دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیستم، شماره ۴، صفحه ۳۷۹ - ۳۷۰ (مهر و آبان ۱۳۹۶)

Iran South Med J 2017; 20(4): 370-379

ارزیابی اثر کشندگی *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* بر *تریکوموناس واژینالیس* در شرایط آزمایشگاه

مرادعلی فولادوند (PhD)[۱]، سلیمان خرمی (MSc)[۲*]، کوهزاد سرتاوی (MSc)[۳]

[۱] گروه میکروب و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۲] گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۳] مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۱۰/۲۰- پذیرش مقاله: ۹۵/۱۲/۲)

چکیده

زمینه: تک یاخته *تریکوموناس واژینالیس* یکی از عوامل واژینیت در انسان است. داروی انتخابی برای درمان مترونیدازول است که علاوه بر افزایش مقاومت دارویی، عوارض جانبی بسیاری نیز دارد. *پرگولاریا تومنتوزا* یک گیاه بیابانی می‌باشد که دارای اثر ضدپلاسمودیومی و ضد قارچی بوده و اثر ضد درماتوفیتی گیاه *پریپلوکا آفیلا* حتی از داروهای رایج ضد قارچی مانند گریزوفلوبین بیشتر می‌باشد. در این مطالعه امید است با استفاده از گیاهان فوق بتوان ترکیب دارویی گیاهی مؤثری معرفی کرد.

مواد و روش‌ها: *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* پس از جمع‌آوری تمیز و خشک گردید و با استفاده از حلال‌های آب، متانول، دی کلرومتان و ان هگزان عصاره‌گیری شد و با حلال‌های ذکر شده، غلظت‌های ۸۰۰،۶۰۰،۴۰۰،۲۰۰،۱۰۰،۵۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر در سرم فیزیولوژی و گلیسیرین تهیه شد. تعداد 10^6 تروفوزوئیت *تریکوموناس واژینالیس* در حجم ۱۰۰ میکرولیتر ریخته شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهان *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. سنجش میزان مرگ این تک یاخته با استفاده از تست (MTT) انجام شد. تأثیر عصاره‌ها روی سلول‌های vero انجام و ارزیابی فیتوشیمیایی برای تعیین ترکیبات موجود در عصاره‌ها، از تکنیک (HPTLC) استفاده شد. تمامی تست‌ها ۳ بار تکرار گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد.

یافته‌ها: اثر کشندگی تریکومونایی عصاره آبی، متانولی، دی کلرومتانی و ان هگزانی گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* در غلظت ۸۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر به ترتیب ۶۴، ۷۲/۴، ۹۵/۲ و ۹۵/۴ درصد بود. اثر ضد تریکومونایی گیاه *پریپلوکا آفیلا* با غلظت مشابه به ترتیب ۷۰/۸، ۶۷، ۹۳/۴، ۹۳/۲ درصد بود. اثر سایتوتوکسیک عصاره متانولی گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* در غلظت ۸۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر بر ضد سلول‌های (vero) به ترتیب۵۰/۳ و ۶۳ درصد بدست آمد. ارزیابی فیتوشیمیایی عصاره‌های هر دو گیاه نشان داد که هر دو دارای ترکیبات آلکالوئید، فلاونوئید، ترپنوئید، ساپونین، استرول، فنل، ایریدوئید، تانن، فنیل پروپانوئید و آنتوسیانین هستند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد عصاره دی کلرومتانی و ان هگزانی هر دو گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* در همه غلظت‌ها دارای اثر ضد تریکومونایی بیشتری نسبت به عصاره آبی و متانولی می‌باشند. بنابراین ارزیابی مکانیسم اثر این ترکیبات بر روی *تریکوموناس واژینالیس* ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: *تریکوموناس واژینالیس*، ***Pergularia tomentosa***، ***Priploca aphylla***، ام تی تی، **Vero**

* بوشهر، سبزآباد، پردیس دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پیراپزشکی

Email: Khorami_bu@yahoo.com

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

مقدمه

کنترل عفونت‌های واژینال یکی از برنامه‌های مهم سیستم‌های مراقبت بهداشتی در اکثر مناطق دنیا بخصوص در کشورهای در حال توسعه است. تریکومونیازیس جهانی‌ترین بیماری مقاربتی تک یاخته‌ای دستگاه ادراری تناسلی می‌باشد و هر سال بیش از ۱۴۳ میلیون نفر از مردم دنیا به این انگل مبتلا می‌شوند (۱).

در نقاط مختلف دنیا نسبت آلودگی بین ۶/۴-۴ درصد گزارش شده است. که البته میزان عفونت در هلند و آمریکا بین ۱/۵-۳ درصد می‌باشد. اما در بعضی اقشار جامعه می‌تواند از این نیز بیشتر باشد (۱ و ۲). عواملی مانند فقر، کم سوادی، داشتن شرکای جنسی متعدد و افزایش سن می‌تواند باعث افزایش احتمال ابتلاء شود (۶-۳). درمان رایج برای تریکومونیازیس مترونیدازول است که به طور معمول به صورت تک دوز و حدود ۲ گرم تجویز می‌شود (۷).

اگرچه بسیاری از عفونت‌های تریکومونایی قابل درمان هستند اما موارد زیادی از شکست درمان در سال‌های اخیر به ویژه در زنان گزارش شده است. یکی از دلایل شکست درمان، عدم درمان مناسب و کامل شریک جنسی فرد می‌باشد؛ اما دلیل مهم‌تر افزایش مقاومت به مترونیدازول می‌باشد (۸ و ۹).

تخمین زده می‌شود حدود ۵ درصد از عفونت‌های *تریکوموناس واژینالیس* به دلیل سویه‌های مقاوم این انگل باشد (۱۰). در گزارش دیگری میزان مقاومت در آمریکا به حدود ۲۲ درصد رسیده است و این مقاومت در حال گسترش جهانی است (۸). مقاومت به مترونیدازول اغلب، اما نه همیشه با افزایش دوز و دوره درمان از بین می‌رود. اگرچه افزایش دوز و دوره درمان مترونیدازول می‌تواند باعث عوارض جانبی بسیاری شود. عوارض جانبی شامل حالت تهوع، اسهال، احساس طعم فلز در دهان و در دوزهای بالا باعث لکوپنی می‌شود. با افزایش دوز و دوره درمان، مترونیدازول همچنین باعث اختلالات عصبی و در موارد نادری برای سیستم اعصاب مرکزی سمی می‌باشد (۱۱ و ۱۲). در واقع مترونیدازول برای باکتری‌ها موتاژن بوده و مطابق تحقیقات انجام شده دارای اثرات کارسینوژنیک در موش می‌باشد (۱۱). این دارو در زنان باردار به خصوص در سه ماه اول بارداری منع مصرف دارد (۱۳ و ۱۴). اگر چه مطالعات اخیر رابطه‌ای بین مصرف مترونیدازول و نقص جنین را نشان نمی‌دهد (۱۵ و ۱۶). با توجه به این مطالعات مرکز کنترل بیماری‌ها در آمریکا مترونیدازول را در تمام طول بارداری داروی استاندارد برای درمان *تریکوموناس واژینالیس* می‌داند (۱۷).

در سال‌های اخیر ترکیبات مختلفی بر روی *تریکوموناس واژینالیس* آزمایش شده است ولی هیچ‌کدام از این ترکیبات هم اکنون در بازار یافت نمی‌شوند (۱۸ و ۱۹).

بعضی از گیاهان دارویی شامل ترکیبات شیمیایی هستند که اثرات فیزیولوژیک مؤثری بر روی انگل‌های انسانی دارند. در حدود ۲۵ درصد تمام عناصر مؤثر دارویی، گیاهی می‌باشند (۲۰). *پرگولاریا تومنتوزا*، گیاهی بیابانی است که دارای اثرات ضد مالاریایی (۲۱)، ضد قارچی و درماتوفیتی می‌باشد (۲۲ و ۲۳). *پرگولاریا تومنتوزا* دارای اثرات ضد سارکوم کاپوسی نیز می‌باشد (۲۳). *پریپلوکا آفیلا* دارای اثرات ضد قارچی بالا و همچنین دارای اثر ضد اسهال است (۲۴). توجه به خواص مختلف درمانی این گیاهان و ضرورت تحقیق برای یافتن ترکیبات جدید ضد تریکومونائی که دارای عوارض کمتری از مترونیدازول باشند، ما را بر آن داشت تا اثر عصاره *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* را بر روی *تریکوموناس واژینالیس* بررسی نمائیم.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

مواد و روش‌ها

کشت انگل

در این مطالعه مداخله‌ای ابتدا انگل *تریکوموناس واژینالیس* از بیماران مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی شهر بوشهر جدا و در محیط TYI-S-33 در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردید. ۵۰ میکرولیتر محیط کشت TYI-S-33 به هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه ریخته شده و سپس با افزودن ۵۰ میکرولیتر از محیط کشت حاوی *تریکوموناس واژینالیس* حجم نهایی آن به ۱۰۰ میکرولیتر رسید، پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید تا تعداد انگل‌ها به حدود ۱۰۶ انگل در میکرولیتر برسد و آماده برای اضافه کردن عصاره‌های مورد مطالعه گردد.

عصاره‌گیری

در فاصله بین مرداد تا شهریور ماه سال ۱۳۹۴ گیاهان کوهی *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* از کوهستان‌های ساحلی خلیج‌فارس در استان بوشهر (جنوب غرب ایران) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. گیاهان مذکور در آزمایشگاه ابتدا چند بار با آب شیرین به خوبی شستشو داده شدند تا نمک و شن و گل آنها زدوده شود. آنگاه قسمت‌های نکروز شده گیاه جداسازی و قسمت‌های سالم به مدت ۱۰ روز روی پارچه تمیز در سایه و دمای اتاق خشک شدند. پس از خشک شدن توسط آسیاب برقی خرد شده تا به پودر یکنواختی تبدیل شوند. عصاره‌گیری گیاهان به روش غوطه‌ور سازی انجام شد، بدین صورت که ابتدا ۸ ظرف درپیچ دار شیشه ای انتخاب و به ۴ شیشه هر کدام ۲۰۰ گرم از پودر گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* و به ۴ شیشه دیگر ۲۰۰ گرم از پودر *پریپلوکا آفیلا* اضافه شد، سپس به هر کدام از ۴ شیشه حاوی پودرهای *پرگولاریا تومنتوزا* به تفکیک ۲۰۰ میلی‌لیتر آب، متانول، دی کلرومتان و ان هگزان اضافه گردید و این کار در مورد ۴ شیشه حاوی پودر *پریپلوکا آفیلا* نیز تکرار گردید. شیشه‌ها چند بار به خوبی تکان داده شد و به مدت ۷۲ ساعت روی شیکر و در دمای آزمایشگاه قرارگرفتند. در پایان این مدت عصاره‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شده و عصاره‌گیری از هر گیاه به روش پرکولاسیون با استفاده از دستگاه روتاری و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد و سپس عصاره‌های به‌دست آمده زیر هود خشک و تا زمان استفاده در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آزمایشات

عصاره‌های آبی و متانولی *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* پس از دفریز شدن با استفاده از سرم فیزیولوژی اما عصاره‌های دی کلرومتانی و ان هگزانی با استفاده از سرم فیزیولوژی + گلیسیرین حل شدند. سپس از هر عصاره آبی، متانولی، دی کلرومتانی و ان هگزانی هر دو گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* به صورت جداگانه غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با استفاده از سرم فیزیولوژی + گلیسیرین و به کمک شیکر و سونیکیشن تهیه گردید. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های تهیه شده به چاهک‌هایی که قبلاً دارای ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت (TYI-S-33) حاوی 10^6 تریکوموناس بودند، اضافه شد. سپس پلیت در ۳۷ درجه به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردید. هر آزمایش سه بار تکرار شد. کنترل منفی دارای محیط کشت TYI-S-33 و *تریکوموناس واژینالیس* بوده و کنترل مثبت حاوی محیط TYI-S-33، *تریکوموناس واژینالیس* و همچنین داروی مترونیدازول با غلظت‌های مشابه عصاره‌های تهیه شده بود.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

محلول MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در محیط کشت TYI-S-33 بدون فنل رد تهیه شد. سپس با فیلتر سرنگی ۰/۲ میکرون فیلتر شده و ۲۰ میکرولیتر از این محلول پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون به هر چاهک اضافه گردید و به مدت ۴ ساعت دیگر انکوباسیون ادامه یافت، سپس به منظور حل شدن کریستال‌های فرمازان ۱۵۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید به هر چاهک اضافه کردیم. ۲۰ دقیقه پس از افزودن دی متیل سولفوکساید کریستال‌ها به‌طور کامل حل شدند. جذب نوری پلیت با استفاده از دستگاه الایزا مدل (USA، VT، Winooski، Highland Park، Biotech) در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد و نتایج به‌دست آمده از مقادیر جذب نوری درنهایت به درصد کشندگی تبدیل شدند. نحوه انجام تست HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography) روش مناسبی برای تعیین ترکیبات درون عصاره‌های گیاه (HPTLC) می‌باشد. حلال‌های مختلفی برای استخراج امتحان شد. که بهترین نتیجه رزولوشن را حلال ان هگزان- اتیل استات ایجاد کرد. رنگ سنجی در صفحات آلومینیومی با اندازه ۲۰×۱۰ میلی‌متر که با یک لایه سیلیکاژل (60F254) به قطر ۰/۲ میلی‌متر پوشانده شده بود، انجام گرفت. از هر عصاره مقدار ۱۵ میکرولیتر توسط دستگاه لکه‌گذار خودکار ساخت شرکت CAMAG سوئد قرار داده شدند. پس از عمل لکه‌گذاری صفحه‌ها در حلال بالا رونده ان هگزان - اتیل استات قرار گرفتند و بعد از صعود لکه‌ها تا ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر، صفحه‌ها از حلال پیشرو خارج شده و پس از خشک کردن صفحه، عمل آشکارسازی لکه‌ها در UV Chamber (ساخت شرکت CAMAG سوئد) جهت تعیین مقدار و انواع ترکیبات موجود در گیاهان در دستگاه TLC اسکنر (ساخت شرکت CAMAG سوئد) قرار داده شد.

کشت سلول

سلول‌های vero (اپیتلیال کلیه) از انستیتو پاستور تهیه شد. این سلول‌ها با استفاده از محیط کشت RPMI-1640 همراه با ۱۰ درصد سرم جنین گوساله، ۱۰۰ میلی‌لیتربر واحد پنی‌سیلین، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین و در شرایط حاوی ۵ درصد CO2، رطوبت ۹۵ درصد و در دمای ۳۷ درجه کشت داده شدند (۲۵).

آزمایش سایتوتوکسیک

پس از کشت سلول‌ها و تشکیل یک لایه سلولی بر روی فلاسک محیط کشت از سطح سلول‌ها و زیر هود تخلیه و با استفاده از سرم فیزیولوژی سطح سلول‌ها شسته شد، سپس با استفاده از تریپسین سلول‌ها از کف فلاسک جدا شده و تعداد صد هزار سلول با استفاده از تریپان بلو و لام نئوبار شمارش و به هر چاهک اضافه گردید و در شرایط حاوی ۵ درصد CO2، رطوبت ۹۵ درصد و دمای ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد پس از آن غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر به چاهک‌ها اضافه و به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون ادامه یافت، در پایان با استفاده از تست MTT میزان مرگ سلولی تعیین گردید (۲۸).

یافته‌ها

درصد کشندگی عصاره گیاهان *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* در جدول ۱ نشان داده شده است، اثر کشندگی تریکومونایی عصاره آبی، متانولی، دیکلرومتانی و ان هگزانی گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۶۴ درصد، ۷۲/۴ درصد، ۹۵/۲ درصد و ۹۵/۴ درصد می‌باشد. اثر ضد تریکومونایی گیاه *پریپلوکا آفیلا* با غلظت مشابه نیز به ترتیب ۷۰/۸ درصد، ۶۷ درصد، ۹۳/۴ درصد و ۹۳/۲ درصد می‌باشد. در هر دو گیاه

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

بین عصاره‌های آبی و متانولی با دی کلرومتانی و ان هگزانی اختلاف کشندگی معناداری وجود دارد به‌طوری که میزان کشندگی برای عصاره دی کلرومتانی و ان هگزانی در دوز ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشتر از عصاره آبی و متانولی بوده است. میزان کشندگی سلولی (Cell cytotoxicity) عصاره متانولی هر دو گیاه بر روی سلول‌های (vero) انجام گرفت، که عصاره متانولی گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* باعث مرگ ۵۰/۳ درصد سلول‌ها و *پریپلوکا آفیلا* ۶۳ درصد سلول‌های (vero) شدند. به لحاظ آماری با آزمون من ویتنی، اختلاف بین کشندگی دوز ۵۰ و ۸۰۰ میکروگرم معنادار است (Pvalue=۰/۰۴)، (جدول ۲).

جدول ۱) میزان کشنگی گیاهان *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* بر ضد *تریکوموناس واژینالیس*

نام گیاهان	حلال	غلظت عصاره‌ها (میکروگرم بر میلی لیتر)					
		کشندگی (درصد)					
		۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰	۸۰۰
پرگولاریا تومنتوزا	آبی	۳۹/۷	۵۰	۵۵	۵۷	۵۸	۶۴
	متانولی	۴۲/۱	۵۸/۸	۶۲/۹	۶۵/۹	۶۸/۲	۷۲/۴
	دیکلرومتان	۸۸/۷	۹۰	۹۲	۹۲/۷	۹۴/۱	۹۵/۲
	ان هگزان	۸۹/۷	۹۱/۳	۹۱/۶	۹۲	۹۲/۲	۹۵/۴
	مترونیدازول	۶۹/۹	۷۵	۷۶/۱	۸۵/۶	۸۶	۹۷/۲
پریپلوکا آفیلا	آبی	۵۰/۳	۵۷/۳	۵۹	۶۰/۹	۶۳	۷۰/۸
	متانولی	۴۲/۲	۵۲/۳	۵۷/۱	۵۷/۱	۶۰/۸	۶۷
	دیکلرومتان	۸۸/۴	۸۸/۷	۸۹/۴	۸۹/۸	۹۲/۴	۹۳/۴
	ان هگزان	۸۷/۷	۸۹/۴	۹۰/۴	۹۱/۲	۹۲	۹۳/۲
	مترونیدازول	۶۹/۹	۷۵	۷۶/۱	۸۵/۶	۸۶	۹۷/۲

جدول ۲) درصد کشندگی عصاره هر دو گیاه بر روی سلول‌های (vero)

نام گیاه	غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)					
	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰	۸۰۰
پرگولاریا تومنتوزا	٪۱۷/۶	٪۲۳	٪۴۰/۵	٪۴۲/۳۶	٪۴۹/۱۵	٪۵۰/۳
پریپلوکا آفیلا	٪۳۵/۶	٪۵۳	٪۵۶	٪۵۶/۶	٪۵۸	٪۶۳

آنالیز ترکیبات موجود در هر دوگیاه با استفاده از تکنیک HPTLC در جدول ۳ و ۴ نشان داده شده است که در جدول ۳ ترکیبات شناسایی شده با ۶ مشتق‌ساز بیان شده است و در جدول ۴ ترکیبات شناسایی شده گیاهان *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* به تفکیک نوع حلال مشخص شده است. آنالیز آماری نشان می‌دهد که با افزایش غلظت عصاره‌ها و داروی مترونیدازول، اثر مهاری بر روی *تریکوموناس واژینالیس* افزایش یافته است. نتیجه آزمون من ویتنی برای مقایسه دوزهای ۵۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نشان می دهد که میزان کشندگی *تریکوموناس واژینالیس* به صورت معناداری بالا می‌رود (Pvalue=۰/۰۳) برای تعیین ترکیبات گیاهان از تکنیک HPTLC استفاده شد که با استفاده از ۵ ماده که در جدول ۳ آمده مشتق‌سازی انجام گرفت، نتایج نشان می‌دهد که عصاره آبی *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* حاوی ترکیبات آلکالوییید، فلاونوئید، ترپن، ساپونین، استرول، فنل، ایریدوییید، تانن، فنیل پروپانوییید و آنتوسیانین می باشد.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

جدول ۳) ترکیبات شناسایی شده در هر دو گیاه با استفاده از مشتق‌سازهای مختلف

ترکیبات استخراج شده	مشتق سازها											
	پرگولاریا تومنتوزا						*پریپلوکا آفیلا*					
	Natural products	Dragendorff's	Anisaldehyde-sulfouric acid:	Iron(III) chloride:	2,4-dinitropheny	vanillin-inorganic acid	Natural products	Dragendorff's	Anisaldehyde-sulfouric acid:	Iron(III) chloride:	2,4-dinitropheny	vanillin-inorganic acid
فلاونویید	+	−	−	+	−	−	+	−	−	+	−	−
کربوهیدرات	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−
آنتوسیانین	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−
اسید گیاهی	+	−	−	+	−	−	+	−	−	+	−	−
ترکیبات هتروسیکلیک نیتروژنه	−	−	−		−	−	−	−	−		−	−
آلکالویید	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−
ترپنویید	−	−	+	−	−	+	−	−	+	−	−	+
ساپونین	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−
استرول	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−
ایریدوویید	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−
ترکیبات چربی دوست	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−
فنل	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−
تانن	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−
کتون	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−
آلدئید	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−
سیلیمارین	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+	−
فنیل پروپانویید	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	+

\+ ترکیبات شناسایی شده با استفاده از مشتق ساز ذکر شده − عدم شناسایی ترکیبات با استفاده از مشتقات ذکر شده

جدول ۴) ترکیبات استخراج شده از گیاهان *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* با استفاده از حلال‌های مختلف

گیاهان	*پرگولاریا تومنتوزا*				*پریپلوکا آفیلا*			
ترکیبات	آبی	متانولی	دیکلرومتانی	ان هگزانی	آبی	متانولی	دیکلرومتانی	ان هگزانی
فلاونویید	+	+	−	−	+	+	−	−
کربوهیدرات	−	+	−	−	+	+	−	−
آنتوسیانین	−	+	−	−	+	+	−	−
اسید گیاهی	+	+	−	−	+	+	−	−
ترکیبات هتروسیکلیک نیتروژنه	−	−	−	−	−	-	−	−
آلکالویید	+	−	−	−	+	-	−	−
ترپنویید	−	+	+	+	−	+	+	+
ساپونین	−	+	+	+	−	+	+	+
استرول	−	+	+	+	−	+	+	+
ایریدوویید	−	+	+	+	−	+	+	+
ترکیبات چربی دوست	−	+	+	+	−	+	+	+
فنل	+	+	−	−	+	+	−	−
تانن	+	+	−	−	+	+	−	−
کتون	+	−	−	−	+	−	−	−
آلدئید	+	−	−	−	+	−	−	−
سیلیمارین	+	−	−	−	+	−	−	−
فنیل پروپانویید	−	+	+	+	−	+	+	+
فلاونویید	+	+	−	−	+	+	−	−

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

بحث

مطالعات انجام شده بر روی عصاره استخراج شده گیاهان نشان می‌دهد که داروهای گیاهی به دلیل عوارض کم، قیمت ناچیز و دسترسی بالا می‌توانند در کنترل بیماری‌های زیادی همچون تریکومونیازیس مؤثر باشند. داروی مترونیدازول سمی می‌باشد و عوارضی چون خشکی دهان، طعم فلز در دهان، وزوز کردن گوش، مورمور شدن بدن، سوزش و تیرگی ادرار می‌شود. داروی مترونیدازول در باکتری‌ها، جهش‌زا و در حیوانات، کارسینوژن می‌باشد (۲۶ و ۲۷). ما در این مطالعه خاصیت ضد تریکوموناسی هر دو گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* را به خصوص در عصاره دیکلرومتانی و ان هگزانی بیان کرده و نشان دادیم که متانول بهترین حلال برای استخراج عصاره هر دو گیاه می‌باشد. *پرگولاریا تومنتوزا* به شکل بوته می‌باشد که در استان‌های جنوبی کشور یافت می‌شود. مردم بومی از روغن میوه این گیاه به صورت سنتی برای درمان سالک استفاده می‌کنند. در مطالعه‌ای که توسط حسین و همکاران در آفریقا انجام شد، نشان دادند که گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* دارای ترکیباتی چون آلکالوییدز، کاردیاک گلیکوزید، سیانوژنیک گلیکوزید، ساپونین، فلاونوییدز و تانن می‌باشد و همچنین دارای مقدار بالای عناصر فسفر، پتاسیم و سدیم می‌باشد و در درمان بیماری‌های پوستی در آفریقا نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۹). بخیت (Bekheet) و همکاران نشان دادند که عصاره گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* روی بهبود فشار خون و کم کردن اثرات توکسیک قارچ آسپرژیلوس نایجر در حیوان آلوده مؤثر است (۲۲). همچنین در مطالعه‌ای که توسط پیاسنته (Piacente) و همکاران انجام شد، نشان داده شد که گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* دارای اثر ضد سلول‌های سرطانی انسانی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد (۳۰). *پریپلوکا آفیلا* نیز در طب سنتی به عنوان داروی گیاهی ضد میکروب شناخته می‌شود. در کشور پاکستان رئوف (Rauf) و همکاران، خواص ضد باکتریایی گیاه *پریپلوکا آفیلا* را نشان دادند، همچنین در این مقاله عنوان شده است که از این گیاه به عنوان تب بُر در تب سنتی استفاده می‌شود (۳۱). استفاده سنتی از این دو گیاه در درمان بیماری‌های مختلف ایده طرح این مطالعه در شرایط آزمایشگاهی را فراهم ساخت. از هر گیاه با استفاده از ۴ حلال آب، متانول، دی کلرومتان و ان هگزان عصاره‌گیری شد، که میزان قطبیت حلال‌ها به ترتیب بیشتر می‌شود که موجب حل شدن بیشتر ترکیبات موجود در هر دو گیاه شده و باعث استخراج این ترکیبات هنگام عصاره‌گیری می‌شود. ترکیبات استخراج شده گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* با عصاره دی کلرومتانی و ان هگزانی شامل ترپنوییدز، فنیل پروپانوییدز، ساپونین، استرول و ایریدوییدز می‌باشند و ترکیبات استخراج شده با عصاره آبی و متانولی شامل فنل، فلاونوییدز، آلدییدز، کتون، سیلیمارین، فنیل پروپانوییدز و تانن می‌باشد. ترکیبات استخراج شده برای گیاه *پریپلوکا آفیلا* نیز مشابه بوده فقط کربوهیدرات و آنتوسیانین در عصاره آبی و متانولی این گیاه استخراج شد، که در گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* استخراج نشد.

نتیجه‌گیری

این تحقیق به ما نشان داد که هر دو گیاه دارای ترکیبات مشابه بوده ولی مقدار ترکیبات استخراج شده با حلال‌های مورد استفاده متفاوت بوده است. تحلیل آماری مقایسه اثر کشندگی دو گیاه *پرگولاریا تومنتوزا* و *پریپلوکا آفیلا* نشان می‌دهد که تفاوت بین دو گیاه به لحاظ میزان اثر کشندگی روی *تریکوموناس واژینالیس* از نظر آماری معنادار نبوده است (Pvalue=۰/۲۷۹).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

هر چند میزان کشندگی عصاره متانولی هر دو گیاه روی سلول‌های (vero) در غلظت‌های مشابه کمتر از *تریکوموناس واژینالیس* بود، ولی نشان از سمیت نسبی عصاره نیز دارد. در انتها ذکر این نکته الزامی به نظر می‌رسد که ساز و کار علت تأثیر ضد باکتریایی و ضدانگلی این گیاهان هنوز دقیقاً مشخص نمی‌باشد و انجام تحقیقات تکمیلی‌تر برای دانستن آنکه کدام ترکیب یا ترکیبات جداسازی شده با استفاده از HPTLC دقیقاً عامل اثرات آن می‌باشد، ضروری به نظر می‌رسد.

سپاس و قدردانی

این پژوهش با حمایت‌های مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بوشهر انجام شده است. از مسئولین معاونت تحقیقات و فناوری و کارکنان محترم مرکز تحقیقات طب گرمسیری خلیج‌فارس که بدون کمک و مساعدت آنها انجام این تحقیق ممکن نبود، تشکر می‌نماییم.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, et al. Global estimates of the prevalence and incidence of four curable sexually transmitted infections in 2012 based on systematic review and global reporting. PloS One 2015; 10(12): e0143304.
2.Geelen TH, Hoebe CJ, Dirks A, et al. Low positivity rate after systematic screening for Trichomonas vaginalis in three patient cohorts from general practitioners, STI clinic and a national population-based chlamydia screening study. Sex Transm Infect 2013; 89(6): 532-4.
3.Shew ML, Fortenberry JD, Tu W, et al. Association of condom use, sexual behaviors, and sexually transmitted infections with the duration of genital human papillomavirus infection among adolescent women. Arch Pediatr Adolesc Med 2006; 160(2): 151-6.
4.Gottlieb SL, Douglas JM, Foster M, et al. Incidence of herpes simplex virus type 2 infection in 5 sexually transmitted disease (STD) clinics and the effect of HIV/STD risk-reduction counseling. J Infect Dis 2004; 190(6): 1059-67.
5.McClelland RS, Sangaré L, Hassan WM, et al. Infection with Trichomonas vaginalis increases the risk of HIV-1 acquisition. J Infect Dis 2007; 195(5): 698-702.
6.Van Der Pol B, Kwok C, Pierre-Louis B, et al. Trichomonas vaginalis infection and human immunodeficiency virus acquisition in African women. J Infect Dis 2008; 197(4): 548-54.
7.Kissinger P, Amedee A, Clark RA, et al. Trichomonas vaginalis treatment reduces vaginal HIV-1 shedding. Sex Transm Dis 2009; 36(1): 11-6.
8.Schmid G, Narcisi E, Mosure D, et al. Prevalence of metronidazole-resistant Trichomonas vaginalis in a gynecology clinic. J Reprod Med 2001; 46(6): 545-9.
9.Hager WD. Treatment of metronidazole-resistant Trichomonas vaginalis with tinidazole: case reports of three patients. Sex Transm Dis 2004; 31(6): 343-5.
10.Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, et al. Clinical and microbiological aspects of Trichomonas vaginalis. Clin Microbiol Rev 1998; 11(2): 300-17.
11.Kuriyama A, Jackson JL, Doi A, et al. Metronidazole-induced central nervous system toxicity: a systematic review. Clin Neuropharmacol 2011; 34(6): 241-7.
12.Chacko J, Pramod K, Sinha S, et al. Clinical, neuroimaging and pathological features of 5-nitroimidazole-induced encephalo-neuropathy in two patients: Insights into possible pathogenesis. Neurol India 2011; 59(5): 743.
13.Connor TH, Stoeckel M, Evrard J, et al. The contribution of metronidazole and two metabolites to the mutagenic activity detected

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

in urine of treated humans and mice. Cancer Res 1977; 37(2): 629-33.
14.Lindmark DG, Müller M. Antitrichomonad action, mutagenicity, and reduction of metronidazole and other nitroimidazoles. Antimicrob Agents Chemothe 1976; 10(3): 476-82.
15.Koss CA, Baras DC, Lane SD, et al. Investigation of metronidazole use during pregnancy and adverse birth outcomes. Antimicrob Agents Chemother 2012; 56(9): 4800-5.
16.Kazy Z, Puhó E, Czeizel AE. Teratogenic potential of vaginal metronidazole treatment during pregnancy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2005; 123(2): 174-8.
17.Centers for Disease Control and Prevention, Workowski KA, Berman SM. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. MMWR Recomm Rep 2006; 55(RR-11): 1-94.
18.Blaha C, Duchêne M, Aspöck H, et al. In vitro activity of hexadecylphosphocholine (miltefosine) against metronidazole-resistant and-susceptible strains of Trichomonas vaginalis. J Antimicrob Chemother 2006; 57(2): 273-8.
19.Wachter B, Syrowatka M, Obwaller A, et al. In vitro efficacy of curcumin on Trichomonas vaginalis. Wien Klin Wochenschr 2014; 126(1): 32-6.
20.Emami SA, Sahebkar A, Javadi B. Paresthesia: a review of its definition, etiology and treatments in view of the traditional medicine. Curr Pharm Des 2016; 22(3): 321-7.
21.Kaushik NK, Bagavan A, Rahuman AA, et al. Evaluation of antiplasmodial activity of medicinal plants from North Indian Buchpora and South Indian Eastern Ghats. Malar J 2015; 14: 65.
22.Bekheet SH, Abdel-Motaal FF, Mahalel UA. Antifungal effects of Ficus sycomorus and Pergularia tomentosa aqueous extracts on some organs in Bufo regularis treated with Aspergillus niger. Tissue Cell 2011; 43(6): 398-404.
23.Hassan SW, Umar RA, Ladan MJ, et al. Nutritive value, phytochemical and antifungal properties of Pergularia tomentosa L.(Asclepiadaceae). Int J Pharmacol 2007; 3(4): 334-40.
24.NU R, Aslam Kh, Urooj F, et al. Presence of laxative and antidiarrheal activities in Periploca aphylla: A Saudi medicinal plant. Int J Pharmacol 2013; 9(3): 190.
25.Mwololo SW, Mutiso JM, Macharia JC, et al. In vitro activity and in vivo efficacy of a combination therapy of diminazene and chloroquine against murine visceral leishmaniasis. J Biomed Res 2015; 29(3): 214-23.
26.Arabsalmany M, Behzadifar M, Olyaeemanesh A, et al. The prevalence of herpes simplex virus of pregnancy in Iran: A systematic review and meta-analysis. Iran J Child Neurol 2016; 11(2): 11309.
27.Sobel JD, Nyirjesy P, Brown W. Tinidazole therapy for metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis. Clin Infect Dis 2001; 33(8): 1341-6.
28.Mahmoudvand H, Sepahvand P, Jahanbakhsh S, et al. Evaluation of the antileishmanial and cytotoxic effects of various extracts of garlic (Allium sativum) on Leishmania tropica. J Parasit Dis 2016; 40(2): 423-6.
29.Hussein HI, Al-Rajhy D, El-Shahawi FI, et al. Molluscicidal activity of Pergularia tomentosa (L.), methomyl and methiocarb, against land snails. Int J Pest Manage 1999; 45(3): 211-3.
30.Piacente S, Masullo M, De Nève N, et al. Cardenolides from Pergularia tomentosa display cytotoxic activity resulting from their potent inhibition of Na+/K+-ATPase. J Nat Prod 2009; 72(6): 1087-91.
31.Rauf A, Muhammad N, Khan A, et al. Antibacterial and phytotoxic profile of selected Pakistani medicinal plants. World Appl Sci J 2012; 20(4): 540-4.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

Original Article

Evaluation of Lethal Effect of *Pergularia Tomentosa* and *Periploca aphylla* on *Trichomonas Vaginalis* In Vitro

MA. Fouladvand (PhD)[1], S. khorami (MSc)[2*], K. Sartavi (MSc)[3]

[1] Department of Microbiology and Parasitology, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

[2] Department of Laboratory Sciences, School of Paramedicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

[3] Jahad-Keshavarzi Research Center, Bushehr, Iran

(Received 9 Jan 2017 Accepted 20 Feb 2017)

Abstract

Background: *Trichomonas vaginalis* protozoan is one of the causes of human vaginitis. The selective medicine for treatment is metronidazole. However, it has some adverse outcomes including increasing drug resistance and having numerous side effects. *Pergularia tomentosa* is a desert plant with some antifungal and anti-Plasmodium properties. Interestingly, the anti-dermatophytic effect of *Priploca aphylla* is more powerful than conventional antifungal drugs such as griseofulvin. In this study, we aimed to use its ingredients to introduce a new medicine for the treatment of *Trichomonas vaginalis* infections.

Materials and Methods: *Pergularia tomentosa* and *Periploca aphylla* were collected, cleaned and dried. Then, plants main ingredients were extracted by using water, methanol, dichloromethane and n-hexane solvents. Then, herbal extracts with concentrations of 50, 100, 200, 400, 600, 800 µg/ml were prepared by adding normal saline and glycerin. *Trichomonas vaginalis* trophozoite with the concentration of 10^6/100 µl was mixed with 100 ml of an herbal extract of *Pergularia tomentosa* and *Priploca aphylla*. The mixture incubated for 24 hours at 37°C. The mortality rate of the protozoa was measured by using the MTT test, and the effect of extracts was evaluated on Vero cells. The phytochemical evaluation was performed using the HPTLC technique to determine the composition of the extract. All tests were repeated three times and SPSS software, version 16 was used for data analysis.

Results: Anti-Trichomonas aqueous, methanol, dichloromethane and n-hexane extracts of *Pergularia tomentosa* in 800µg/ml concentration was % 64, % 72.4, %95.2 and % 95.4 respectively. Lethal effect on Trichomonas for *Priploca aphylla* with the same concentration was 70.8%, 67%, 93.4% and 93.2% respectively. Cytotoxic effect of methanol extracts of *Pergularia tomentosa* and *Priploca aphylla* at 800µg/ml concentration against Vero cells was %50.3 and %63 respectively. Phytochemical screening of herbal extracts showed that both have the same ingredients including alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, sterol, phenol, iridoid, tannin, phenylpropanoid, and anthocyanins.

Conclusion: The results showed that for *Pergularia tomentosa* and *Priploca aphylla*, the dichloromethane and n-hexane extracts were more effective against *Trichomonas vaginalis* than methanolic and water extracts in all concentrations. For the future research, identification of the mechanism of *anti-Trichomonas vaginalis* effect of these herbal ingredients is necessary.

Key word: *Trichomonas vaginalis*, *Pergularia tomentosa*, *Priploca aphylla*, MTT, Vero

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Fouladvand MA, khorami S, Sartavi K. Evaluation of Lethal Effect of Pergularia Tomentosa and Priploca aphylla on Trichomonas Vaginalis In Vitro. Iran South Med J 2017; 20(4): 370-379

Copyright © 2017 Fouladvand, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[*]*Address for correspondence:* Department of Laboratory Sciences, School of Paramedicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran. Email: Khorami_bu@yahoo.com

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]