مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۶۶/هفته چهارم بهمن ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۲۱

بررسی اثر فراکسیون‌های مختلف گیاه بنفشه‌ی معطر بر تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت

لیلا صالحی[۱]، دکتر غلامرضا اصغری[۲]، حسینعلی یوسفی[۳]، دکتر حسین یوسفی دارانی[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: تریکومونیازیس یک بیماری عفونی بسیار شایع می‌باشد که از راه جنسی انتقال می‌یابد. عامل این بیماری یک انگل تک یاخته به نام تریکوموناس واژینالیس می‌باشد. در حال حاضر، در بسیاری از کشورها مترونیدازول با وجود عوارض جانبی گسترده تنها داروی تأیید شده برای درمان این عفونت می‌باشد. اثر گیاه بنفشه‌ی معطر بر روی چندین انگل در مطالعات گذشته اثبات شده است. در پی تلاش برای پیدا کردن یک داروی جایگزین، در این تحقیق اثر فراکسیون‌های مختلف این گیاه بر روی تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت بررسی شد.

روش‌ها: چهار فراکسیون مختلف از برگ، گل و ریشه‌ی گیاه بنفشه‌ی معطر شامل دی اتیل اتر، اتیل استات، فراکسیون آبی و تام تهیه شد. فراکسیون‌ها به وسیله‌ی روتاری خشک شدند و برای انجام آزمایش‌های ضد تریکوموناسی مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: عصاره‌ی تام برگ، گل و ریشه‌ی بنفشه‌ی معطر به ترتیب در غلظت‌های ۴، ۴ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۱۰۰ درصد مهار رشد انگل در ۲۴ ساعت اول را نشان دادند. فراکسیون دی اتیل اتری برگ، گل و ریشه در غلظت ۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سبب ۱۰۰ درصد مهار رشد انگل در طی ۲۴ ساعت شد. فراکسیون اتیل استات گل، برگ و ریشه، ۱۰۰ درصد مهار رشد را به ترتیب در غلظت‌های حداقل ۲۵، ۲۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد. همچنین فراکسیون آبی برگ، گل و ریشه به ترتیب در غلظت‌های ۵، ۳ و ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در ۲۴ ساعت اول ۱۰۰ درصد مهار رشد انگل را نشان داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده، گیاه بنفشه‌ی معطر اثر ضد تریکومونایی خوبی دارد و می‌توان برای تهیه‌ی داروی جایگزین از این گیاه استفاده کرد. برای تأیید نتایج، انجام مطالعات بیشتر ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: بنفشه‌ی معطر، فراکسیون، تریکوموناس واژینالیس

ارجاع: صالحی لیلا، اصغری غلامرضا، یوسفی حسینعلی، یوسفی دارانی حسین. **بررسی اثر فراکسیون‌های مختلف گیاه بنفشه‌ی معطر بر تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۶۶): ۲۱۴۸-۲۱۳۹

مقدمه

تریکومونیازیس یک عفونت قابل انتقال از راه جنسی و عامل اصلی واژینیت در زنان می‌باشد (۱). ۲۰ درصد زنان مبتلا به این عفونت، سرویکس یا واژنی شبیه به توت فرنگی دارند (۴-۲). از طرفی این انگل در مردان باعث ۱۱ درصد از تمامی موارد اورتریت

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای داروسازی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.
۱- دانشجوی داروسازی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- مربی، گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری و گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حسین یوسفی دارانی
Email: yousofi@med.mui.ac.ir

غیر گنوره‌ای، پروستاتیت، اپیدیدیمیتیس و ناباروری می‌گردد (۱). تریکومونیازیس می‌تواند خطر ابتلا به سایر عفونت‌های منتقل شده از طریق فعالیت‌های جنسی را افزایش دهد. امروزه اعتقاد بر این است که تریکوموناس واژینالیس با از بین بردن پروتئازهای ترشحی گلبول‌های سفید، باعث افزایش خطر ابتلا به بیماری ایدز می‌گردد (۵). تریکومونیازیس در خانم‌ها عوارضی مانند زایمان زودرس، تولد نوزادانی با وزن کم و نازایی برگشت پذیر به علت تولید ترشحات سمی و مهار تحریک اسپرم را به دنبال دارد. همچنین ارتباطی بین بیماری‌های التهابی لگن و سرطان رحم در صورت آلودگی به تریکوموناس واژینالیس گزارش گردیده است (۵). همچنین گزارش شده است که وجود تریکوموناس واژینالیس در مسیر ادراری، لوله‌های فالوپ و پلویس می‌تواند سبب برونشیت و زخم‌های دهانی شود (۶).

اصلی‌ترین دارو در درمان تریکومونیازیس مترونیدازول است. امروزه گزارش‌های فراوانی مبنی برشیوع مقاومت و همچنین عوارضی چون طعم فلزی، تهوع، نوتروپنی زودگذر، نوروپاتی محیطی، واکنش شبه دی سولفیرام و تداخل با وارفارین سبب شده است تلاش‌هایی برای یافتن داروی جایگزین انجام گیرد (۱۰-۷).

بنفشه‌ی معطر متعلق به خانواده‌ی ویولاسه می‌باشد (۱۱). ترکیباتی از جمله گلیکوزیدهای فنولیک، Violutoside ،Aulthering، فلاونوئید، ادوروتین و ویولین در گیاه وجود دارد (۱۳-۱۲). ویولین به عنوان یک ترکیب قی‌آور در تمام بخش‌های گیاه وجود دارد. ریشه‌ی گیاه در دوزهای بالا به عنوان قی‌آور و جوشانده‌ی آن به عنوان لاکساتیو ملایم استفاده می‌شود. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که گلیکوزیدهای سالیسیلیک اسید در برگ‌های گیاه سبب اثرات ضد درد گیاه می‌شود. شربت تشکیل شده از گل بنفشه‌ی معطر دارای اثرات آنتی سپتیک، ضد التهاب، لاکساتیو و خلط‌آور می‌باشد. به علاوه، بنفشه‌ی معطر در مواردی چون سردرد، بی‌خوابی، گیجی و خستگی می‌تواند مفید باشد (۱۴).

بنفشه‌ی معطر در قدیم در تومورهای تناسلی، اسکلروزیس طحال، تومورهای التهابی، سرفه و اولسرها استفاده می‌شد (۱۵). چای تهیه شده از گل و برگ گیاه به عنوان ضد اسپاسم، دیورتیک و اولسرها به کار می‌رود (۱۷-۱۶). اثرات ضد قارچ و ضد باکتری نیز از گیاه بنفشه‌ی معطر گزارش شده است (۱۹-۱۸).

به دنبال پیدا کردن یک داروی جایگزین برای درمان تریکومونیازیس در این مطالعه، اثر ضد تریکوموناس واژینالیس گیاه بنفشه‌ی معطر در محیط کشت مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

تهیه‌ی عصاره

گیاه بنفشه‌ی معطر از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی اصفهان در خرداد ۱۳۹۱ جمع‌آوری شد. برگ، گل و ریشه در هوای آزاد و در سایه، به طور کامل خشک شدند. عصاره‌ی تام به وسیله‌ی روش ماسراسیون از ۱۰۰ گرم پودر خشک شده‌ی برگ، ۴۲ گرم گل و ۴۴ گرم از ریشه به ترتیب در ۱۵۰ ml، ۶۵ ml و ۷۰ ml از ترکیب متانول ۵۰ درصد و HCl ۱ درصد به مدت ۳ روز در دمای اتاق تهیه شد.

عصاره‌ها تحت تقطیر خلأ توسط روتاری قرار گرفتند و تغلیظ شدند. سپس عصاره‌ی تام در نسبتی از آب و دی اتیل اتر رقیق شد؛ پس از آن، فاز اتری جدا شده و تغلیظ گردید.

فاز آبی تحت $NaHCO_3$ ۲۰ درصد به pH ۸ تا ۹ رسید که منجر به تغییر ترکیبات فنلی به نمک‌های سدیم می‌شود، سپس pH فاز آبی به وسیله‌ی HCl ۶ طبیعی به ۴-۳ کاهش یافت و توسط اتیل استات ترکیبات فنلی از محلول استخراج گردید. ۴ فراکسیون تهیه شده شامل تام، اتیل استات، دی اتیل اتر و آبی بود. سپس فراکسیون‌ها به وسیله‌ی روتاری تغلیظ شدند و برای بررسی ضد تریکوموناس واژینالیس مورد استفاده قرار گرفتند (۲۰).

تهیه‌ی میکرو ارگانیسم

میکرو ارگانیسم مورد آزمایش از آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که از ترشحات واژینال کلینیک زنان و زایمان شهرکرد جداسازی شده بود تهیه شد و در محیط کشت TYIS۳۳ و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد کشت داده شد. انگل‌ها در فاز ایستایی رشد جمع‌آوری شدند تا در نهایت توسط شمارش با لام نئوبار تعداد 10^4 انگل در میلی‌لیتر در محیط نهایی آزمایش وجود داشته باشد.

بررسی اثر ضد تریکوموناس واژینالیس

برای هر فراکسیون ۷ لوله‌ی آزمایش که هر یک حاوی محیط کشت و 10^4 انگل زنده بود، مورد استفاده قرار گرفت. در مورد هر فراکسیون در ۵ لوله‌ی اول پنج غلظت تهیه شده از هر فراکسیون که به وسیله‌ی رقیق شدن غلظت اولیه در محیط کشت تهیه شد، ریخته شد. لوله‌ی شماره‌ی ۶، شاهد مثبت (محیط کشت + انگل تریکوموناس واژینالیس) و لوله‌ی شماره‌ی ۷ شاهد مترونیدازول با غلظت ۵۰ µg/ml (محیط کشت + انگل تریکوموناس واژینالیس + مترونیدازول که از شرکت ثامن ایران تهیه شد) بودند. به تمام لوله‌ها حجمی ثابت از سوسپانسیون انگل وارد شد؛ به گونه‌ای که 10^4 انگل در سی‌سی از محیط آزمایش وجود داشته باشد و تمام لوله با محیط کشت به حجم ۱ ml رسانده شد.

سپس لوله‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند و در فواصل ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از آن‌ها توسط سمپلر نمونه‌گیری شد و توسط لام نئوبار شمارش گردید. در صورت حرکت میکرو ارگانیسم و فلاژل، انگل زنده تلقی می‌شد. نتایج به صورت درصد مهار رشد عنوان شد که به وسیله‌ی فرمول زیر محاسبه می‌شود (۲۲-۲۱):

$$\text{(Growth inhibition) GI }\% = \frac{a-b}{a} \times ۱۰۰$$

a: تعداد انگل‌های زنده در شاهد منفی

b: تعداد انگل‌های زنده در لوله‌ی حاوی غلظت مورد نظر عصاره

یافته‌ها

برگ

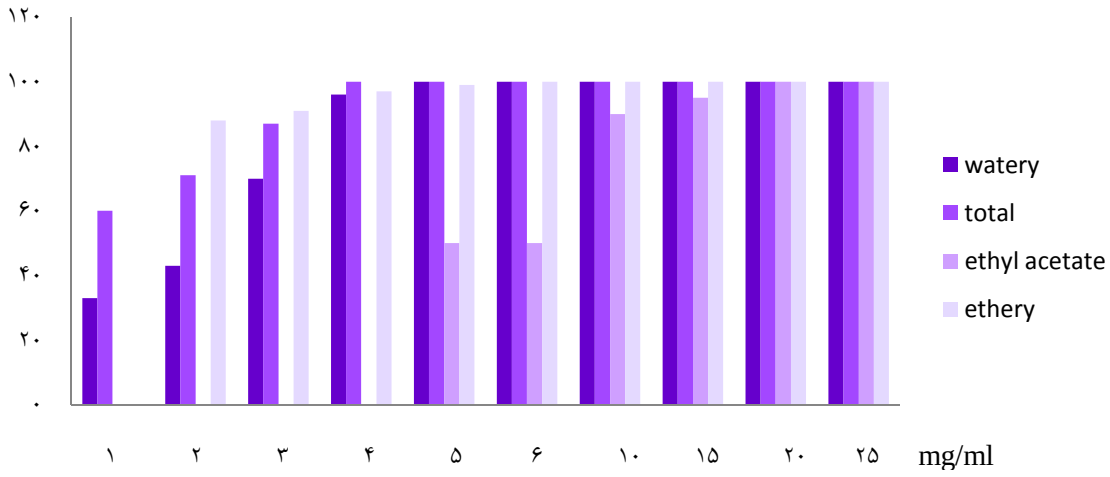
عصاره‌ی تام برگ بنفشه‌ی معطر ۶۰ درصد مهار رشد را در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طول ۲۴ ساعت نشان داد. بیشترین درصد مهار رشد در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طی ۲۴ ساعت بود. فراکسیون دی اتیل اتر برگ بنفشه‌ی معطر در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت سبب ۸۸ درصد مهار رشد انگل گردید و این فراکسیون، در غلظت ۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

سبب ۱۰۰ درصد مهار رشد در ۲۴ ساعت شد. در حالی که فراکسیون اتیل استات برگ در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت ۱۰۰ درصد مهار رشد و در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۵۰ درصد مهار رشد را نشان داد. فراکسیون آبی برگ بنفشه‌ی معطر در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ، ۳۳ درصد مهار رشد و در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۱۰۰ درصد مهار رشد را نشان داد. جزییات نتایج اثرات فراکسیون‌های برگ بنفشه‌ی معطر در شکل ۱ آمده است.

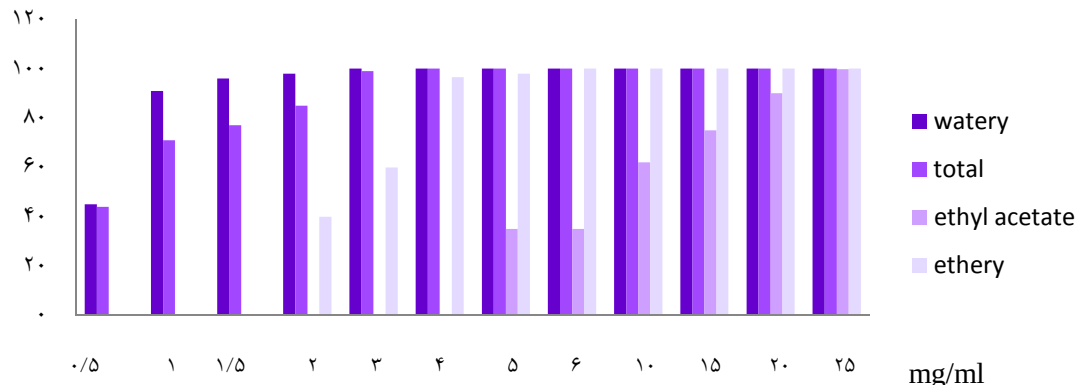
گل

عصاره‌ی تام گل بنفشه‌ی معطر ۴۴ درصد مهار رشد را در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طول ۲۴ ساعت نشان داد. بیشترین درصد مهار رشد در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طی ۲۴ ساعت بود. فراکسیون دی اتیل اتر گل بنفشه‌ی معطر در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت سبب ۴۰ درصد مهار رشد انگل گردید و این فراکسیون در غلظت ۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سبب ۱۰۰ درصد مهار رشد در ۲۴ ساعت شد. در حالی که فراکسیون اتیل استات گل در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت، ۱۰۰ درصد مهار رشد و در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۳۵ درصد مهار رشد را نشان داد. فراکسیون آبی گل بنفشه‌ی معطر در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۴۵ درصد مهار رشد و در غلظت ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۱۰۰ درصد مهار رشد را نشان داد. جزییات نتایج اثرات فراکسیون‌های گل بنفشه‌ی معطر در شکل ۲ آمده است.

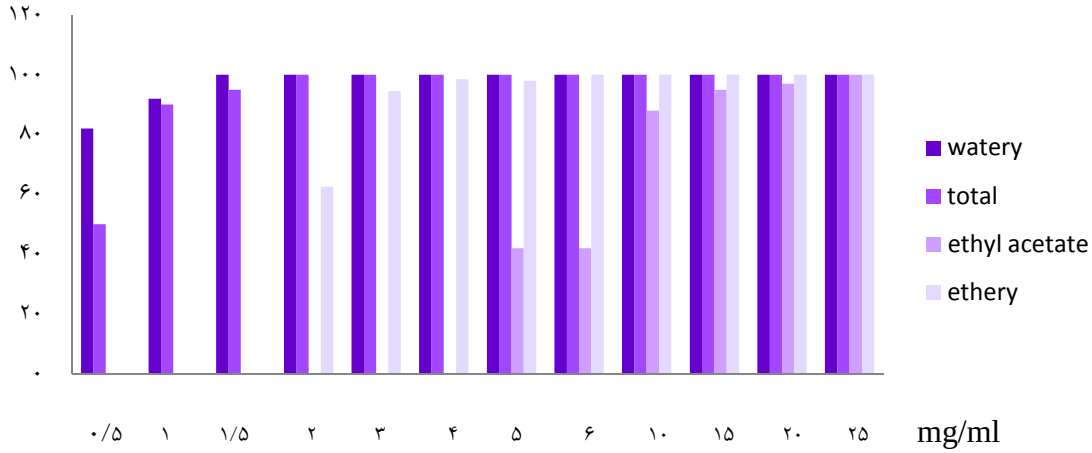
عصاره‌ی تام ریشه‌ی بنفشه‌ی معطر ۵۰ درصد مهار رشد را در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طول ۲۴ ساعت نشان داد. بیشترین درصد مهار رشد در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طی ۲۴ ساعت بود. فراکسیون دی اتیل اتر ریشه‌ی بنفشه‌ی معطر در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت سبب ۶۲/۵ درصد مهار رشد انگل گردید و این فراکسیون در غلظت ۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سبب ۱۰۰ درصد مهار رشد در ۲۴ ساعت شد. در حالی که فراکسیون اتیل استات ریشه در غلظت ۲۵ میلی‌گرم



شکل ۱. مقایسه‌ی درصد مهار رشد تریکوموناس واژینالیس با به کار بردن فراکسیون‌های مختلف برگ بنفشه‌ی معطر در زمان ۲۴ ساعت



شکل ۲. مقایسه‌ی درصد مهار رشد تریکوموناس واژینالیس با به کار بردن فراکسیون‌های مختلف گل بنفشه‌ی معطر در زمان ۲۴ ساعت



شکل ۳. مقایسه‌ی درصد مهار رشد تریکوموناس واژینالیس با به کار بردن فراکسیون‌های مختلف ریشه‌ی بنفشه‌ی معطر در زمان ۲۴ ساعت

ریشه

عصاره‌ی تام ریشه‌ی بنفشه‌ی معطر ۵۰ درصد مهار رشد را در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طول ۲۴ ساعت نشان داد. بیشترین درصد مهار رشد در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طی ۲۴ ساعت بود. فراکسیون دی اتیل اتر ریشه‌ی بنفشه‌ی معطر در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت سبب ۶۲/۵ درصد مهار رشد انگل گردید و این فراکسیون در غلظت ۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر سبب ۱۰۰ درصد مهار رشد در ۲۴ ساعت شد. در حالی که فراکسیون اتیل استات ریشه در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان ۲۴ ساعت، ۱۰۰ درصد مهار رشد و در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۴۲ درصد مهار رشد را نشان داد. فراکسیون آبی ریشه‌ی بنفشه‌ی معطر در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۸۲ درصد مهار رشد و ۱۰۰ درصد مهار رشد را در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد. جزییات نتایج اثرات فراکسیون‌های ریشه بنفشه‌ی معطر در شکل ۳ آمده است.

بحث

بر اساس شکل ۱، عصاره‌ی تام برگ بنفشه‌ی معطر، ۱۰۰ درصد مهار رشد را در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد. در این غلظت،

فراکسیون‌های اتری، آبی و اتیل استات به ترتیب ۹۶، ۹۷ و ۱۰۰ درصد مهار رشد ایجاد کردند.

بر اساس شکل ۲، فراکسیون آبی گل بنفشه‌ی معطر ۱۰۰ درصد مهار رشد را در غلظت ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد. در این غلظت عصاره‌ی تام و فراکسیون‌های اتری و اتیل استاتی به ترتیب ۹۹، ۶۰ و ۱۰۰ درصد مهار رشد را نشان دادند.

بر اساس شکل ۳، فراکسیون آبی ریشه‌ی بنفشه‌ی معطر ۱۰۰ درصد مهار رشد را در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد. در این غلظت، عصاره‌ی تام و فراکسیون‌های اتری و اتیل استاتی به ترتیب ۹۰، ۱۰ و ۱۰۰ درصد مهار رشد را نشان دادند.

بنابراین فراکسیون آبی بنفشه‌ی معطر دارای بالاترین درصد مهار رشد (۱۰۰ درصد) در حداقل غلظت در طول ۲۴ ساعت بر روی تریکوموناس واژینالیس می‌باشد و اندام ریشه‌ی بنفشه‌ی معطر نسبت به گل و برگ مؤثرتر است. به نظر می‌رسد که تفاوت اثر ضد انگلی فراکسیون‌های مختلف، ناشی از حضور ترکیبات مختلف و یا پلاریته‌ی حلال مورد استفاده برای هر فراکسیون می‌باشد. آب با پلاریته‌ی ۱۰/۲، ترکیبات پلار گیاه بنفشه‌ی معطر شامل ترکیبات فنولیک را جدا می‌کند. بنابراین مواد پلار از نیمه پلار و غیر پلار مؤثرتر هستند. همچنین می‌توان اثر ضد تریکوموناسی بنفشه‌ی معطر را به حضور ترکیب سیکلوتاید سیکلوویولاسین اکسیژن‌دار نسبت داد؛ به دلیل این که در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که این ترکیب دارای اثرات مختلفی از جمله ضد باکتری، ضد HIV (Human immunodeficiency virus) و سایتوتوکسیسیته می‌باشد (۲۳). در مطالعه‌ای توسط Khan و همکاران، اثر ضد باکتری گیاه Viola odorata بررسی شد و نتایج نشان داد که عصاره‌ی آبی این گیاه اثر ضد باکتری قابل توجهی بر علیه ایکلای و سالمونلا تیفی در مقایسه با آنتی بوتیک تتراسایکلین داشته است (۲۴).

حمامی و همکاران در مطالعه‌ای اثر ضد قارچی گیاه Viola odorata بر روی گونه‌ای از قارچ Botrytis را بررسی کردند و نتایج نشان داد که عصاره‌ی متانولی گل بنفشه‌ی معطر اثر ضد قارچی قابل توجهی دارد (۲۵). در مطالعه‌ی دیگر، اثرات آنتی پلاسمودیال، ضد فشار خون، آنتی دیس لیپیدمیک، ضد سرطان، آنتی اکسیدانت، ضد آسم، دیورتیک، ضد التهاب و ضد درد بنفشه‌ی معطر بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که اثرات مختلف این گیاه مربوط به وجود ترکیبات آلکالوئیدهای سیکلوتاید، فلاوونوئیدها، مشتقات کافئیک اسید، سالیسیلیک اسید و تری ترپنوئید در گیاه بنفشه‌ی معطر بوده است (۲۶).

همچنین نشان داده شده است که بعضی از ترکیبات گیاه بنفشه‌ی معطر مانند سیکلوویولاسین اکسیژن‌دار، اثرات سایتوتوکسیک روی سلول‌های تومووری دارند و سبب مهار رشد این سلول‌ها می‌شوند (۲۷، ۱۸). در مطالعه‌ی دیگر، اثر ضد میکروبی سیکلوتاید نیمه خالص از بنفشه‌ی معطر ایرانی با آنتی بیوتیک‌های تجارتی مقایسه گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که اثرات ضد باکتریایی ترکیبات این گیاه معادل بعضی از آنتی بیوتیک‌های تجاری بوده است (۲۸).

تاران و همکاران در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که ترکیبات پلار مانند آلیسین و آجوئین که

از گیاه Allium hirtifolium استخراج می‌شوند، می‌توانند اثر ضد تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول داشته باشند (۲۹). همچنین در مطالعه‌ی دیگری توسط Soffar و همکاران گزارش شده است که بربرین استخراج شده از گیاه Berberis ataaris فعالیت ضد تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول دارد (۳۰).

در مطالعه‌ی دارانی و همکاران در بررسی اثر ضد تریکومونایی اکالیپتوس به این نتیجه رسیدند که عصاره‌ی اتیل استاتی آن در غلظت ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طی ۲۴ ساعت سبب ۱۰۰ درصد مهار رشد انگل شد (۳۱).

به علاوه مهدی و همکاران در مطالعه‌ی دیگری مشابه مطالعه‌ی حاضر، به این نتیجه رسیدند که عصاره‌ی آبی گیاه Eucalyptus camadulensis در حداقل غلظت ۵۰ mg/ml، اثر ضد تریکوموناسی از خود نشان می‌دهد (۳۲). در تحقیقی، LiLi و همکاران به این نتیجه رسیدند که عصاره‌ی آبی گیاه Mosla Chinensis maxim اثر بسیار قوی در مهار رشد انگل دارد؛ به گونه‌ای که مهار رشد این انگل را می‌توان با به کار بردن غلظت ۶۲/۵ mg/ml از گیاه شاهد بود (۳۳). Ertabaklar و همکاران در بررسی دیگری بر روی گیاه Arbutus anedo شامل ترکیبات آربوتین و متیل آربوتین، به این نتیجه رسیدند که بر خلاف مطالعه‌ی حاضر، عصاره‌ی اتیل استات این گیاه در غلظت ۵۰۰ µg/ml، سبب ۱۰۰ درصد مهار رشد انگل تریکوموناس می‌شود (۳۴).

در مطالعه‌ی یوسفی دارانی و همکاران تأثیر عصاره‌ی آبی و اتانولی سر شاخه‌های هوایی گیاه چای کوهی بر تریکوموناس واژینالیس بررسی شد و بر خلاف مطالعه‌ی حاضر، به این نتیجه رسیدند که این عصاره اثر چندانی بر روی این انگل ندارد (۳۵). عارف‌خواه و همکاران در بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه مخلصه بر تریکوموناس واژینالیس به نتایج مشابه مطالعه‌ی حاضر رسیدند که گیاه مخلصه در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۱۰۰ درصد رشد انگل را مهار می‌کند (۳۶).

در مطالعه‌ی یوسفی و همکاران اثر سه گیاه اکالیپتوس، اسطوخدوس و چای کوهی بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس بررسی شد؛ آن‌ها دریافتند که اکالیپتوس اثر بارزی بر روی مهار رشد انگل داشت، اما اسطوخدوس و چای کوهی اثر قابل توجهی نداشتند (۳۷). یوسفی و همکاران در بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی نعناع و مریم گلی بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس نتیجه گرفتند که عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه مریم گلی در غلظت ۲ mg/ml و عصاره‌ی هیدروالکلی نعناع در غلظت ۴ mg/ml، موجب مهار رشد انگل شدند (۳۸).

نتیجه‌گیری

فراکسیون آبی بنفشه‌ی معطر دارای بالاترین درصد مهار رشد (۱۰۰ درصد) در حداقل غلظت در طول ۲۴ ساعت بر روی تریکوموناس واژینالیس می‌باشد و اندام ریشه‌ی بنفشه‌ی معطر نسبت به گل و برگ مؤثرتر است. با توجه به اثر خوب عصاره‌ی گیاه بنفشه‌ی معطر بر روی تریکوموناس، پیشنهاد می‌گردد تحقیقات بیشتری در خصوص استفاده از آن به عنوان دارو انجام گیرد.

References

1. Nanda N, Michel RG, Kurdgelashvili G, Wendel KA. Trichomoniasis and its treatment. Expert Rev Anti Infect Ther 2006; 4(1): 125-35.
2. Swygard H, Sena AC, Hobbs MM, Cohen MS. Trichomoniasis: clinical manifestations, diagnosis and management. Sex Transm Infect 2004; 80(2): 91-5.
3. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and microbiological aspects of Trichomonas vaginalis. Clin Microbiol Rev 1998; 11(2): 300-17.
4. Garber GE. The laboratory diagnosis of Trichomonas vaginalis. Can J Infect Dis Med Microbiol 2005; 16(1): 35-8.
5. Schwebke JR, Burgess D. Trichomoniasis. Clin Microbiol Rev 2004; 17(4): 794-803, table.
6. Centers for Disease Control and Preventio. Trichomoniasis-CDC fact sheet [Online]. [cited 2007]; Available from: URL: http://www.cdc.gov/std/trichomonas/stdfact-trichomoniasis.htm/
7. Stark JR, Judson G, Alderete JF, Mundodi V, Kucknoor AS, Giovannucci EL, et al. Prospective study of Trichomonas vaginalis infection and prostate cancer incidence and mortality: Physicians' Health Study. J Natl Cancer Inst 2009; 101(20): 1406-11.
8. Edwards DI. Nitroimidazole drugs-action and resistance mechanisms. I. Mechanisms of action. J Antimicrob Chemother 1993; 31(1): 9-20.
9. Grossman JH, Galask RP. Persistent vaginitis caused by metronidazole-resistant trichomonas. Obstet Gynecol 1990; 76(3 Pt 2): 521-2.
10. Kurohara ML, Kwong FK, Lebherz TB, Klaustermeyer WB. Metronidazole hypersensitivity and oral desensitization. J Allergy Clin Immunol 1991; 88(2): 279-80.
11. Asakawa B, Asakawa S. California Gardener's Guide. Brentwood, TN: Cool Springs Press; 2001.
12. Ireland DC, Colgrave ML, Craik DJ. A novel suite of cyclotides from Viola odorata: sequence variation and the implications for structure, function and stability. Biochem J 2006; 400(1): 1-12.
13. Karioti A, Furlan C, Vincieri FF, Bilia AR. Analysis of the constituents and quality control of Viola odorata aqueous preparations by HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS. Anal Bioanal Chem 2011; 399(4): 1715-23.
14. British Herbal Medicine Association, Bradley PR. British Herbal Compendium: A Handbook of Scientific Information on Widely Used Plant Drugs. London, UK: British Herbal Medicine Association; 2006. p. 381-4.
15. Hartwell JL. Plants Used Against Cancer: A Survey. Lincoln, MA: Quarterman Publication; 1982. p. 438-9.
16. Duke JA. Handbook of Medicinal Herbs. Boca Raton, FL: CRC Press; 1985. p. 457
17. Lewis WH, Elvin-Lewis PF. Medical Botany: Plants Affecting Man's Health. New Jersey, NJ: John Wiley & Sons; 1977. p. 389-90.
18. Pranting M, Loov C, Burman R, Goransson U, Andersson DI. The cyclotide cycloviolacin O2 from Viola odorata has potent bactericidal activity against Gram-negative bacteria. J Antimicrob Chemother 2010; 65(9): 1964-71.
19. Amin Gh, Salehi MH, Yasa N, Aynehchi Y, Dehmoobed A, Emami M, et al. Screening of Iranian plants for antifungal activity: Part 2. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences 2002; 10(2): 78-89.
20. Verma AR, Vijayakumar M, Mathela CS, Rao CV. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of Moringa oleifera leaves. Food and Chemical Toxicology 2009; 47(9): 2196-201.
21. Moon T, Wilkinson JM, Cavanagh HM. Antiparasitic activity of two Lavandula essential oils against Giardia duodenalis, Trichomonas vaginalis and Hexamita inflata. Parasitol Res 2006; 99(6): 722-8.
22. Tonkal A. In Vitro Antitrichomonal Effect of Nigella Sativa Aqueous Extract and Wheat Germ Agglutinin. JKAU: Med Sci 2009; 16: 17-34.
23. Thongyoo P, Tate EW, Leatherbarrow RJ. Total synthesis of the macrocyclic cysteine knot microprotein MCoTI-II. Chem Commun (Camb) 2006; (27): 2848-50.
24. Khan A, Prakash R, Ali Sh, Aljarbou A, Khan MA. Comparative Study of Antibacterial Activity and Toxicity of Certain Plants used in Unani Medicine. Advances in Bioresearch 2011; 2(2): 10-3.
25. Hammami I, Kamoun N, Rebai A. Biocontrol of Botrytis cinerea with essential oil and methanol extract of Viola odorata L. flowers. Archives of Applied Science Research 2011; 3(5): 44-51.
26. Muhammad N, Saeed M, Awan AA, Khan H. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological profile of genus Viola. Phytopharmacology 2012; 3(1): 214-26.
27. Gerlach SL, Rathinakumar R, Chakravarty G, Goransson U, Wimley WC, Darwin SP, et al. Anticancer and chemosensitizing abilities of cycloviolacin 02 from Viola odorata and psyle cyclotides from Psychotria leptothyrsa. Biopolymers 2010; 94(5): 617-25.
28. Zarrabi M, Dalirfardouei R, Sepehrizade Z,

Kermanshahi RK. Comparison of the antimicrobial effects of semipurified cyclotides from Iranian Viola odorata against some of plant and human pathogenic bacteria. J Appl Microbiol 2013; 115(2): 367-75.

29. Taran M, Rezaeian M, Izaddoost M. In vitro Antitrichomonas Activity of Allium Hirtifloium (Persian Shallot) in Comparison with Metronidazole. Iran J Public Health 2006; 35(1): 92-4.

30. Soffar SA, Metwali DM, Abdel-Aziz SS, el-Wakil HS, Saad GA. Evaluation of the effect of a plant alkaloid (Berberine derived from Berberis aristata) on Trichomonas vaginalis in vitro. J Egypt Soc Parasitol 2001; 31(3): 893-904.

31. Darani HY. Effects of different extracts of Eucalyptus camaldulensis on Trichomonas vaginalis parasite in culture medium. Advanced Biomedical Research 2013; 2(24): 1-4.

32. Mahdi NK, Gany ZH, Sharief M. Alternative drugs against Trichomonas vaginalis. East Mediterr Health J 2006; 12(5): 679-84.

33. LiLi Z, Yu C, YuanHua Q, YiXin R, Xin L, Lin T, et al. Effect of Mosla chinensis Maxim on Trichomonas vaginalis in vitro. Journal of DaliJournal of Dalian Medical Universityan Medical University 2009; 31(3): 282-5.

34. Ertabaklar H, Kivcak B, Mert T, Ozensoy TS. In vitro activity of Arbutus unedo leaf extracts against Trichomonas vaginalis trophozoites. Turkiye Parazitol Derg 2009; 33(4): 263-5.

35. Yousofi Darani H, Sereshti M, Zebardast N, Rafean M, Manochehre Naeini K, Yousofi Y. Effect of Ethanolic and Watery Extract of Aerial Parts of Stachys Lavandulifolia on Trichomonas vaginalis, In vitro. Journal of Medicinal Plants 2012; 11(8): 159-65.

36. Arefkhah N, Taghipur S, Yousefi M, Rafeiean M, Daneshpur Sh, Yousefi H. In-Vitro Effect of Hydro-Alcoholic Extract of Tanacetum Parthenium Extract on Trichomonas Vaginalis. J Isfahan Med Sch 2013; 31(236): 623-9. [In Persian].

37. Youse HA, Kazemian A, Sereshti M, Rahmanikhoh E, Ahmadinia E, Rafaian M, et al. Effect of Echinophora platyloba, Stachys lavandulifolia, and Eucalyptus camaldulensis plants on Trichomonas vaginalis growth in vitro. Adv Biomed Res 2012; 1: 79.

38. Yousefi M, Taghipur S, Arefkhah N, Rahimian R, Davoudian A, Rafeiean M, et al. In-Vitro Effect of Menthe Piperita and Salvia Officinalis Extracts on Trichomonas Vaginalis. J Isfahan Med Sch 2013; 31(240): 811-8. [In Persian].

Journal of Isfahan Medical School Received: 18.10.2013

Vol. 31, No. 266, 4th Week, February 2014 Accepted: 11.01.2014

The Effects of Different Extracts of *Viola Odorata* on *Trichomonas Vaginalis* in Culture Medium

Liela Salehi[1], Gholamreza Asghari PhD[2], Hosseinali Yousofi MSc[3], Hossein Yousofi-Darani PhD[4]

Original Article

Abstract

Background: Tichomoniasis is a very common sexually transmitted disease (STD) caused by *Trichomonas vaginalis.* Metronidazol with vast side effects is now the only drug approved for the treatment of this infection in many countries. The effect of *Viola odorata* on several parasites is shown in previous studies. In this study, in an attempt to find an alternative drug, the effect of different extracts of this plant on *Trichomonas vaginalis* in culture medium was investigated.

Methods: Three different fractions of leave, flower, and root including diethyl ether, ethyl acetate, and water fractions were prepared from crude extract. The extracts were dried using vacuum rotary evaporator and then, they were used for in-vitro anti-trichomonas vaginalis experiments.

Findings: The crude extract of leave (4 mg/ml), flower (4 mg/ml), and root (2 mg/ml) of *Viola odorata* showed 100% growth inhibition (GI) during 24 hours. Diethyl ether fraction of leave, flower, and root of *Viola odorata* in concentration of 6 mg/ml showed 100% growth inhibition during 24 hours. The ethyl acetate fraction of leave, flower, and root revealed 100% growth inhibition in the first 24 hours with the minimum concentration of 20 mg/ml, 25 mg/ml, and 25 mg/ml, respectively. Water fraction of leave, flower, and root showed 100% growth inhibition during 24 hours in concentrations of 5, 3, and 1.5 mg/ml, respectively.

Conclusion: Considering the appropriate effect of *Viola odorata* on *Trichomonas vaginalis*, more investigation is recommended to convert this plant to an anti-Trichomonas vaginalis drug.

Keywords: Viola odorata, Fractions, Trichomonas vaginalis

Citation: Salehi L, Asghari Gh, Yousofi H, Yousofi Darani H. **The Effects of Different Extracts of *Viola Odorata* on *Trichomonas Vaginalis* in Culture Medium.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(266): 2139-48

* This paper is derived from a Pharm D thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

1- Student of Pharmacy, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Professor Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3. Instructor, Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Professor, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center AND Department of Mycology and Parasitology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Hossein Yousofi Darani, Email: yousofi@med.mui.ac.ir