۶/۷±۳۸/۲
۱۲/۵		۱۵۰ ± ۵۰	۱۵۶/۷ ± ۴۰/۴	۱۴۰±۵۲/۹	۱۱۵±۴۹/۲	۱۰۰ ± ۵۰
۶/۲۵		۱۵۰ ± ۵۰	۱۵۶/۷ ± ۴۰/۴	۱۳/۳±۴۰/۴	۱۵۶/۷±۶۰/۳	۱۲۳/۳ ± ۴۰/۴
۳/۱		۱۵۰ ± ۵۰	۱۵۶/۷ ± ۴۰/۴	۱۷۳/۳ ± ۶۸/۱	۱۶۳/۳±۶۱/۱	۱۴۳/۳±۴۹/۳
میانگین		۱۵۰ ± ۴۱/۵	۱۰۰/۷±۶۵/۵	۹۲/۳±۷۹/۲	۷۹±۷۶/۸	۶۴/۳±۶۷/۷

مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده اند. تمامی داده ها $\times 10^4$ می باشد.

$P < 0/05$ نسبت به گروه شاهد.

جدول شماره ۳: میانگین تعداد انگل تریکوموناس در زمان های مورد بررسی در محیط های کشت حاوی غلظت های مختلف عصاره گیاه افسنتین

گروه	زمان	ساعت صفر	ساعت ۶	ساعت ۲۴	ساعت ۴۸	ساعت ۷۲
شاهد		۱۵۰ ± ۵۰	۱۵۰ ± ۵۰	۱۸۰ ± ۶۵/۶	۱۶۳/۳ ± ۶۱/۱	۱۴۶/۷ ± ۶۴/۳
۸۰۰*		۱۵۰ ± ۵۰	۰	۰	۰	۰
۴۰۰*		۱۵۰ ± ۵۰	۰	۰	۰	۰
۲۰۰*		۱۵۰ ± ۵۰	۴۱/۷ ± ۱۴/۴	۱۶۶/۷ ± ۱۴/۴	۰	۰
۱۰۰*		۱۵۰ ± ۵۰	۸۰ ± ۸/۷	۵۸/۳ ± ۱۴/۴	۲۵ ± ۲۵	۰
۵۰*		۱۵۰ ± ۵۰	۹۸/۳ ± ۲۲/۵	۸۳/۳ ± ۱۴/۴	۵۰ ± ۲۵	۱۶/۷ ± ۱۴/۴
۲۵*		۱۵۰ ± ۵۰	۱۱۶/۷ ± ۲۸/۹	۱۰۳/۳ ± ۱۵/۳	۸۳/۳ ± ۱۴/۴	۵۰ ± ۲۵
۱۲/۵*		۱۵۰ ± ۵۰	۱۵۰ ± ۵۰	۱۳۰ ± ۲۰	۱۰۶/۷ ± ۱۵/۳	۸۳/۳ ± ۱۴/۴
۶/۲۵*		۱۵۰ ± ۵۰	۱۵۰ ± ۵۰	۱۵۰ ± ۴۰	۱۳۶/۷ ± ۳۲/۱	۱۰۶/۷ ± ۱۱/۵
۳/۱		۱۵۰ ± ۵۰	۱۵۰ ± ۵۰	۱۷۰ ± ۶۰	۱۴۶/۷ ± ۴۵/۱	۱۱۶/۷ ± ۲۸/۹
میانگین		۱۵۰ ± ۴۱/۵	۹۳/۷ ± ۶۵/۵	۸۹/۳ ± ۷۱/۷	۷۱/۲ ± ۶۶/۸	۵۲ ± ۵۸/۷

مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده اند. تمامی داده ها 10^4 می باشد. $P < 0.05^*$ نسبت به گروه شاهد.

بحث:

در مطالعه حاضر از عصاره های گیاهی بومادران، افسنتین و برگ گردو با غلظت های بکار برده شده بر انگل تریکوموناس واژینالیس استفاده گردید. در بررسی تاثیر عصاره گیاهان مورد مطالعه بر انگل تریکوموناس بر اساس نتایج حاصله روند کاهش معنی داری در تعداد انگل های تریکوموناس بر حسب زمان وجود دارد.

Muelas و همکاران اثر عصاره های گیاهان آمریکا را به صورت *in vitro* روی تریکوموناس بررسی نمودند. در این بررسی عصاره گیاهان *Mucania cordifolia* از خانواده (Asteraceae) و *Scutia - buafulia* از خانواده (Asteraceae) و *Lobalia neurolarea* از خانواده (Rhamnaceae) بیشترین

اثر را روی تریکوموناس واژینالیس داشتند (۲۲). در مطالعه حاضر نیز تاثیر عصاره بومادران، برگ گردو و افسنتین را بر این انگل ها نشان داده شد و بیانگر آن است که استفاده نسبی از این گیاهان در طب سنتی بر روی درمان بیماری ها می تواند به صورت موثر در آینده نیز استفاده شود. Klinghardt و همکاران به نقش بره موم (Propolis) در مهار بیماری های پروتوزوئری همچون تریکومونیاژیس، آمیبیاز، توکسو پلاسموز و ژیاودیوز اشاره کرده اند (۲۳). Staryzyk و همکاران اثر کشندگی عصاره الکلی بره موم را بر روی تریکوموناس واژینالیس مشاهده کردند و همچنین نشان دادند عصاره مذکور پس از یک تماس ۲۴ ساعته قادر است

با مروری بر مطالعات که اثرات بعضی از گیاهان دارویی را بر روی این رشد انگل انجام داده اند و مقایسه با مطالعه حاضر اگر چه داروی مشترکی بین مطالعات وجود ندارد ولی به نظر می رسد که ماده موثره بوماداران و افسنتین با ماده موثره از اسطوخودوس شبیه به هم بوده است که باید در مطالعات بعدی این تشابه احتمالی مورد بررسی قرار گیرد. با این حال عدم وجود مطالعات مشابه در ایران و جهان و از طرفی تاثیر قابل توجه عصاره این گیاهان بر روی رشد تریکوموناس واژینالیس و با توجه به شیوع بالای تریکومونوزیس و هم چنین عوارض جانبی داروی مترونیدازول مطالعات بیشتر و گسترده تر را طلب می نماید.

نتیجه گیری:

این سه سه گیاه بوماداران، افسنتین و برگ گردو در غلظت های مختلف بر تریکوموناس تاثیر مثبت داشتند و لذا پیشنهاد می گردد بررسی مدل حیوان و انسانی تاثیر پذیری این گیاهان بر روی رشد و تکثیر انگل تریکوموناس بررسی گردد.

تشکر و قدردانی:

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده است. همچنین از سرکار خانم سپیده طلوعی قدردانی می گردد.

توکسوپلازما گوندی را از بین ببرد (۲۴).
Suchy و همکاران تاثیر درمانی و بازدارندگی رشد پروپولیس را در درمان تریکوموناس واژینالیس نشان دادند (۲۵).

نتایج مطالعه عزت پور با عنوان بررسی تاثیر اسانس گیاه اسطوخودوس بر تریکوموناس واژینالیس در محیط In vitro نشان داد در حالی که انگل ها تا ۴۸ ساعت در محیط کشت CPLM زنده باقی می ماندند، در مجاورت داروی مترونیدازول دو ساعت بعد در محیط DMSO بعد از ۵ ساعت از بین رفتند. ولی غلظت ۰/۱ درصد اسانس اسطوخودوس در مدت ۹۰ دقیقه تمامی انگل های زنده را از بین برد در صورتی که این زمان برای غلظت ۰/۰۱، ۱۲۰ دقیقه و برای غلظت ۰/۰۰۱ شش ساعت به طول انجامید. این مطالعه نشان داد اسانس اسطوخودوس اثر قابل ملاحظه ای بر روی تریکوموناس واژینالیس دارد (۲۶).

نتایج مطالعه آزاد بخت و همکاران تحت عنوان بررسی تاثیر اسانس گیاه درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد بر تریکوموناس واژینالیس نشان داد که انگل تریکوموناس تا ۷۲ ساعت در محیط کشت زنده مانده و در مجاورت داروی مترونیدازول یک ساعت بعد و در محیط DMSO بعد از ۶ ساعت از بین رفت (۲۷)، لذا با توجه به تاثیر قابل توجه این گیاهان بایستی عصاره جداگانه یا ترکیبی از سه گیاه به صورت Invitro بر روی انگل مورد بررسی قرار گیرد (۲۷).

منابع:

1. Egan ME, Lipsky MS. Diagnosis of vaginitis. Am Fam Physician. 2000; 62(5): 1095-104.
2. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. Clin Microbiol Rev. 1998 Apr; 11(2): 300-17.
3. Fiori PL, Rappelli P, Addis MF, Mannu F, Cappuccinelli P. Contact-dependent disruption of the host cell membrane skeleton induced by *Trichomonas vaginalis*. Infect Immun. 1997 Dec; 65(12): 5142-8.
4. Aazami M, Valizadeh M, Ezatpur B. Effectiveness of dexpropolanol hydrochloride on *Trichomonas vaginalis* growth under in-vitro condition. Sub Med J Shahid Beheshti Univ of Med Sci. 2004; 6: 319.

5. Clark AM. Natural products as a resource for new drugs. *Pharm Res.* 1996 Aug; 13(8): 1133-44.
6. Corns CM. Herbal remedies and clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem.* 2003 Sep; 40(Pt 5): 489-507.
7. Fong HH. Integration of herbal medicine into modern medical practices: issues and prospects. *Integr Cancer Ther.* 2002 Sep; 1(3): 287-93.
8. Ghe Vallir A. The encyclopedia of medicinal plants. London: Darling Kindersly. 1995; p: 102-5.
9. Heidari MR, Ebrahimi S, Mehrabani M, Pardakhti A, Vafa Zadeh J. [Effects of methanolic extract of *achillea wilhelmsii* c. koch on seizure induced by picrotoxin in mice. *J Babol Univ of Med Sci.* 2005; 7(28): 13-7.]Persian
10. Rashidi I, Taheri Moghadam M, Mozaffari AR. Study of anti-inflammatory and healing effects of *achillea millefolium* in the treatment of indomethacin-induced gastric ulcer in rat. *J Babol Univ of Med Sci.* 2005; 33: 13-9.]Persian
11. Karamenderes C, Apaydin S. Antispasmodic effect of *achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* (O. Schwarz) Bassler on the rat isolated duodenum. *J Ethnopharmacol.* 2003 Feb; 84(2-3): 175-9.
12. Magiatis P, Skaltsounis AL, Chinou I, Haroutounian SA. Chemical composition and in-vitro antimicrobial activity of the essential oils of three greek *achillea* species. *Z Naturforsch C.* 2002 Mar-Apr; 57(3-4): 287-90.
13. Ayatollahi Mousavi SA, Abdollahi H, Kazemipour N. [Investigation of antifungal activity of 10 methanol extracts of medicinal Herbs. *J Kerman Univ Med Sci.* 1996; 3(3): 115-22.]Persian
14. Arzi A, Akhavan M. [The effect of hydroalcoholic extract of *achillea milefolium* on nalgesic effect of morphine in rats. *Babol Univ of Med Sci (JBUMS)* Fall. 2001; 3(4): 11-14.]Persian
15. Farrokh-Fal KH, Fatehi M, Fatehi Hasan Abad Z. [Cardiovascular effects of five native plants from southern of Khorasan state. *J Zahedan Univ of Med Sci (Tabib-e-shargh).* 2005; 7(1): 38-31.]Persian
16. Asgary S, Naderi GH, Sarrafzadegan N, Mohammadifard N, Mostafavi S, Vakili R. Antihypertensive and antihyperlipidemic effects of *achillea wilhelmsii*. *Drugs Exp Clin Res.* 2000; 26(3): 89-93.
17. Sokmen A, Sokmen M, Daferera D, Polissiou M, Candan F, Unlu M, et al. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *achillea biebersteini* Afan. (Asteraceae). *Phytother Res.* 2004 Jun; 18(6): 451-6.
18. Anderson Frank J. An illustrated history of the herbals. NewYork: Columbia Univ Press; 1977. p: 100-3.
19. Valent J. *Phytotherapie: traitement des maladies par les plantes.* Translated to Persian by: Emami A, Shams-Ardakani MR, Nekouie-Naeenie N, Mehregan I. Tehran: Rah-e Kamal Press; 2006; p: 361-58.
20. Alkhawajah AM. Studies on the antimicrobial activity of *juglans regia*. *Am J Chin Med.* 1997; 25(2): 175-80.
21. Ramezani M, Fazli-Bazzaz BS, Saghafi-Khadem F, Dabaghian A. Antimicrobial activity of four *Artemisia* species of Iran. *Fitoterapia.* 2004 Mar; 75(2): 201-3.
22. Muelas-Serrano S, Nogal JJ, Martinez-Diaz RA, Escario JA, Martinez-Fernandez AR, Gomez-Barrio A. In vitro screening of American plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *trichomonas vaginalis*. *J Ethnopharmacol.* 2000; 71: 101-7.
23. Klinghardt DK. Lyme disease: a look beyond antibiotics. *Explor Infect Dis.* 2005; 14: 6-11.

24. Starzyk J, Scheller S, Szaflarski J, Moskwa M, Stojko A. Biological properties and clinical application of propolis. II. Studies on the antiprotozoan activity of ethanol extract of propolis. *Arzneimittelforschung*. 1977; 27(6): 1198-9.
25. Suchy H. Propolis in the treatment of *trichomonas vaginitis*. *Wiad Parazytol*. 1977; 23(5): 641-3.
26. Shirani Bidabadi L, Mahmoudi M, Saberi S, Zoualfaghari Baghbaderani A, Nilforoushzade MA, Moatar F, Hejazi SH. The effectiveness of mix extracts of thyme, yarrow and propolis on cutaneous leishmaniasis: a comparative study in animal model (balb/c). *Tehran Univ Med J (TUMJ)*. 2009 Feb; 66(11): 785-90.
27. Ezatpur B, Badparva E, Ahmadi Sh, Rashidipur M, Ziaiye H. [Investigation of anti *trichomonas vaginalis* activity of *lavandula angustifolia* essential oil in in vitro media. *J Ilam Univ Med Sci*. 2009; 16(4): 31-6.] Persian
28. Azadbakht M, Ziai H, ShaabanKhani B. Effect of essential oils of *artemisia aucheri* boiss. *Zataroa multiflora* boiss and *myrtus communis* L. on *trichomonal vaginalis*. *J Med Plants*. 2003 Dec; 2(8): 35-40.

Received: 6/Jan/2011 Revised: 27/Jan/2011 Accepted: 9/Feb/2011

Effect of *Achillea millefolium*, *Artemisia absinthium* & *Juglans regia* leaves extracts on *Trichomonas vaginalis*, in vitro

Khalili B (PhD)*¹, Rafieian M (PhD)², Hejazi SH (PhD)³, Yusefi HA (MSc)³, Yektaian N (MSc)¹, Shirani-Bidabadi L (MSc)⁴

¹Parasitology Dept., Shahrekord Univ. of Med. Sci. Shahrekord, Iran,

²Medical Plants Research Center, Shahrekord Univ. of Med. Sci.

Shahrekord, Iran, ³Parasitology Dept., Isfahan Univ. of Med. Sci.

Isfahan, Iran, ⁴ Skin Diseases & Leishmaniasis Research Center,

Isfahan Univ. of Med. Sci. Isfahan, Iran

Background and aim: Genitourinary infections are of women's hygienic problems in health care systems. Trichomoniasis is one of the most important sexual diseases which are treated with Metronidazole. Due to side effects of the drug and also tendency of people in using herbal medicine, this study aimed to evaluate the effects of three herbs, *Achillea millefolium*, *Artemisia absinthium* and *Juglans regia* leaves extracts, on *Trichomonas vaginalis*.

Methods: In an experimental study, ten tubes were selected and the extracts of these three herbs *Achillea millefolium*, *Artemisia absinthium* and *Juglans regia* leaf extracts with concentrations of 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400 and 800 mg/ml were prepared. Then different concentrations of Metronidazole and the three herbs extracts were diluted in 2%DMSO and added to the cell cultures. After 6, 12, 24, 48 and 72 hours, samples were tested for dead or alive and also for their mobility of the parasite. Data were analyzed by ANOVA test.

Results: The extracts of these three herbs caused an increase in immobility of the parasites. The rate of immobility had direct relationship with time and immobility was continuously increased after 24, 48 and 72 hours. The results were suggestive that *Achillea millefolium*, *Artemisia absinthium* & *Juglans regia* hydroalcoholic extracts were significantly more effective in reduction of parasites, in vitro ($P < 0.05$); however, Metronidazole after half an hour caused immobility of parasite versus 24 hour for plant extract.

Conclusion: Our study showed that the extracts of the three mentioned herbs had effect on growth of *Trichomonas vaginalis*; however, further studies are needed to show the effects of these herbs in animal models and volunteer infected people.

Keywords: *Achillea millefolium*, *Artemisia absinthium*, *Juglans regia*, *Trichomonas vaginalis*.

***Corresponding author:**
Parasitology Dept.,
Shahrekord Univ. of Med.
Sci. Rahmatieh,
Shahrekord, Iran.
Tel:
0381-3334691
Email:
bahman@skums.ac.ir