

## تأثیر اسانس و عصاره‌های متانولی، اتیل‌استاتی و هگزانی چویل (*Ferulago angulata*) بر تک‌یاخته تریکوموناس واژینالیس در شرایط برون‌تنی

نویسندگان:

مهدی اکبری<sup>۱</sup>، دارا دستان<sup>۲</sup>، محمد فلاح<sup>۱</sup>، محمد متینی<sup>۱\*</sup>

۱- گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران  
 ۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و فرآورده‌های طبیعی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران  
 ۳- گروه فارماکولوژی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.20, No.2, Summer 2022

## چکیده:

**مقدمه:** تریکومونیاژ شایع‌ترین عفونت جنسی غیرویروسی در جهان است که موارد مقاوم به درمان آن در حال افزایش است. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر عصاره‌ها و اسانس چویل (*Ferulago angulata*) بر تریکوموناس واژینالیس بود.

**روش کار:** در این مطالعه عصاره‌های متانولی، اتیل‌استاتی، هگزانی و اسانس اندام هوایی چویل تهیه و حداقل غلظت کشنده (MLC) و درصد ممانعت از رشد (GI%) روی دو ایزوله بالینی تریکوموناس واژینالیس در شرایط هوازی و در مقابل مترونیدازول و کنترل بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت تعیین شد.

**یافته‌ها:** میزان MLC عصاره‌های متانولی، اتیل‌استاتی، هگزانی و اسانس بعد از ۲۴ ساعت به ترتیب برابر ۲۵۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود و میزان MLC عصاره‌های اتیل‌استاتی و هگزانی بعد از ۴۸ ساعت به ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر کاهش یافت. میزان GI% در یک غلظت کمتر از غلظت کشنده برای عصاره‌ها و اسانس بعد از ۲۴ ساعت از ۳۹/۳ تا ۹۳/۲ درصد و بعد از ۴۸ ساعت از ۵۱/۶ تا ۹۵/۱ درصد اندازه‌گیری شد. همچنین میانگین میزان MLC مترونیدازول بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت ۹/۳ و ۴/۶ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه حاضر نشان داد چویل دارای ظرفیت ضد تریکومونیاژی است و بنابراین لازم است پژوهش‌های بیشتری در راستای استخراج و خلص سازی اجزا سازنده اسانس و عصاره‌های آن انجام شود تا با آزمایش‌های تکمیلی در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی روی آن‌ها، امکان قضاوت دقیق‌تری در رابطه با توان ضد میکروبی و ظرفیت استفاده از این گیاه میسر شود.

واژگان کلیدی: چویل، تریکوموناس واژینالیس، عصاره، اسانس

Pars J Med Sci 2022;20(2):62-69

## مقدمه:

۳۸ درصد نیز گزارش شده است. علائم تریکومونیاژ اغلب در زنان مشاهده می‌شود که همراه با واژینیت و علائمی مانند ترشحات کف‌آلود و بدبو، خارش، سوزش، مقاربت دردناک و عوارضی همچون پارگی زودرس کیسه آب، زایمان زودرس و ناباروری است. عفونت در مردان اغلب بدون علامت بوده، اما در مواردی علائم اورتریت، اپیدیدیمیت و عوارضی همچون عقبی موقت ممکن است مشاهده شود [۱-۳].

تریکوموناس واژینالیس تک‌یاخته‌ای تاژکدار است که در انسان باعث ایجاد یکی از عفونت‌های مقاربتی شایع غیرویروسی در جهان به نام تریکومونیاژ ادراری-تناسلی می‌شود. طبق برآورد سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۶ میلادی، از ۳۷۶/۴ میلیون مورد عفونت جنسی در جهان تعداد ۱۵۶ میلیون آن مربوط به تریکومونیاژ بوده است و شیوع آن در زنان (۵/۳ درصد) بیش از مردان (۰/۶ درصد) است. در ایران نیز شیوع این عفونت به طور متوسط ۸ درصد و در بعضی گروه‌های خاص از جامعه تا بیش از

\* نویسنده مسئول، نشانی: گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

پست الکترونیک: matini@umsha.ac.ir

تلفن تماس: ۰۸۱۳۸۳۸۰۴۶۲

پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۵

اصلاح: ۱۴۰۱/۰۹/۱۲

دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۱

آزمایشگاه تحقیقاتی گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان استفاده شد. پس از خروج انگل‌ها از فریزر  $70^{\circ}\text{C}$ ، در محیط کشت TYI-S-33 کشت داده شدند و پس از چندین پاساژ در زمان‌های ۴۸ ساعت یک بار، در مرحله رشد لگاریتمی برای بررسی تأثیر ترکیبات گیاهی در مقابل مترونیدازول مورد استفاده قرار گرفتند [۱۳].

### تهیه اسانس، عصاره و مترونیدازول

به منظور تهیه اسانس و عصاره، ابتدا چویل از رویشگاه طبیعی خود در استان کرمانشاه در شهرستان سرپل ذهاب جمع‌آوری و پس از تأیید گونه، در سایه خشک شد. برای تهیه عصاره از روش خیساندن (Maceration) استفاده شد. ابتدا اندام‌های هوایی گیاه شامل برگ و ساقه آن پودر شد و به میزان ۱۰۰ گرم از آن در ۵۰۰ میلی‌لیتر از حلال‌های هگزان، اتیل استات و متانول خیسانده و به مدت ۷۲ ساعت روی شیکر قرار داده شد. سپس محلول حاصل از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ عبور داده شد و برای تغلیظ آن در دستگاه تبخیر کننده دوار (LABORO TA 4000, Heidolph- Germany) در دمای  $40^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد و عصاره حاصل تا زمان استفاده در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  ذخیره شد [۱۴]. به منظور تهیه اسانس نیز ۱۰۰ گرم از پودر اندام‌های هوایی چویل در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و تقطیر با استفاده از دستگاه کلونجر (ایران- فناوری ایرانیان، G-CJ) طی سه ساعت انجام شد. برای آگیری آن از سولفات روی استفاده شد و اسانس حاصل نیز به دور از نور در یخچال تا زمان استفاده، نگهداری شد [۱۵]. پودر مترونیدازول تهیه شده از شرکت سیگما (M3761-5G) برای تهیه محلول مترونیدازول استفاده شد. ابتدا به مقدار لازم از پودر در آب مقطر حل و با فیلتر سرنگی با منافذ  $0.22$  میکرون سترون و غلظت‌های مورد نیاز در محیط کشت TYI-S-33 به روش رقیق سازی متوالی تهیه شد تا در نهایت غلظت‌های  $0.1$  تا  $400 \mu\text{g/ml}$  به دست آمد.

### انجام آزمایش و تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور تعیین حداقل غلظت کشنده یا MLC (Minimum Lethal Concentration) ترکیبات مورد آزمایش از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای سترون استفاده شد. برای این کار، ابتدا اسانس و عصاره‌ها به مقدار لازم در دی‌متیل سولفوکساید (DMSO, D2650 SIGMA, BioReagent) و در ادامه در محیط کشت TYI-S-33 حل شد و به میزان  $100 \mu\text{l}$  در چاهک‌های آزمون ریخته و بعد به روش رقیق سازی متوالی با محیط کشت در چاهک‌های آزمون، رقیق شد. سپس میزان  $100 \mu\text{l}$  محیط کشت حاوی انگل ( $2 \times 10^5 / \text{ml}$  تروفوزوئیت) نیز به چاهک‌های

مترونیدازول از سال ۱۹۶۱ تاکنون داروی انتخابی برای درمان تریکومونیاز بوده که علاوه بر داشتن عوارض جانبی، مواردی از شکست درمانی با این دارو نیز گزارش شده است. طبق گزارش مرکز پیشگیری و کنترل بیماری‌ها در ایالات متحده آمریکا حدود ۲ تا ۵ درصد تریکوموناس‌های جدا شده از افراد آلوده، مقداری مقاومت به مترونیدازول دارند [۴، ۵]. همچنین بعضی مطالعات میزان مقاومت ایزوله‌های انگل را بالاتر ( $9/6$  درصد) گزارش کرده‌اند که برای درمان تریکومونیاز مقاوم به درمان، نیاز به تکرار درمان و افزایش دز دارو است. مصرف مترونیدازول در بعضی از بیماران با عدم تحمل و عوارض جانبی همچون سردرد، خشکی دهان، طعم فلزی در دهان و کپیر همراه بوده و همچنین تجویز آن در سه ماه اول بارداری ممنوع است [۶، ۷]. بنابراین، استفاده از ترکیبات دارویی جدید با اثربخشی بالا و سمیت کمتر برای درمان این عفونت ضروری است.

گیاهان از دیرباز به دلیل کمتر بودن عوارض جانبی، در دسترس تر بودن، اقتصادی‌تر بودن، پذیرش بهتر توسط بیماران و سازگاری بیشتر با عملکرد فیزیولوژیک بدن انسان، به طور گسترده برای درمان بسیاری از بیماری‌ها به کار رفته‌اند. گیاه چویل با نام علمی *Ferulago angulata* متعلق به تیره چتریان یکی از گیاهان با ارزش و بومی غرب ایران است که از گذشته به عنوان مسکن، هضم کننده و درمان عفونت‌های روده‌ای کرمی و همچنین هموروئید استفاده می‌شده است. این گیاه علاوه بر ایران در کشورهای ترکیه، سوریه، لبنان و عراق نیز می‌روید. اسانس گیاه چویل دارای  $43/33$  درصد سیس-اسیمن،  $12/18$  درصد آلفاپینن،  $15/61$  درصد میرسن و  $3/24$  درصد پاراسمین می‌باشد. ترکیبات فنلی کارواکول و تیمول که در چویل وجود دارند، دارای خاصیت ضد میکروبی هستند. همچنین اثر ضد مالاریایی عصاره چویل در موش سوری و در مقایسه با کلروکین نشان داده شده است [۸-۱۲]. بنابراین، با توجه شواهدی دال بر توانایی ضد میکروبی چویل و همچنین نبود مطالعه‌ای در خصوص اثرات ضدتریکومونایی آن، در مطالعه حاضر اثربخشی اسانس و عصاره‌های متانولی، اتیل استاتی و هگزان این گیاه در شرایط آزمایشگاهی روی تریکوموناس واژینالیس مورد ارزیابی قرار گرفت.

### روش کار:

#### نوع مطالعه و آماده سازی انگل

مطالعه حاضر از نوع تجربی-آزمایشگاهی بوده که در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی همدان با شناسه اخلاق IR.UMSHA.REC.1396.885 به تصویب رسیده است. در این مطالعه از دو ایزوله بالینی تریکوموناس واژینالیس تهیه شده از

گیاهی و دایری منتقل و کشت داده شد و تا ۱۰ روز روزانه با میکروسکوپ معکوس برای مشاهده رشد انگل‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ به کمک آزمون ناپارامتریک فریدمن در سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده شد.

### یافته‌ها:

نتایج حاصل از آزمایش تعیین حساسیت نشان داد اسانس و انواع عصاره‌های چویل دارای خاصیت ضد تک‌یاخته‌ای بوده، بر تریکوموناس واژینالیس موثر هستند و در غلظت‌های مختلف باعث مرگ و یا ممانعت از رشد انگل در محیط آزمایش می‌شوند. نتایج حداقل غلظت کشنده ترکیبات گیاهی مورد آزمایش با کسب نتیجه منفی کشت انگل‌های مواجهه یافته در محیط کشت تازه بدون عصاره و اسانس به تأیید رسید. بیشترین تأثیر بعد از ۴۸ ساعت، مربوط به عصاره هگزانی چویل با MLC برابر ۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و کمترین تأثیر مربوط به اسانس آن (۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) بود (جدول ۱). میزان تأثیر عصاره‌ها و اسانس روی دو ایزوله تریکوموناس مورد آزمایش یکسان به دست آمد و هر دو ایزوله به مترونیدازول به میزان متفاوتی حساس بودند (جدول ۱). درصد ممانعت از رشد انواع عصاره و اسانس چویل و مترونیدازول در یک غلظت کمتر از غلظت کشنده (Sub-MLC) بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت مواجهه با انگل، در نمودار شماره ۱ و ۲ ارائه شده است.

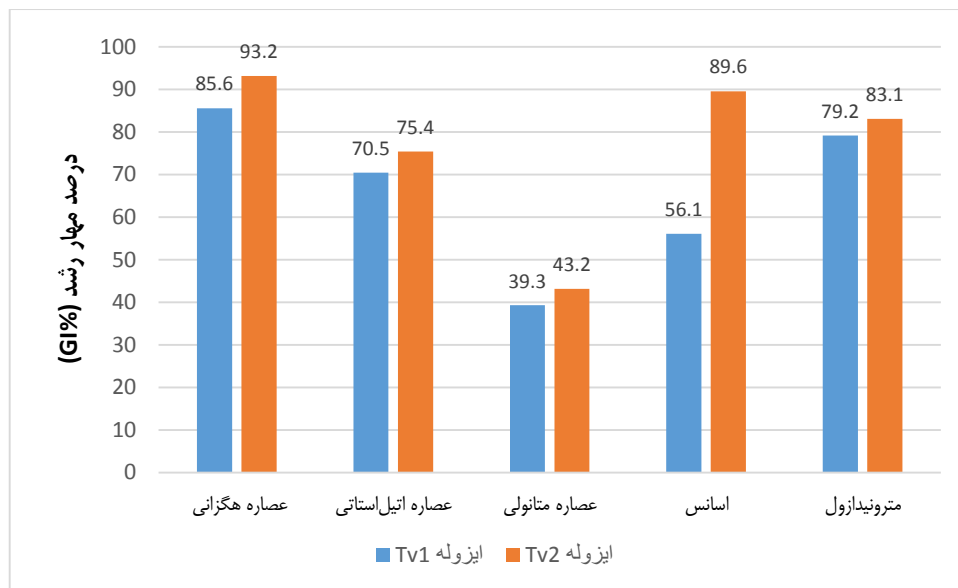
آزمون افزوده شد تا در نهایت غلظت‌های ۲۰۰۰، ۴۰۰۰  $\mu\text{g/ml}$  و ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲ و تعداد انگل مورد نیاز ( $1 \times 10^5 / \text{ml}$  تروفوزوئیت) در چاهک‌های آزمون به دست آمد. میکروپلیت‌های در دمای  $37^\circ\text{C}$  و در شرایط هوازی قرار داده شدند و بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت به وسیله میکروسکوپ معکوس مورد بررسی قرار گرفتند [۱۶]. کمترین غلظتی از ترکیبات که موجب از حرکت افتادن و تخریب سلول‌های انگلی شده بود، به عنوان MLC در نظر گرفت شد. به منظور تأیید مرگ تریکومونادها در چاهک MLC، به میزان  $100 \mu\text{l}$  از محتوی چاهک فوق به یک لوله حاوی محیط کشت تازه TYI-S-33 که عاری از هر گونه دارو یا ترکیبات گیاهی بود، منتقل شد و روزانه با میکروسکوپ معکوس تا ۱۰ روز مورد رصد قرار گرفت [۱۶، ۱۷]. همچنین میزان درصد ممانعت از رشد یا GI% (Growth Inhibitory percent) در یک غلظت کمتر از MLC (Sub-MLC) از طریق شمارش سلول‌های انگلی در چاهک Sub-MLC و چاهک شاهد، بر اساس فرمول زیر تعیین شد [۱۸].

$$\text{GI}\% = \frac{\text{میانگین تعداد انگل زنده در چاهک Sub-MLC} - \text{میانگین تعداد انگل زنده در چاهک شاهد منفی}}{\text{میانگین تعداد انگل زنده در چاهک شاهد منفی}} \times 100$$

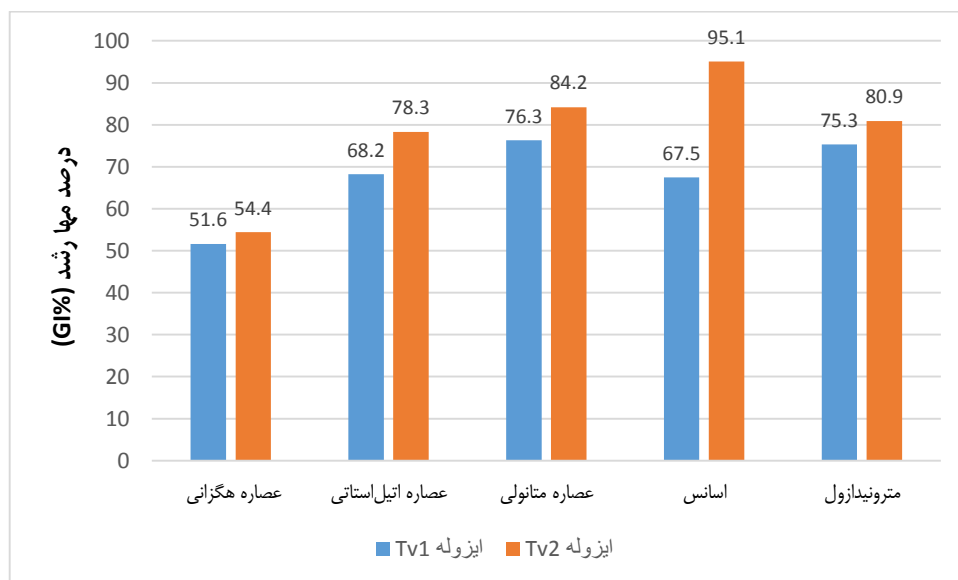
آزمایش‌ها در مقابل شاهد منفی (عاری از هرگونه ترکیب گیاهی)، شاهد مثبت (حاوی مترونیدازول) و شاهد حلال (DMSO) به صورت دوتایی و دو مرتبه انجام شد. همچنین برای تأیید اثر کشندگی ترکیبات گیاهی، تریکوموناس‌های موجود در چاهک MLC به لوله‌های حاوی محیط کشت تازه فاقد هرگونه ترکیب

جدول ۱: حداقل غلظت کشنده (MLC) اسانس و انواع عصاره چویل و مترونیدازول بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت مواجهه با تریکوموناس واژینالیس

P value	ایزوله Tv2			عصاره، اسانس و دارو	زمان مواجهه
	میانگین MLC ( $\mu\text{g/ml}$ )	ایزوله Tv1	ایزوله Tv2		
۰/۰۰۴	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	عصاره هگزانی	۲۴ ساعت
	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	عصاره اتیل استاتی	
	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	عصاره متانولی	
	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	اسانس	
۰/۰۰۱	۹/۳	۱۲/۵	۶/۲	مترونیدازول	۴۸ ساعت
	۱۲۵	۱۲۵	۱۲۵	عصاره هگزانی	
	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	عصاره اتیل استاتی	
	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	عصاره متانولی	
	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	اسانس	
	۴/۶	۶/۲	۳/۱	مترونیدازول	



نمودار ۱: درصد ممانعت از رشد عصاره و اسانس چویل و مترونیدازول در یک غلظت کمتر از حداقل غلظت کشنده، بعد از ۲۴ ساعت مواجه با تریکوموناس واژینالیس



نمودار ۲: درصد ممانعت از رشد عصاره و اسانس چویل و مترونیدازول در یک غلظت کمتر از حداقل غلظت کشنده، بعد از ۴۸ ساعت مواجه با تریکوموناس واژینالیس

## بحث:

سال ۱۹۶۲ مواردی از مقاومت به درمان در خصوص آن گزارش شده است. این گزارش‌ها در حال افزایش بوده به طوری که بعضی از پژوهشگران میزان تریکومونیا مقاوم به درمان را در ایالات متحده تا ۱۰ درصد نیز برآورد کرده‌اند [۱۹]. علاوه بر مترونیدازول سایر ترکیبات مشابه از گروه نیتروایمیدازول‌ها نیز بر تریکوموناس واژینالیس موثر هستند و تینیدازول در سال‌های اخیر در ایالات متحده آمریکا برای درمان تریکومونیا، مجوز مصرف گرفته است، اما با توجه به نحوه تأثیر مشابه این گروه از داروها، مقاومت متقاطع کم و بیش در آن‌ها مشاهده می‌شود.

افزایش مقاومت دارویی به آنتی‌بیوتیک‌ها در عوامل بیماری‌زا به عنوان یک مسئله مهم و نگران کننده بهداشتی، پیوسته ذهن پژوهشگران و متولیان امور بهداشتی را به خود مشغول داشته است و این مسئله یک تهدید بالقوه برای سلامت و بهداشت جامعه محسوب می‌شود. هرچند مسئله مقاومت دارویی در عفونت‌های انگلی کمتر از عفونت‌های باکتریایی مطرح است، اما در عفونت‌های تک‌یاخته‌ای و به خصوص بیماری‌هایی مانند مالاریا از اهمیت بهداشتی زیادی برخوردار است [۱۰]. مترونیدازول از سال ۱۹۶۱ تاکنون به عنوان داروی انتخابی برای درمان تریکومونیا مطرح بوده و از همان اوایل استفاده از آن در

بیابانی به نام‌های umbelliprenin و auraptene دارای فعالیت ضد لیشمانیایی بوده و این ترکیبات قادر بودند به ترتیب در غلظت‌های ۴/۹ و ۵/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۵۰ درصد از رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور در محیط کشت را مهار کنند [۲۱]. اسانس چویل حاوی ترکیبات ترپنی نیز است. مطالعه انجام شده توسط حضرتی و همکاران نشان داد بیشترین ترکیبات ترپنی جدا شده از گونه چویل جمع‌آوری شده از سپیدان استان فارس شامل آلفا - پینن، لیمونن، لینانول و سابینن است [۲۲] که فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات در سایر مطالعات تأیید شده است. مطالعه انجام شده توسط سیلوا و همکاران نیز نشان داد آلفا - پینن و بتا - پینن روی انواعی از باکتری‌ها و مخمرها موثر بوده و در طیف ۱۷۷ تا ۴۱۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر دارای فعالیت مهارکنندگی از رشد هستند، به طوری که بیشترین تأثیر را روی گونه کاندیدا آلبیکنس داشته و طی ۶۰ دقیقه باعث مرگ همه مخمرها می‌شود [۲۳].

از مطالعات انجام شده در زمینه اثر ضدتریکومونایی گیاهان دارویی کشور می‌توان به بررسی‌های انجام شده روی فراسیون سفید (*Marrubium vulgare*) و رازیانه (*Foeniculum vulgare*) اشاره کرد. در مطالعه اکبری و همکاران روی فراسیون سفید مشخص شد بیشترین و کمترین تأثیر ترکیبات این گیاه بر تریکوموناس به ترتیب مربوط به اسانس و عصاره هگزانی آن به میزان ۲۹۱ و ۱۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر است که بعد از ۴۸ ساعت مواجهه قادر به کشتن همه انگل‌ها بودند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که فراسیون سفید نسبت به چویل فعالیت ضدتریکومونایی کمتری دارد [۲۴]. تأثیر رازیانه بر تریکوموناس نیز کمتر از چویل گزارش شده است، به طوری که در مطالعه کرمی و همکاران اسانس رازیانه در غلظت ۱۶۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و عصاره‌های هگزانی و متانولی آن در غلظت ۳۶۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، تمام تروفوزوئیت‌های تریکوموناس مواجهه یافته را از بین می‌برند. همچنین در این مطالعه در یک غلظت کمتر از حداقل غلظت کشنده، ترکیبات مذکور قادر بودند بین ۹۲/۸ تا ۹۶/۶ درصد رشد انگل را مهار کنند [۲۵]. از سایر مطالعات انجام شده می‌توان به نتایج پژوهش محمودوند و همکاران روی عصاره متانولی بلوط داروماز (*Quercus infectoria*، مرزه خوزستانی (*Satureja khuzestanica*) و پسته وحشی (*Pistacia khinjuk*) اشاره کرد. در این مطالعه حداقل غلظت ۵۰ درصد مهارکننده رشد (IC50) بعد از ۴۸ ساعت به ترتیب برابر ۳/۴، ۵/۱ و ۲۶/۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در برابر مترونیدازول (IC50=0.09 µg/ml) به دست آمد. همچنین بررسی فعالیت آپوتوزی عصاره‌ها نشان داد که بلوط داروماز به طور معناداری بیش از دو گونه دیگر باعث القا آپوتوز در سلول‌های

نتایج مطالعه حاضر که روی ظرفیت ضد تک‌یاخته‌ای چویل انجام شد نشان داد که این گیاه دارویی ظرفیت و خواص ضد تریکومونایی داشته و بر رشد و نمو و حیات تریکوموناس واژینالیس موثر است. تأثیر این گیاه وابسته به غلظت ترکیب و همچنین وابسته به زمان مواجهه دارد. انواع عصاره و اسانس استخراج شده از چویل از غلظت ۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر (عصاره هگزانی) تا حداکثر ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (اسانس) توانایی کشتن همه انگل‌های مواجهه یافته با ترکیبات مورد آزمایش را داشتند و در غلظت‌های پایین‌تر نیز می‌توانستند مقداری از رشد انگل را مهار کنند. همان‌طور که گفته شد، بیشترین تأثیر ضد تریکومونایی مشاهده شده در این مطالعه مربوط به عصاره هگزانی چویل بود. با توجه به حلال‌های مورد استفاده در این پژوهش که از طیف قطبی تا غیرقطبی را شامل می‌شد، مشاهده بیشترین تأثیر ضد انگلی در عصاره هگزانی احتمالاً دال بر وجود میزان بیشتری از ترکیبات زیست فعال قطبی دارای خواص ضد میکروبی در عصاره هگزانی این گیاه می‌باشد. همچنین ایزوله‌های تریکوموناس استفاده شده در این پژوهش به داروی مترونیدازول حساس بوده و میانگین حداقل غلظت کشنده آن‌ها بین ۹/۳ تا ۴/۶ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. مقایسه نتایج حاصل از آزمایش ترکیبات گیاهی با مترونیدازول از نظر آماری اختلاف معناداری را نشان داد، اما با توجه به این که مترونیدازول یک ماده پادزی شیمیایی با درجه خلوص بالا و اثر ضد میکروبی قوی و شناخته شده بوده و در مقابل ترکیبات خام گیاهی حاوی مجموعه‌ای از اجزا متنوع با تأثیرات زیستی ناشناخته می‌باشد، با این وجود اثر ضدتریکومونایی ترکیبات خام چویل قابل ملاحظه است و حاکی از وجود اجزائی در آن‌ها است که دارای فعالیت زیستی ضد میکروبی هستند. ریشه و اندام‌های هوایی چویل سرشار از کومارین‌ها و مشتقات آن‌ها می‌باشند که این ترکیبات نیز از متابولیت‌های ثانویه مهم و از گروه ترکیبات فنلی هستند. علاوه بر کومارین‌ها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و سایر متابولیت‌ها نیز جزء متابولیت‌های غیرفرار این گونه گیاهی محسوب می‌شوند [۲۰]. بنابراین، فعالیت ضدتریکومونایی عصاره‌های چویل را می‌توان به فعالیت ضد میکروبی متابولیت‌های فوق از جمله کومارین‌ها مرتبط دانست.

در مطالعه انجام شده توسط سجادی و همکاران در مدل حیوانی، فعالیت ضد پلاسمودیومی چویل علیه پلاسمودیوم برگه‌ای در موش نشان داده شد. در این مطالعه به طور معناداری استفاده از عصاره هیدروالکی چویل باعث کاهش پارازیتمی و افزایش زمان بقا موش‌های آلوده در برابر شاهد منفی شد [۱۰]. در پژوهش دیگری که توسط ایرانشاهی و همکاران انجام شد، مشتقات کومارینی استخراج شده از گونه *Ferula szowitsiana* یا کمای

برون تنی را دارند. بنابراین، لازم است با طراحی پژوهش‌های کامل‌تر در زمینه استخراج و خالص‌سازی اجزا سازنده این ترکیبات و بررسی فعالیت ضدتریکومونایی آن‌ها در محیط‌های برون تنی و درون تنی، قضاوت صحیح‌تری در رابطه با توان ضد تک‌یاخته‌ای این گیاه و امکان بهره‌مندی از آن به عنوان یک پادزیست با منشا گیاهی انجام داد.

### تشکر و قدردانی:

این مقاله منتج از پایان‌نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد در دانشگاه علوم پزشکی همدان به شماره طرح ۹۶۱۲۱۵۸۱۹۶ است. بدین وسیله از حمایت مالی و معنوی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان تشکر و قدردانی می‌شود.

### تعارض منافع:

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ تضاد منافی برای افشا ندارند.

انگلی تریکوموناس واژینالیس می‌شود [۲۶]. در مطالعه مروری انجام شده توسط هزارجریبی و همکاران روی تاثیر ضد تریکومونایی ۲۶ گونه گیاهی ایران، گونه‌های درمنه (*Artemisia*)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) تاثیرات قابل توجهی نسبت به سایر گیاهان مورد بررسی روی تریکوموناس واژینالیس داشتند و در بین این سه گونه ظرفیت ضد انگلی اسطوخودوس (IC<sub>50</sub> = 0.0015 μg/mL) شاخص تر بود [۲۷].

در خاتمه بحث باید اضافه کرد که در تحلیل و مقایسه توانایی و قدرت ضد میکروبی گیاهان باید به تفاوت در حساسیت ایزوله‌های انگلی مختلف استفاده شده و همچنین به روش تهیه ترکیبات گیاهی، شرایط آزمایش، کشت انگل، نحوه گزارش دهی و سایر شرایط حاکم بر پژوهش توجه خاص داشت.

### نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره‌های خام و اسانس چوبیل توانایی کشتن و ممانعت از رشد تریکوموناس واژینالیس در شرایط

## References:

- Schwebke JR, Burgess D. Trichomoniasis. Clin Microbiol Rev 2004; 17(4): 794-803.
- Rowley J, Vander Hoorn S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, et al. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. Bull World Health Organ 2019; 97(8): 548-562P.
- Hezarjaribi HZ, Fakhar M, Shokri A, Teshnizi SH, Sadough A, Taghavi M. *Trichomonas vaginalis* infection among Iranian general population of women: a systematic review and meta-analysis. Parasitol Res 2015; 114(4): 1291-300.
- Schmid G, Narcisi E, Mosure D, Secor WE, Higgins J, Moreno H. Prevalence of metronidazole resistant *Trichomonas vaginalis* in a gynecology clinic. J Reprod Med 2001; 46: 545-9.
- Workowski KA, Berman SM. Centers for disease control and prevention sexually transmitted disease treatment guidelines. Clin Infect Dis 2011; 53: S59-S63.
- Hawkins I, Carne C, Sonnex C, Carmichael A. Successful treatment of refractory *Trichomonas vaginalis* infection using intravenous metronidazole. International journal of STD & AIDS 2015; 26(9): 676-8.
- Schwebke JR, Barrientes FJ. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* isolates with resistance to metronidazole and tinidazole. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(12): 4209-10.
- Ghasemi Y, Faridi P, Mehregan I, Mohagheghzadeh A. Ferula gummosa fruits: an aromatic antimicrobial agent. Chem Nat Compd 2005; 41(3): 311-4.
- Taran M, Ghasempour HR, Shirinpour E. Antimicrobial activity of essential oils of *Ferulago angulata* subsp. *carduchorum*. Jundishapur J Microbiol 2010; 3(2): 10-4.
- Sajjadi SE, Pestechian N, Kazemi M, Mohaghegh MA, Hosseini-Safa A. Evaluation of the Antimalarial Effect of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss. Extract and Suberosin Epoxide Against *Plasmodium berghei* in Comparison with Chloroquine Using in-vivo Test. Iran J Pharm Res. 2016; 15(3): 515-521.
- Yasser Shahbazi, Nassim Shavisi, Negin Karami, Shabnam Kakaie. Chemical Composition and in Vitro Antibacterial Activity of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss Essential Oil. Pharm Sci 2015; 21:6-11.
- Ghasemi Pirbalouti A, Izadi A, Malek Poor F, Hamed B. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from *Ferulago angulata*. Pharm Biol 2016; 54(11): 2515-2520.
- Clark CG, Diamond LS. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. Clin Microbiol Rev 2002; 15(3): 329-41.
- Ghahremanimajd H, Dashti F, Dastan D, Mumivand H, Hadian J, Esnaashari M. antioxidant and antimicrobial activities of Iranian mooseer *Allium hirtifolium* boiss populations. Hort Environ Biotechnol 2012; 53: 116-22.
- Dastan D, Salehi P, Maroofi H. Chemical composition antioxidant, and antimicrobial activities on *Laserpitium carduchorum* hedge and Lamond essential oil and extracts during various growing stages. Chem Biodive 2016; 13: 1397-403.
- Matini M, Maghsood AH, Mohebbi M, Rabiee S, Fallah M, Rezaie S, et al. In Vitro Susceptibility of Iranian Isolates of *Trichomonas vaginalis* to Metronidazole. Iran J Parasitol 2016; 11(1): 46-51.



17. Dunne RL, Dunn LA, Upcroft P, Odonoghue PJ, Upcroft JA. Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. Cell Res 2003;13: 239-249.
18. Akbari M, Dastan D, Fallah M, Matini M. In-vitro Activity of *Ferula gummosa* Essential Oil and Its Different Extracts on *Trichomonas vaginalis*. sjimu 2019; 27(2): 1-10.
19. 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.
20. Badalamenti N, Iardi V, Rosselli S, Bruno M. The ethnobotany, phytochemistry and biological properties of genus *Ferulago* - A review. J Ethnopharmacol 2021; 274: 114050.
21. Iranshahi M, Arfa P, Ramezani M, Jaafari MR, Sadeghian H, Bassarello C, Piacente S, Pizza C. Sesquiterpene coumarins from *Ferula szowitsiana* and in vitro antileishmanial activity of 7-prenyloxycoumarins against promastigotes. Phytochemistry 2007; 68(4): 554-61.
22. Hazrati S, Ebadi MT, Mollaei S, Khurizadeh S. 2019. Evaluation of volatile and phenolic compounds, and antioxidant activity of different parts of *Ferulago angulata* (schlecht.) Boiss. Ind Crops Prod 140 (111589): 111589.
23. Rivas da Silva AC, Lopes PM, Barros de Azevedo MM, Costa DC, Alviano CS, Alviano DS. Biological activities of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene enantiomers. Molecules 2012 25; 17(6): 6305-16.
24. Akbari Z, Dastan D, Maghsood A H, Fallah M, Matini M. Investigation of *In vitro* Efficacy of *Marrubium vulgare* L. Essential Oil and Extracts Against *Trichomonas vaginalis*. Zahedan J Res Med Sci 2018; 20(9): e67003.
25. Karami F, Dastan D, Fallah M, Matini M. In Vitro Activity of *Foeniculum vulgare* and Its Main Essential Oil Component Trans-Anethole on *Trichomonas vaginalis*. Iran J Parasitol 2019; 14(4): 631-638.
26. Mahmoudvand H, Badparva E, Baharvand Z, Salehi Lalehmarzi H. Anti-*Trichomonas vaginalis* activities and apoptotic effects of some Iranian medicinal plants. Trop Biomed. 2018; 35(2): 347-353.
27. Ziaei Hezarjaribi H, Nadeali N, Fakhar M, Soosaraei M. Medicinal Plants with Anti-*Trichomonas vaginalis* Activity in Iran: A Systematic Review. Iran J Parasitol 2019; 14(1): 1-9.

## In vitro effect of essential oil and methanol, ethyl acetate and hexane extracts of *Ferulago angulata* on *Trichomonas vaginalis* protozoan

Mehdi Akbari<sup>1</sup>, Dara Dastan<sup>2,3</sup>, Mohammad Fallah<sup>1</sup>, Mohammad Matini\*<sup>1</sup>

Received: 2022.05.22

Revised: 20209.12

Accepted: 2022.12.06

1. Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
2. Medicinal Plants and Natural Products Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
3. Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.20, No.2, Summer 2022

Pars J Med Sci 2022;20(2):62-69

### Abstract:

#### Introduction:

Trichomoniasis is the most common non-viral sexually transmitted infection in the world, with resistant cases spreading. The aim of this study was to evaluate the effect of *Ferulago angulata* extracts and essential oil on *Trichomonas vaginalis* protozoan.

#### Materials and Methods:

In this study, methanol, ethyl acetate and hexane extracts and essential oil of *F. angulata* aerial parts were prepared and tested to determine the minimum lethal concentration (MLC) and the percentage of growth inhibition (GI%). The tests were carried out on two clinical isolates of *T. vaginalis* under aerobic conditions and against metronidazole and control. The tests were surveyed after 24 and 48 hours of incubation.

#### Results:

After 24 hours, the MLC of methanol, ethyl acetate and hexane extracts and essential oil were 250, 500, 250 and 500 µg/ml, respectively. The MLC of ethyl acetate and hexane extracts were reduced to 250 and 125 µg/ml, after 48 hours. GI% at Sub-MLC for extracts and essential oils were 24.3% to 93.2%, after 24 hours, and from 51.6% to 95.1% after 48 hours. Also, the mean MLCs of metronidazole after 24 and 48 hours were 9.3 and 4.6 µg/ml.

#### Conclusion:

The results of this study showed that *F. angulata* has anti-trichomonal potential. Thus, more investigations it is necessary to purify the constituents of essential oil and extracts. Further in vitro and in vivo experiments will clarify the antimicrobial potential of the plant to make a more correct judgment.

**Keywords:** *Ferulago angulata*, *Trichomonas vaginalis*, extract, essential oil

\* Corresponding author Email: matini@umsha.ac.ir