

بررسی تأثیر اسانس گیاه اسطوخودوس بر تریکوموناس واژینالیس در محیط In vitro

بهروز عزت پور^{1*}، ابراهیم بادپرو²، شهلا احمدی³، مرضیه رشیدی پور⁴، هاجر ضیایی⁵

1) مربی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

2) مربی، گروه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

3) معقق و کارشناس ارشد گیاه شناسی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان

4) دانشجوی کارشناسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نهم آباد

5) مربی، گروه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ پذیرش: 87/10/16

تاریخ دریافت: 87/4/5

چکیده

مقدمه: تریکومونیاژیس یکی از شایعترین بیماریهای مقاربتی در سراسر جهان است که توسط انگل تریکوموناس واژینالیس بوجود می آید. با توجه به افزایش شیوع آن و گزارشات روز افزون موارد مقاومت به مترونیدازول، نیاز به یافتن دارویی مناسب و حتی المقدور گیاهی ضروری به نظر میرسد. اسطوخودوس یکی از گیاهان دارویی است که اثرات درمانی ضد میکروبی، ضد ویروسی و ضد انگلی آن به اثبات رسیده است.

مواد و روش ها: تهیه اسانس به روش تقطیر (Hydrodistillation) انجام شد و پس از کشت انگل تریکوموناس واژینالیس با استفاده از محیط کشت Trichomona Modified CPLM Medium Base، انگل در لوله‌های ده تایی حاوی محیط کشت فوق الذکر، مترونیدازول، دی‌متیل سولفوکساید (DMSO)، اسانس‌های 0/1، 0/01، 0/001، گیاه اسطوخودوس در DMSO قرار داده شد و میزان اثرگذاری آنها در زمان‌های صفر (آغاز مجاورت) و به فواصل 15 دقیقه ای، تا 2 ساعت و سپس در ساعات (3، 4، 5، 6، 12، 24، 48، 72) به صورت کاملاً ناآگاهانه از نظر زنده ماندن و تحرک بررسی شدند.

یافته های پژوهش: نتایج پژوهش نشان داد که انگل ها تا 48 ساعت در محیط کشت Trichomonas Modified CPLM Medium Base زنده باقی ماندند و در مجاورت داروی مترونیدازول دو ساعت بعد و در محیط DMSO بعد از 5 ساعت از بین رفتند. غلظت 0/1 درصد اسانس اسطوخودوس در مدت 90 دقیقه تمامی انگلهای زنده را از بین برد، در صورتی که این زمان برای غلظت 1٪، 120 دقیقه و برای غلظت 0/001، شش ساعت به طول انجامید.

بحث و نتیجه گیری: با لحاظ نمودن این نکته که اسانس اسطوخودوس اثر قابل ملاحظه ای روی تریکوموناس واژینالیس دارد، نویسندگان بر استفاده گیاه به صورت In vivo بر روی انگل در مطالعات بعدی تاکید دارند.

واژه های کلیدی: اسانس، Trichomona Modified CPLM Medium Base، اسطوخودوس، تریکوموناس واژینالیس

*نویسنده مسئول: مربی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

مقدمه

تریکومونیاژیس شایع ترین بیماری غیر ویروسی قابل انتقال از راه تماس جنسی است که سالیانه حدود 170 میلیون مورد از آن در دنیا گزارش می شود. این بیماری که توسط تک یاخته بیماری زای تریکوموناس واژینالیس بوجود می آید باعث صدمات و عوارضی از قبیل: زایمان پیش از موعود، تولد نوزادان کم وزن و سقط جنین می گردد. امروزه، اعتقاد بر این است که تریکوموناس واژینالیس با از بین بردن پروتئاز ترشحاتی گلبولهای سفید، که آن را مسئول حفاظت سلول های غشایی موکوس واژن از ویروس HIV می دانند، باعث افزایش خطر ابتلا به بیماری AIDS می گردد (1,2,3,4). از طرفی دیگر، این انگل مسئول 11 درصد از تمامی موارد اورتریت های غیر گنوره ای، پروستاتیتیس، اپیدیدیمیتیس و همینطور ناباروری در مردان می باشد (5,6). درمان رایج این بیماری مترونیدازول است. ولی گزارشات عدیده ای از بسیاری از کشورها مبنی بر شیوع مقاومت به آن و عوارض کارسینوژنیک و تراژوژنیک آن (خصوصاً در سه ماه اول بارداری) محققان را بر آن داشته تا به جستجوی داروهای جایگزین با عوارض جانبی کمتر بپردازند (7). گیاهان دارویی از دیر باز به صورت گسترده در دنیا اعم از کشورهای در حال توسعه و یا توسعه یافته به کار می روند. این استفاده گسترده می تواند به دلایل مختلفی چون مزیت کمربودن عوارض جانبی، پذیرش بهتر بیمار به علت توصیه طب سنتی و استفاده نسلهای گذشته و یا قیمت کمتر گیاهان دارویی باشد. اثرات درمانی گیاهان دارویی اکثراً با عملکرد فیزیولوژیک طبیعی بدن انسان سازگاری بیشتری دارد. اسطوخودوس یکی از مفید ترین گیاهان دارویی به شمار می رود. این گیاه سرشار از اسانس هایی است که به صورت گسترده در صنایع آرایشی-بهداشتی، در ساخت انواع صابون، عطر و ادکلن، لوسیونهای پوستی و سایر لوازم آرایشی بکار می رود (8). در صنایع غذایی، اسانس اسطوخودوس برای طعم بخشیدن به نوشابه ها، بستنی، کیک و آدامس کار برد دارد (9). اخیراً با توجه به استقبال مردم از عطر درمانی، اسطوخودوس جایگاه مناسبی در این نوع طب مکمل کسب کرده

است (10,11). اثرات درمانی فراوان از این گیاه، همچون آرامبخشی، ضد اسپاسم، ضد ویروسی، ضد انگلی، آنتی باکتریال، ضد درد، حفاظت از دستگاه گوارشی، ضد التهابی، آنتی اکسیدان، آنتی موتاژنیک، ضد سرطان، ضد اضطرابی، ضد افسردگی و ممانعت از تشکیل لخته توسط محققان گزارش شده است (12,13).

در مطالعه ای مشابه، تأثیر اسانس دو گونه اسطوخودوس (*lavandula angustifolia*, *lavandula intermedia*) بر روی تریکوموناس واژینالیس بررسی شده و خواص ضد تریکومونایی هر دو گونه آن به اثبات رسیده است (14). در مطالعه حاضر ما بر آن شدیم تا در محیط آزمایشگاه، خاصیت ضد تریکومونالیس اسطوخودوس را در مقایسه با داروی مترونیدازول بررسی نماییم.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، پس از جمع آوری اسطوخودوس از پارکهای خرم آباد و تایید نام علمی آن و تهیه هر باربوم، برگ ها و سر شاخه های گلدار آن جدا سپس خشک و در پایان اسانس آن به روش تقطیر Hydrodistillation آماده گردید. در مرحله بعد، ترشحات واژینال زنان دارای علائم واژینیت تریکومونایی مراجعه کننده به مراکز درمانی، به روش مستقیم مشاهده و پس از تایید توسط کارشناس آزمایشگاه، تروفوزوئیت زنده و متحرک تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت *Trichomonas Modified CPLM Medium* Base متعلق به شرکت *HiMedia Laboratories Pvt Ltd* در دمای 37 سانتی گراد کشت داده شد. انگلها در فاز لگاریتمی جمع آوری شدند تا در نهایت توسط شمارش با لام نتوبار، تعداد 1×10^6 انگل در هر میلی لیتر به دست آمد. سپس لوله های ده تایی حاوی مترونیدازول (شرکت دارو سازی فارابی) و تریکوموناس واژینالیس، DMSO (دی متیل سولفوکساید شرکت Merk آلمان) و تریکوموناس واژینالیس، اسانسهای با غلظت 0/1، 0/01 و 0/001 درصد درحلال DMSO و تریکوموناس واژینالیس نیز آماده گردید و درون انکوباتور 37 سانتی گراد قرار داده شد. تمامی لوله ها

گرایش عمده ای که در جهان به استفاده از گیاهان دارویی در درمان انواع بیماریها بوجود آمده به صورتی است که حدود 20/000 گونه از گیاهان در دنیا به مصارف پزشکی می رسد. عمده مطالعات انتشار یافته مکانیسم اثربخشی اسانسهای گیاهان دارویی روشن را نساخته اند. البته عده ای این فرضیه را مطرح کرده اند که اسانسها در مسیر های بیوشیمیایی دخالت می نمایند(14). Evandri و همکارانش به وسیله تست Ames که نوعی آزمون بیولوژیک جهت اندازه گیری توانایی موتاژنیک بودن ترکیبات شیمیایی است دریافتند که اسانس اسطوخودوس با ممانعت از ۲- نیتروفلورن به شدت از سرطانی شدن سلولها جلوگیری می کند(15). Manosroi و همکاران نیز در یک تحقیق نشان دادند که اسانس اسطوخودوس می تواند از ایجاد سرطان رده های سلولی اپیدرم انسان و همین طور لوسمی در مدل حیوانی جلوگیری کند(16).

والنتین و همکاران توقف در رشد پلاسمو دیوم فاسیباروم توسط اسانس گیاه *Lippia multiflora* را به علت جلوگیری از تقسیم هسته در مرحله تروفوزوئیت شیزونت دانسته اند(17). پوپوز و همکاران خاصیت ضد مالاریایی گیاه *Virola surinamenis* را احتمالاً به علت جلوگیری از بیوسنتز گلیکوپروتئین انگل گزارش کرده اند(18).

بسیاری از داروهای شناخته شده و معروف دارای منشاء گیاهی هستند. برای مثال، کینین که از پوست درخت گنه تهیه می شود و در درمان مالاریا به کار رود دارای مشتقات سنتتیک زیادی همچون کلروکین، آمودیاکین و پریماکین می باشد.

بنابراین، افزایش تقاضا برای داروهای طبیعی ممکن است به یافتن داروهای ضد انگل جدیدی منجر شود که دارای حداقل اثرات جانبی باشند. مکانیسم اثر مترونیدازول که به عنوان داروی سنتتیک ضد آمیب، ژیاودیبا و تریکوموناس به کار می رود شکستن زنجیره های DNA می باشد که گاه باعث اثرات جانبی خطرناکی بر روی میزبان نیز می شود(19).

در ابتدای کشت (ساعت صفر) و به فواصل 15 دقیقه ای، تا 2 ساعت و سپس در ساعات (3، 4، 5، 6، 12، 24، 48، 72) به صورت کاملاً ناآگاهانه از نظر زنده ماندن و تحرک بررسی شدند. در نهایت کلیه لوله ها تا 72 ساعت در 37° سانتی گراد نگهداری شدند.

یافته های پژوهش

در این مطالعه مشخص گردید که انگل در محیط کشت *Trichomonas Modified CPLM* Medium Base تا 72 ساعت بصورت متحرک و زنده باقی می ماند، ولی در حضور مترونیدازول تنها دو ساعت زنده است. تمامی غلظت های اسطوخودوس به کار رفته در این مطالعه قادر به کاهش زمان زنده ماندن تریکو موناس و باعث از بین رفتن آنها به وسیله لیز انگل شدند، گرچه این زمان برای غلظت های مختلف متفاوت بود. غلظت 0/1 درصد اسانس اسطوخودوس در خلال 90 دقیقه تمامی انگلهای زنده را از بین برد (نمودار شماره 1). در صورتی که این زمان برای غلظت 1 درصد، 120 دقیقه (نمودار شماره 1) و برای غلظت 0/001، 6 ساعت به طول انجامید (نمودار شماره 2).

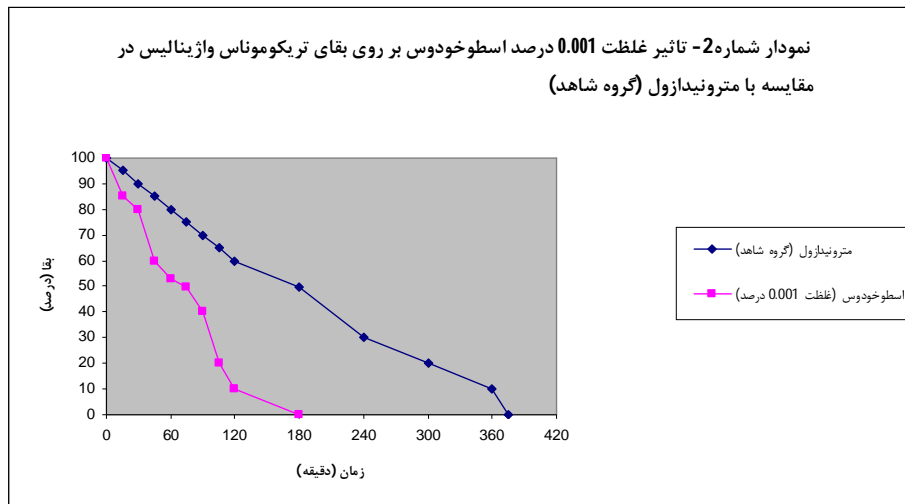
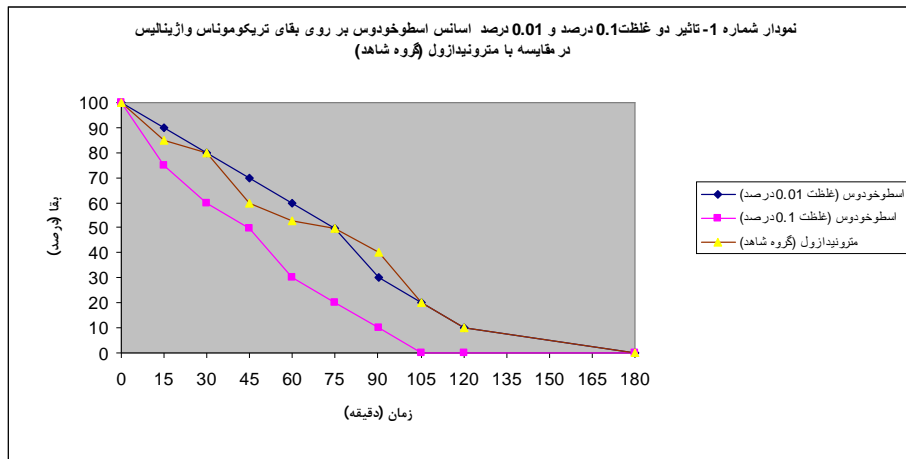
بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه خاصیت ضد انگلی اسانس اسطوخودوس (*lavandula angustifolia*) بر روی تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول بررسی شد که نشان دهنده تاثیر قابل ملاحظه آن بر روی این تک یاخته بیمباری زا است. در تنها مطالعه مشابه قبلی، Moon و همکاران تاثیر سه غلظت 1 و 0/5، 0/1 درصد اسانس دو گونه اسطوخودوس (*lavandula angustifolia*, *lavandula intermedia*) را بر روی تریکوموناس واژینالیس بررسی کردند و دریافتند که غلظت 0/1 درصد اسانس اسطوخودوس در مدت 55 دقیقه تمامی انگلها را از بین برد(14). در حالیکه این زمان در تحقیق ما 90 دقیقه بود. دلیل این پدیده می تواند در تفاوت حلال بکار رفته در دو مطالعه باشد. ما از DMSO به عنوان حلال استفاده کردیم، در حالی که آنان از آب مقطر استریل نانو پیور استفاده کرده بودند.

تشکر و سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت مالی مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین از زحمات سرکار خانم لیلا کولیوند و راهنمایی‌های جناب آقای دکتر بهرام دلفان کمال تشکر و قدردانی را داریم.

از این رو، در راستای یافتن دارویی با عوارض جانبی کمتر، پیشنهاد نویسندگان مطالعات بالینی با استفاده از اسانس اسطوخودوس بر روی زنانی است که از بی‌بیماری تریکومونیاژیس رنج می‌برند.



References

- 1-Upcroft J, Upcroft P. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. *Clin Microbiol Rev.* **2001**; **14:150–64**.
- 2-Schwebke JR, Burgess D . Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev .* **2004**; **17:794–803**.
- 3-Gary E Garber, The Ottawa Hospital, Ottawa, Ontario.The laboratory diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* **2005** Jan–Feb; **16(1): 35–38**.
- 4-Dunne RL, Dunn LA, Upcroft P, O'Donoghue PJ, Upcroft JA . Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. *Cell Res.***2003**; **13(4):239–49**.
- 5-Sarah L, Cudmore, Kiera L, Delgaty, Shannon F, Hayward-McClelland, Dino P, Petrin, and Gary E, Garber.Treatment of infections caused by metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev* **2004**; **17:783–93**.
- 6-Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G . Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev.* **1998**; **11:300–317**.
- 7-Aa'zami M, Valizadeh M, Ezatpur B. Effectiveness of Dex Properanolol Hydrochloride on *Trichomonas vaginalis* growth under In-vitro condition. *Sub-medical Jour of Shahid Beheshti University of Medical Seinces*, **2004**; **6: 319**.(Persian)
- 8- Fakhari A, Salehi P , Heydari R, Nejad Ebrahimi S, Haddad P. Hydrodistillation-headspace solvent microextraction; a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of Chromatography A*, **2005**; **1098(1-2): 14-78**.
- 9-N.S Kim, D.S Lee J. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography–mass spectrometry. *Chromatogr A* **2002**; **982: 31**.
- 10-M Lis-Balchin and S. Studies on the mode of action of the essential oil of Lavender *Lavandula angustifolia*. P Miller, Hart, *Phytother Res.* **1999**; **13: 540**.
- 11-C Ghelardini, N Galeotti, G Salvatore and G Mazzanti. Local Anaesthetic Activity of the Essential Oil of *Lavandula angustifolia*, *Planta Med* **1999**; **65:700**.
- 12-M.J Gamez, J Jimenez, C Navarro and A Zarzuelo. Study of essential oil of *Lavendula dentata* L. *Pharmazie* **1990**; **45: 69**.
- 13- G Buchbauer, L Jirovetz, W Jaeger, H Dietrich, C Plank and E Karamat. Aromatherapy: evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation. *Z Naturforsch. C* **1991**; **46: 1067**.
- 14- Moon T, Jenny M, Wilkinson and Heather M, A Cavanagh. Antiparasitic activity of two *Lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*.*Parasitology Research* **2006** Nov;**99(6):722-728**.
- 15-M.G Evandri, L Battinelli, C Daniele, S Mastrangelo, P Bolle and G Mazzanti. The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. *Food Chem. Toxicol* **2005**; **43: 1381–7**.
- 16-Manosroi P, Dhumtanom and A Manosroi. Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines. *Cancer Lett.* **2006**; **235: 114–20**.
- 17-Valentin A, Pelissier Y, Benoit F, Marion C, Kone D, Mallie M, Bastide JM, Bessiere JM. Composition and antimalarial activity of volatile components of *Lippia multiflora*. *Phytochemistry* **1995**; **40(5):1442–93**.
- 18-Lopes NP, Kato MJ, Andrade EHdeA, Maia JGS, Yoshida M, Planchart AR, Katzin AM . Antimalarial use of volatile oil from leaves of *Viola surinamensis* (Rol.)

Warb. by Waiapi Amazon Indians. J Ethnopharmacol 1999; 67:313–19.

19-Malogoli M, Possi T, Baggio A, Zandomenighi G, Zanca A, Casolari C, Castelli M, In vitro study of

chemotherapeutic activity of sulphimidazole on some sensitive and metronidazole resistance Trichomonas vaginalis strains. Pharmacological Research November, 2002; 46(5): 69-472.

Investigation of Anti Trichomonas Vaginalis Activity of Lavandula angustifolia Essential Oil in Invitro Media

Ezatzpur B^{*1}, Badparva E², Ahmadi Sh³, Rashidipur M⁴, Ziaei H⁵

(Received: 25 Jun, 2008

Accepted: 5 Jan, 2009)

Abstract

Introduction: Trichomoniasis is considered a common inter-sexual disease caused by trichomonas vaginalis parasite all over the world. Thus, considering the increasing reports of its spread as well as its resistance to metronidazole, it seemed necessary to find a possible herbal drug for the case. Accordingly, An In vitro investigation was carried out to determine the anti trichomonas vaginalis activity of essential oil of Lavandula angustifolia which is commonly used in traditional medicine.

Materials & methods: Parasite collection was accomplished by obtaining contaminated soap of vagina from trichomonal women as well as cultivating the Trichomonas Modified CPLM Medium Base (TMCPLM). Identification was done through direct smear. Essential oil was prepared by hydro-distillation; then, the parasites were added to the 10 test-tubes containing TMCPLM, metronidazole, dimethyl sol oxide (DMSO), and essential oil with concentration of (0,1, 0,01, 0,001) to

determine the effects of these concentrations in 15 min. interval times for 6 hours.

Findings: Findings suggested that Trichomonas vaginalis could remain alive in Trichomona Modified CPLM Medium Base for 48 hours, in presence of metronidazole for 2 hours and TMCPLM for 5 hours. Also, the results indicated that essential oils at concentration of 0,1 and 0,01 were effective at the beginning of inoculation as well as at the concentration of 0,001 hours respectively.

Conclusion: The investing authors suggest further investigations to be carried out to check a more exact effect of anti-trichomonas vaginalis activity of Lavandula angustifolia essential oil under In vivo condition to recommend it as a therapeutic medicine, if positive results proved.

Key words: essential oil, Trichomonas vaginalis, Trichomona Modified Medium Base, Lavandula angustifolia

1. Razi Herbal Medicine Research Center, Lorestan University of Medical Science, Khorramabad, Iran (corresponding author)

2. Dept of Parasitology & mycology, Lorestan University of Medical Science, Khorramabad, Iran

3. Agriculture & natural Resource Research Center of Lorestan Province, Khorramabad, Iran

4. Undergraduate Student of Chemistry, Khorramabad Azad University, Khorramabad, Iran

5. Dept of Parasitology & mycology, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, Iran

Scientific Jour of Ilam Med University