بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های هیدروالکلی پونه، نعناع، مرزه و مخلوط‌های دوگانه و سه‌گانهٔ آنها علیه تریکوموناس‌واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی

حجت اقبـال[الف*]، امید مؤذن‌زاده[ب]، الشن محمدی[ج]، سمانه فیضی[د]

[الف]دکتری تخصصی گیاهان دارویـی، گروه فیتوشیمی مرکز تحقیقات علوم پایه دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
[ب]کارشناسی ارشد زیست‌شناسی، مرکز رشد فرآورده‌های گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی استان اردبیل، اردبیل، ایران
[ج]دانشجوی کارشناسی مامایی، دانشکدهٔ پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
[د]کارشناس پرستاری، مرکز آموزشی پژوهشی و درمانی قائم، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

سابقه و هدف: تریکوموناس واژینالیس تک‌یاخته‌ای تاژک‌دارو بی‌هوازی است، که می‌تواند موجب عفونت منتقل شونده از طریق تماس جنسی در انسان شود. تریکومونازیس یکی از بیماری‌های شایع غیرویروسی دستگاه ادراری تناسلی است که توسط تاژک‌دار تریکوموناس واژینالیس ایجاد می‌شود. عفونت تریکومونایی واژن در زنان شایع است و علائمی مانند خارش و ترشحات غیرطبیعی دارد. عفونت از طریق تماس جنسی قابل انتقال است و عفونت در مردان اغلب بدون علامت است. درمان با ایمیدازول‌ها مانند تینیدازول و کلوتریمازول و مترونیدازول است. مترونیدازول و تینیدازول دو داروی انتخابی در درمان تریکومونازیس هستند اما سرطان‌زایی بالقوه، اثرات تراتوژنیک بر جنین و مقاومت این ارگانیسم به مترونیدازول گزارش شده است. باتوجه به اثرات سایتوتوکسیک گیاهان دارویی از جمله پونه، نعناع و مرزه بر روی ارگانیسم‌های میکروبی و به منظور تعیین تأثیر سه گیاه مذکور بر تریکوموناس واژینالیس، این تحقیق انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. عصاره‌های هیدرالکلی گیاهان پونه، نعنـاع و مـرزه بـا اسـتفاده از روش خیسـاندن تهیـه شـدند، سـپس در لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت انگل، غلظت‌های مختلفی از عصاره‌های هیدروالکلی پونه، نعناع و مرزه و مخلوط‌های دوگانه و سه‌گانهٔ عصاره‌های این سـه گیاه اضافه شد. در لولهٔ نهم، ۵۰ میکروگرم مترونیدازول به محیط کشت افزوده شد و به لولهٔ دهم فقط DMSO و در لولهٔ یازدهم۵۰ میکرولیتر محیط کشت درسـه افزوده شد. سپس به تمام محیط‌ها در حدود ۱۰۴ عدد انگل تریکوموناس (غلظت ثابتی از انگل) اضـافه شـد و داخل‌انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جهت بررسی میزان رشد انگل‌ها نمونه‌های فوق در بدو کشت، بعد از ۱۲ ساعت، و سپس ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد، هربار ۱۰ میکرولیتر از هر لولـه برداشـته و با استفاده از لام نئوبار تعداد انگل‌ها مورد شمارش و قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: قدرت ضدانگلی گیاهان دارویی پونه، نعناع و مرزه و هر دو مخلوط دوگانه در غلظت‌های ۵، ۸، ۱۰ و مخلوط سه‌گانهٔ عصاره‌ها در غلظت‌های ۴، ۵، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در بدوکشت اثری مهاری را روی انگل تریکوموناس از خود نشان دادند. به‌طوری که این اثرات شبیه اثرات داروی مترونیدازول است.

نتیجه‌گیری: باتوجه به نتایج موجود می‌توان گفت که مخلوط سه‌گانهٔ عصاره‌های هیدروالکلی پونه، نعناع و مرزه دارای اثـر بازدارنـدگی رشـد بسـیار قـوی روی تریکوموناس‌واژنالیس دارند و می‌تواند به‌عنوان دارویی جایگزین در نظر گرفته شود.

کلیدواژه‌ها: گیاهان دارویی، تریکوموناس واژینالیس، زنان، عصارهٔ هیدروالکلی، مخلوط سه‌گانه.

تاریخ دریافت: مرداد ۹۶
تاریخ پذیرش: بهمن ۹۶

مقدمه:

تریکومونیازیس شایع‌ترین بیماری غیرویروسی قابل انتقال از راه تماس جنسی است. این بیماری توسط تک‌یاختهٔ بیماری‌زای تریکوموناس واژینالیس به‌وجود می‌آید. تظاهرات بالینی تریکومونازیس در زنان شامل طیف گسترده‌ای از علائم شامل التهابات شدید، خارش، ترشحات فراوان کف آلود،

* فرد مسئول مکاتبات: hojat.eg@gmail.com

ترشحات موکوسی بدبو و سوزش ادرار است. تظاهرات بالینی در مردان شامل سوزش هنگام دفع ادرار، داشتن ترشحات شفاف یا موکوسی، سوزش و خارش شدید بعد از خروج ادرار است. البته اغلب در هر دو جنس (به‌خصوص در مردان) حتی در آلودگی‌های زیاد هم علامتی دیده نمی‌شود (۱). عوارض مرتبط با تریکومونازیس در زنان شامل زایمان زودرس، تولد نوزادان کم وزن، سقط جنین، پارگی زودرس کیسهٔ آب، حاملگی خارج رحم، اندومتریت پس از زایمان، سالپنژیت، سرویسیت مزمن، سرطان سرویکس و نازایی برگشت‌پذیر است و در مردان شامل پروستاتیت، التهاب اپیدیدیم، اورتریت، بیماری‌های اوترال و حتی ناباروری است (۳، ۲). این تاژکدار نقش بالقوه‌ای در ابتلاء به عفونت‌های ثانویه مانند ویروس پاپیلومای انسانی دارد و بروز سرطان گردن رحم و بیماری التهاب لگن نیز در اثر تریکوموناس واژینالیس ممکن است (۴). میزان شیوع‌در زنان در بین جمعیت‌های مختلف بین ۵ تا ۷۴ درصد گزارش شده است (۵). شیوع این انگل در کشور ایران ۱۵/۷تا ۲/۱ درصد برآورد شده است (۶). داروی انتخابی برای درمان بیماری تریکومونازیس، مترونیدازول و تینیدازول است، اما در سال‌های اخیر گزارش‌هایی مبنی بر کارسینوژن بودن این داروها و هم‌چنین موارد مقاومت دارویی نسبت به مترونیدازول گزارش‌شده است (۷). این‌گونه موارد ضرورت یافتن داروی جایگزین را برای درمان تریکومونیازیس مشخص‌می‌کند. شواهد به‌جای مانده از دوران قدیم نشان می‌دهد که گذشتگان از گیاهان به‌عنوان دارو در درمان بیماری‌ها استفاده می‌کردند. با گسترش شاخه‌های مختلف علوم، استفاده از مواد شیمیایی در تولید داروها، توجه محققان را به خود معطوف کرد، اما طی مدت زمان کوتاهی عوارض آن‌ها شناخته شد، لذا پژوهشگران مجدداً مجبور به استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌ها شدند (۸). از طرفی‌استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به افزایش مقاومت‌های دارویی علیه این داروها شده است. همین موضوع یکی از دلایل استفادهٔ رو به رشد از گیاهان به‌عنوان مواد طبیعی کم‌خطر، در دسترس و ارزان قیمت، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک، در درمان عفونت‌های‌میکروبی بوده است. هم‌چنین داروهای‌گیاهی نزد مردم دارای مقبولیت بیشتری در هنگام مصرف است (۹). این دلایل علت افزایش موج جدید مطالعات گسترده و معرفی اثرات ضدمیکروبی گیاهان مختلف در سال‌های اخیر بوده است. در این میان گیاهان دارویی به‌خصوص مواردی که خاصیت ضد میکروبی آن‌ها در مطالعات دیگر مشخص شده، توجه محققان را به خود جلب کرده است. تاکنون اثرات ضدتریکومونیایی چند گونهٔ گیاهی از جمله موسیر، بومادران، برگ گردو، افسنطین در سال‌های اخیر گزارش شده است (۱۱، ۱۰). این مطالعه به‌منظور مقایسهٔ فعالیت ضد تریکوموناسی عصاره‌های هیدروالکلی مرزه، نعناع، پونه، مخلوط‌های دوگانه و سه‌گانهٔ این عصاره‌ها انجام شد.

خصوصیات گیاه‌شناسی و درمانی مرزه، نعناع و پونه:

اولین گیاه مورد مطالعه در این تحقیق، گیاه‌دارویی پونه با نام علمی *Menthe longifolia* L. که یک گیاه چندساله ریزوم‌دار است. دارای ساقه‌های افراشته و گاهاً خمیده، که در محل مقطع مربعی و ارتفاع آن در مرحلهٔ بالغ به ۱/۵ متر می‌رسد. برگ‌ها ساده، متقابل یا بدون دم‌برگ نیزه‌ای شکل (زیرگونه capensis) یا نیزه‌ای کشیده (زیرگونهٔ polyadena) که بیشتر از ۹۰ میلی‌متر طول و ۲۲ میلی‌متر عرض، کاملاً کرک‌دار در یکی یا هر دو سطح (زیرگونهٔ capensis) یا بدون کرک (زیرگونهٔ polyadena) با کناره‌های کاملاً دندانه‌دار و نوک‌تیز هستند. گل‌ها نیز از گلچه‌های کوچک با طول حدود ۵- ۳ میلی‌متر به رنگ سفید تا ارغوانی روشن، در دسته‌هایی که یک خوشه‌ی استوانه‌ای شکل به‌طول ۱۰۰ میلی‌متر و عرض

۱۴ میلی‌متر را تشکیل می‌دهند (۱۲). قسـمت‌هـای مختلف این گیاه دارای تانن، مواد رزینی، مواد پکتیکی، قند و اسانس است. اسانس پونه بر حسب آنکه از تقطیر اعضاء چه نوع گیاهی بـــــه‌دست آمده باشد مشخصات نسبتاً متفاوتی نشان می‌دهد. به‌طور کلی پونه موجب برطرف شدن حالت تهـوع و اسـتفراغ، مشکلات و ناراحتی های گوارشی می‌شود به‌طوری که از ترش کردن معده جلوگیری می‌کند و برای هضم غذا و برطرف کردن سکسـکه مفیـد اسـت (۱۴، ۱۳). هـم‌چنـین پونـه در درمـان سرماخوردگی، آنفلوآنزا، آسم، سرفه و سیاه‌سرفه، گرفتگی بینی نیز مفید است. باتوجه به خواص ضد میکروبی که در عصاره و اسانس پونه وجود دارد، می‌توان از ایـن فـرآورده‌هـا بـه‌عنـوان جایگزین طبیعی برای آنتـی‌بیوتیـک‌هـا اسـتفاده کـرد (۱۷، ۱۶، ۱۵).

دومین گیاه مورد مطالعه در این تحقیق، گیاه دارویی نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha pipertia* L. از خانوادهٔ Lamiaceae از جملهٔ گیاهان دارویی و معطری است که اسانس آن مصارف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی فراوانی دارد. این گونه، هیبریدی اسـت که از تلاقی بین گونه‌هـای Mentha aquatic و Menthaspicata به‌دست آمده است (۱۹، ۱۸). ترکیبات موجود در این گیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، قارچ‌کشی و حشره‌کشی می‌باشند (۲۱، ۲۰). خاصیت ضد میکروبی آن علیه Escherichia coli ,Staphylococcus aureus و Candida albicans تأیید شده است (۲۴، ۲۳، ۲۲). اثـر عصارهٔ این گیاه روی تشکیل مایهٔ قارچ‌های اندوفیت برگی مورد بررسی قرار گرفته و تأثیر بازدارندگی آن به اثبات رسیده است (۲۵). هم‌چنین ثابت شده که اسانس روغنی نعناع باعث از بین رفتن گونه‌ای از سالمونلا شده است و روی Candida albicans دارای بازدارندگی می‌باشد (۲۶). در کروماتوگرافی، وجود دی‌اتیل‌اتر و استیک اسید در عصارهٔ گیاه به اثبات رسیده که میزان این ترکیبات به محیط رویش گیاه بستگی دارد (۲۷)، هم‌چنین وجود شش مادهٔ شیمیایی ایزومنتول، پولگن، نئومنتول، منتول، پیپریتون و نئوایزومنتول در روغن گیاه مشخص شده است (۳۰، ۲۹، ۲۸).

منوترپن‌ها و سسکویی‌ترپن‌ها نیز در گیاه نعناع‌فلفلی سنتز می‌شـود (۳۱)، ترکیبات منتول، اتیل‌استات و نئومنتول در اندام‌های مسن گیاه بیشتر وجود دارد در حالی که منتول و ایزومنتول در اندام‌های جوان یافت می‌شوند. همچنین در مقایسه با برگ‌ها، گل‌ها حاوی مقادیر بیشتری از منتوفورین هستند (۳۲). وجود فلاونوئیدها نیز در برگ گزارش شده است (۳۳). فلاونوئیدها گروهی از متابولیت‌های ثانویه هستند که در بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیکی گیاه شامل فعالیت‌های دفاعی گیاه دخالت دارند (۳۴). شش فلاونوئید شامل اریوسیتین، ناریروتین، هیسپریدین، لوتیولین ۱-۷، روتینوساید، ایزورویفولین، دیوسمین و هم‌چنین رزماریک اسید در جنس M. pipertia وجود دارد (۳۵). وجود ترکیب منتوفرولاکتون نیز در اندام‌های هوایی نعناع‌فلفلی گـزارش شـده است (۳۶). اسانس این گیاه حداقل ۵ درصد استر و حداقل ۵۰ درصد منتول به حالت استری یا آزاد، ۳-۵ درصد منتون و مقدار کمی سینئول و دیگر ترپن‌ها را داراست (۳۷).

سومین گیاه مورد مطالعه در این تحقیق، گیاه‌دارویی مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* L. مـــی‌باشـــد. جنس مرزه Satureja (خانوادهٔ Lamiaceae، زیر خانوادهٔ Nepetoideae) حدوداً دارای ۲۰۰ گونهٔ گیاهی و درختچه‌ای است. گیاهان این جنس آروماتیک، یک‌ساله یا همیشگی، نیمـــــه انبوه و اغلب آروماتیک بوده و به‌طور گسترده‌ای در مناطق خشک، آفتابی، سنگلاخی و صخره‌هـای مدیترانه، آسیا و آمریکای شمالی رشد می‌کنند (۳۸). به‌علت محتوای فنلی زیاد، طعم و بوی این گیاه مشابه آویشن و پونهٔ کوهی زراعی است (۳۹). خیلی از اعضای

جنس مرزه گیاه چندمنظوره‌ای هستند که ویژگی‌های آروماتیک و پزشکی دارند. در پزشکی سنتی برای درمان بیماری‌های مزمن، مثل قولنج، دردهای عضلانی، تهوع، سوءهاضمه، اسهال و بیماری‌های عفونی استفاده می‌شده‌اند (۴۰). امروزه نیز مطالعاتی برای بررسی اثرهای دارویی و درمانی آن نظیر ضد نفخ، اثرهای گوارشی، ضد تشنج، خلط آور، قارچ‌کشی، ضد اسهال، مسکن و آنتی‌اکسیدانی انجام شده است (۳۹). اهمیت آن در سلامتی انسان به‌دلیل وجود مواد تری‌ترپنوئیدی (۴۱)، فلاونوئیدی (۴۲) آن است. در ایران گونه‌های مرزه در قسمت‌های کوهستانی شمال و غرب ایران وجود دارند *Satureja hortensis* L. دارای کارواکرول، تیمول، گاماترپینن و پاراسمین نیز است.

مواد و روش‌ها:

الف) جمع‌آوری و شناسایی گیاهان:

گیاهان مورد استفاده در این تحقیق در جدول زیر آورده شده است. گیاهان مورد بررسی از مناطق مختلف استان‌های اردبیل و آذربایجان‌شرقی، واقع در شمال‌غرب ایران، جمع‌آوری شدند. پس از جمع‌آوری با استفاده از مجموعهٔ کتب فلور گیاهی ایران و نمونهٔ موجود در هرباریوم بخش تحقیقات گیاهان دارویی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل و دانشکدهٔ داروسازی تبریز مورد شناسایی و تطبیق قرار گرفتند و پس از اطمینان از صحت انتخاب، گیاهان مورد نظر خشک شدند. بعد از خشک شدن گیاهان در دمای ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد اتاق و در سایه، به‌وسیلهٔ آسیاب برقی و با استفاده از الک، قسمت‌های هوایی گیاه به‌صورت پودر تهیه شد (۴۳).

ب) تهیهٔ عصاره:

پودرهای تهیه شده در داخل بشر ریخته شد و جهت

ردیف	نام - فارسی	نام علمی	تیره	اندام مورد استفاده	نوع عصاره
۱	پونه	*Menthe longifolia* L.	نعناعیان	اندام هوایی	هیدروالکلی
۲	نعناع فلفلی	*Mentha piperata* L.	نعناعیان	اندام هوایی	هیدروالکلی
۳	مرزه	*Satureja hortensis* L.	نعناعیان	اندام هوایی	هیدروالکلی

عصاره‌گیری به‌روش خیساندن، به‌نسبت ۸ به ۱ به آن اتانول ۹۶ درصد اضافه شد و به‌مدت یک هفته در یخچال قرار داده شد. در طی این مدت ۲ بار بشرهای محتوی عصاره به مدت ۱۵ دقیقه به‌منظور استخراج بهتر و بیشتر ترکیبات مؤثر گیاه در دستگاه اولتراسوند قرار داده شدند (۴۵، ۴۴). و پس از آن محتویات داخل بشر به‌وسیلهٔ کاغذ صافی و قیف شیشه‌ای صاف گردید. سپس توسط دستگاه روتاری مدل lab tech, Ev ۳۱۱ تغلیظ و جهت خشک شدن داخل پتری دیش ریخته و زیر هود قرار داده شد (۴۳). بعد از سپری شدن ۴ روز، عصاره‌های خشک به‌دست آمد.

بررسی خاصیت ضد تریکوموناسی:

این مطالعه روی ترشحات تریکوموناسی به دست آمده از بیمارانی با علامت واژنیت با استفاده از عصاره‌های هیدروالکلی پونه، نعناع و مرزه و مخلوط‌های دوگانه و سه‌گانه عصاره‌های این سه گیاه انجام شد. عصارهٔ هیدروالکلی گیاهان به‌روش خیساندن تهیه شد، ضمن هماهنگی با مراکز درمانی و انتقال میکروسکوپ به مراکز فوق نمونه‌گیری از کلیه مراجعان به مرکز بهداشت شماره ۲ مشگین‌شهر (فاقد خون‌ریزی که از یک ماه قبل داروهای ضدانگلی یا آنتی‌بیوتیک خاصی استفاده نکردند) انجام شد. ترشحات واژینال زنان دارای علائم واژینیت مراجعه‌کننده به مراکز درمانی، به روش مستقیم جداسازی و پس از تأئید، انگل تریکوموناس در محیط درسه (تهیه شده از تخم‌مرغ) در محیط TYSS کشت داده شد. برای

بررسی اثر ضـد تریکوموناسـی هـر گیـاه از ۱۱ لولـهٔ آزمـایش استفاده گردید. در لوله‌های یک تا هشت، غلظت‌های۱۰، ۸، ۵، ۴، ۲/۵، ۲، ۱/۲۵، ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصـاره‌هـا اضـافه شد. در لولهٔ نهم، ۵۰ میکروگرم مترونیدازول بـه محـیط کشـت اضافه شد و به لولهٔ دهم فقط DMSO اضافه گردیـد و در لولـهٔ یازدهم ۵۰ میکرولیتر محیط کشت درسه. در آخر به هر لوله در حدود ۱۰۴ عدد انگـل تریکومونـاس (غلظـت ثـابتی از انگـل) اضافه شد و داخل‌انکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. برای بررسی میزان رشد انگل‌هـا نمونه‌های فوق در بدو کشت، بعد از ۱۲ ساعت، و سپس ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد، هـر بـار ۱۰میکرولیتر از هر لوله برداشته و با استفاده از لام نئوبار تعـداد انگل‌ها مورد شمارش قرار گرفت. جهت کاهش ضریب خطای آزمایشگاهی و انسانی کلیه آزمایشات سه مرتبـه تکـرار شـد و میانگین شمارش انگل در سه مرتبه به‌عنوان نتیجه گزارش شـد (۴۶).

تعیین MIC: محاسبهٔ درصد ممانعت از رشد انگل (MIC):

برای بررسی تأثیر عصاره‌ها بر روی تریکوموناس واژینالیس بر اساسMIC (Minimum Inhibitory Concentratin) صورت گرفت. بدین منظور از فرمول زیر استفاده شد:

درصد عدم رشد انگل = $(a-b)/a \times 100$

دراین فرمول a میانگین تعداد انگل موجود درگـروه شـاهد وb میانگین تعداد انگل زنده درگـروه مـورد بررسـی مـی‌باشـد (۴۶).

بحث:

تریکومونازیس شایع‌ترین بیماری غیرویروسی قابل انتقال از راه تماس جنسی است. این بیماری که توسط تک‌یاخته بیماری‌زای تریکوموناس واژینالیس به‌وجود می‌آید باعث صدمات و عوارضی از قبیل زایمان زودرس، تولد نوزادان کم وزن و سقط جنین می‌شود. درمان رایج این بیماری مترونیدازول است که دارای عوارض جانبی از جمله سردرد، ضعف، بی‌خوابی، التهاب معده، سرگیجه، تهوع، استفراغ، خشکی دهان، طعم فلزی در دهان، وزوزکردن گوش، مورمورشدن بدن، راش پوستی، ادرار تیره و سوزش ادرار است (۳). داروی مترونیدازول در باکتری‌ها جهش‌زا و در حیوانات آزمایشگاهی کارسینوژن بوده و نیز سـبب تضعیف سیستم ایمنی همورال و سلولار می‌شود. همچنین‌گزارش‌های زیادی از بسیاری از کشورها مبنی بر شیوع مقاومت به مترونیدازول و عوارض کارسینوژنیک آن، پژوهشگران را بر آن داشته تا به جستجوی داروهای جایگزین بپردازند (۷). گیاهان دارویی از گذشته به‌صورت گسترده در درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفتند. این استفادهٔ گسترده می‌تواند به‌دلایل مختلفی چون مزیت کمتر بودن عوارض جانبی، پذیرش بهتر بیمار به‌علت توصیهٔ طب سنتی و استفادهٔ نسل‌های گذشته و یا قیمت کمتر گیاهان دارویی باشد. اثرات درمانی گیاهان دارویی بیشتر با - عملکرد فیزیولوژیک طبیعی بدن انسان سازگاری بیشتری دارد. به همین منظور، استفاده از داروهای گیاهی از اهمیت بالایی برخوردار است، چرا که نکتهٔ مهم در مطالعات دارویی، میزان توکسیک بودن دارو بر سلول‌های بدن است و مترونیدازول دارای اثرات توکسیک بر سلول‌های سالم عـلاوه بر انگل است (۴۷،۸). در حالی که گیاهان دارویی نه‌تنها دارای حداقل اثرات جانبی هستند، بلکه می‌توانند در تقویت سیستم‌های دیگر بدن نقش داشته باشند.

گزارش‌های متعددی مبنی بر اثر ضد میکروبی عصارهٔ برخی گیاهان وجود دارد. از آن جایی که احتمال دارد این گیاهان نقش مؤثری در کنترل بیماری‌ها داشته باشند، ارزیابی دقیق گیاهان دارویی ضروری به‌نظر می‌رسد. بسیاری از

داروهای شناخته شده و معروف دارای منشأ گیاهی هستند. برای مثال، کینین که از پوست درخت گنه تهیه می‌شود و در درمان مالاریا به‌کار می‌رود دارای مشتقات سنتتیک زیادی هم-چون کلروکین، آمودیاکین و پریماکین است. در نهایت افزایش تقاضا برای داروهای طبیعی ممکن است به یافتن داروهای ضدانگلی جدیدی منجر شود که دارای حداقل اثرات جانبی باشند. مکانیسم اثر مترونیدازول که به‌عنوان داروی سنتتیک ضد آمیب، ژیاردیا و تریکوموناس واژینالیس به‌کار می‌رود شکستن زنجیره‌های DNA است که گاه باعث اثرات جانبی خطرناکی بر روی میزبان نیز می‌شود (۴۸). بالاترین ترکیب موجود در پونه و نعناع به‌کار رفته در این مطالعه پولگن بود که اثرات ضد میکروبی آن در مطالعه‌های مختلف گزارش شده است. در مطالعهٔ صورت گرفته بر روی خصوصیات اسانس گیاه منتا پیپریتا، ترکیب منتول موجود در اسانس نقش بسیار مهمی در فعالیت ضد میکروبی گیاه داشت (۳۰، ۲۹، ۲۸) روغن‌های اسانسی جداشده از گونه‌های مختلف مرزه خصوصیات زیستی خاصی مثل اثر ضدمیکروبی(۵۰، ۴۹، ۴۰)، ضد HIV-1 (۵۱)، ضد ویروسی (۵۲)، آنتی‌اکسیدانی (۵۳)، ضد تشنج و ضد اسهال (۵۴، ۳۹) هستند. فعالیت ضد میکروبی و ضد اسهال روغن‌های اسانسی به‌دلیل فنل‌های موجود در اسانس است (۵۵).Jankov و همکاران گزارش کردند که اسانس گیاهان *Lavandula angustifolia* و *Mentha piperita* از تریکوموناسایدهای قوی می‌باشند (۵۶). اما نتایج ترزا و همکاران برای مقایسهٔ اثر ضد تریکوموناسی گوسیپول و مترونیدازول در شرایط In vitro نشان داد که مترونیدازول ده برابر قوی‌تر از گوسیپول با غلظت معادل روی تریکوموناس اثر دارد (۵۷). تحقیقات انجام شده روی گیاهان مختلف منجر به تولید داروهای مختلف ضد تریکومونایی در جهان شده است PH=۵. ازجمله دارویی مشتق از چند گیاه *Emblica officinalis*, *,Terminalia belerica*, *Curcuma longa*, *Boerhaavia diffusa*, *Rosa centifolia*, *Vitex negundo, Elettaria cardamomum* است که به‌صورت ژل واژینال در سوپرمارکت‌های هندوستان به فروش می‌رسد (۵۸). قرص، سوسپانسیون و کرم چندگیاهی Praneem به‌عنوان ضد باکتری، قارچ و انگل و ویروس در هندوستان، مصر و ایالت دومینیکن استفاده می‌شود (۵۹).

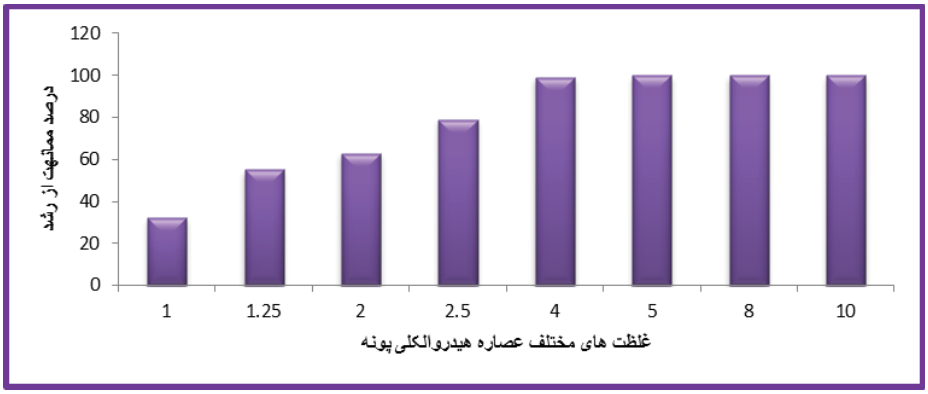
نتیجه‌گیری:

باتوجه به نتایج موجود در جدول شمارهٔ یک مشاهده می‌شود، قدرت ضد انگلی گیاهان دارویی پونه، نعناع و مرزه و هر دو مخلوط دوگانه در غلظت‌های ۵، ۸، ۱۰ و مخلوط سه‌گانهٔ عصاره‌ها در غلظت‌های ۴، ۵، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر شبیه مترونیدازول است. همچنین مخلوط سه‌گانه حاصل از عصاره‌ها، دارای اثر مهارکنندگی قوی‌تری نسبت به سایر عصاره‌ها است، به طوری که غلظت‌های ۴، ۵، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در بدو کشت اثری مهاری را روی انگل تریکوموناس از خود نشان دادند. در بررسی اثر متقابل عصاره‌ها نیز گیاه دارویی پونه اثر مهارکنندگی بهتری نسبت به دو گیاه دیگر از خود نشان داد. همچنین انگل تریکوموناس در محیط کشت تهیه شده از تخم‌مرغ (درسه) تا ۷۲ ساعت زنده ماند و در مجاورت مترونیدازول یک ساعت بعد، از بین رفت. درصد ممانعت از رشد انگل عصاره‌ها نشان داد که عصارهٔ سه گیاه دارویی پونه، نعناع و مرزه نتایج نسبتاً مشابهی را به هم نشان می‌دهند، به صورتی که در غلظت‌های ۱، ۱/۲۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اثر مهاری چندانی ندارند و انگل‌ها پس از گذشت ۷۲ ساعت هم‌چنان وجود دارند در صورتی که گیاه دارویی پونه و مرزه در غلظت ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پس از گذشت ۲۴ ساعت مانع از رشد تریکوموناس واژینالیس می‌شوند. مخلوط‌های دوگانه اثرات نسبتاً قوی ولی مشابه را از خود نشان می‌دهند، در حالی که مخلوط سه‌گانه عصاره‌های

هیدروالکلی در غلظت‌های ۱ و ۱/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اثـر مهاری از خود نشـان نمـی‌دهنـد و در غلظـت۲ میلـی‌گـرم در میلی‌لیتر ۱۲ ساعت بعد و در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتـر پس از گذشت ۲۴ سـاعت اثـرات مهـاری را از خـود نمـایش می‌دهد. این در حالی است که مخلوط سه‌گانه در غلظـت‌هـای ۴، ۵، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از بدو انجـام کشـت اثـرات مهارکنندگی تریکوموناس واژینالیس را نمایش دادند.

جدول شماره ۱: تأثیر غلظت‌های مختلف عصارهٔ هیدروالکلی پونه بر روی تعداد انگل تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول.

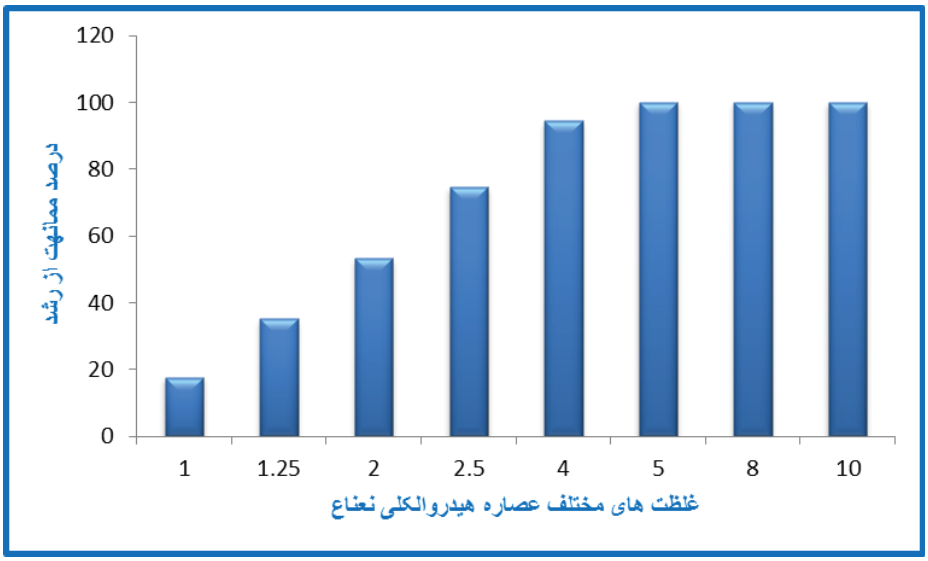
ردیف	عصارهٔ مورد مطالعه	غلظت عصاره Mg/ml	میانگین شمارش انگل بدوکشت	میانگین شمارش انگل ۱۲ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۲۴ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۴۸ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۷۲ساعت بعد	GI٪
۱	عصارهٔ گیاه پونه	۱	۳۲/۶	۴۳/۳	۱۲۶	۲۶۰	۷۳/۳	۳۳/۲
		۱/۲۵	۲۵/۲	۳۸/۳	۵۴/۶	۱۶۲	۸۰/۶	۵۵/۰۲
		۲	۱۹/۶	۲۹/۸	۴۶/۸	۱۲۴/۳	۷۶/۴	۶۳
		۲/۵	۱۴/۴	۲۲	۲۶	۶۳/۳	۴۲	۷۹
		۴	۹	۶/۳	۰	۰	۰	۹۹
		۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۸	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۲	فلوکونازول	۵۰ میکروگرم	اکثراً مرده	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۳	انگل در محیط کشت	۵۰	۵۳	۶۲	۱۰۳	۵۸۴	مرده بودند	–



نمودار شماره ۱: درصد ممانعت از رشد انگل پس از تأثیر غلظت‌های مختلف عصارهٔ هیدروالکلی پونه.

جدول شماره ۲: تأثیر غلظت‌های مختلف عصارهٔ هیدروالکلی نعناع بر روی تعداد انگل تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول.

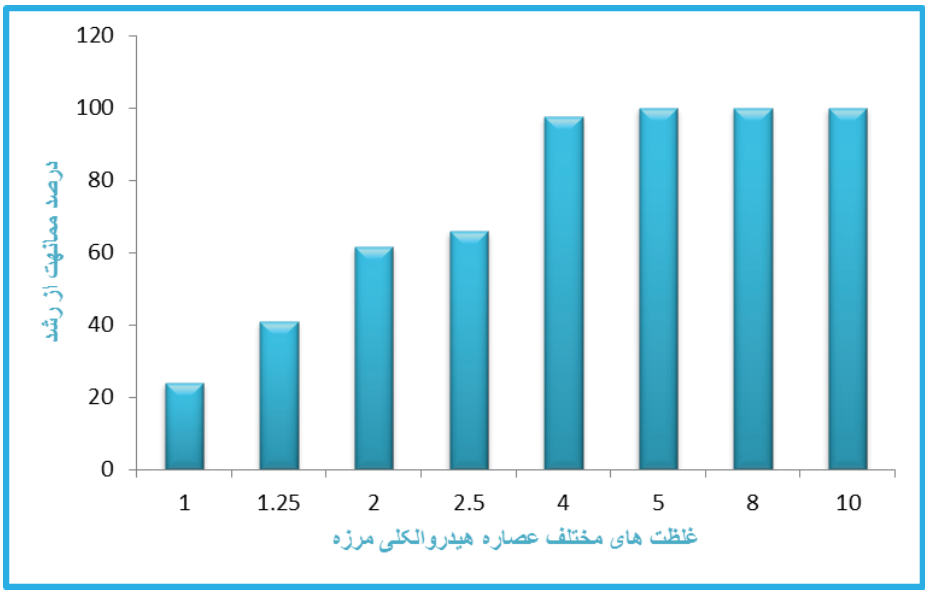
ردیف	عصارهٔ مورد مطالعه	غلظت عصاره Mg/ml	میانگین شمارش انگل بدوکشت	میانگین شمارش انگل ۱۲ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۲۴ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۴۸ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۷۲ساعت بعد	GI٪
۱	عصارهٔ گیاه نعناع	۱	۴۰/۸	۶۱/۲	۱۶۴/۸	۳۰۸/۳	۸۵/۳	۱۷/۶
		۱/۲۵	۳۸/۵	۵۱/۳	۹۲/۲	۲۶۵/۶	۷۱/۶	۳۵/۲
		۲	۲۶/۲	۳۸/۸	۵۴/۲	۱۹۲/۷	۶۲/۳	۵۳/۳۴
		۲/۵	۱۶/۶	۲۹/۶	۳۹	۷۶/۳	۴۲	۷۴/۶
		۴	۱۶/۴	۸/۳	۲/۸	۱۲	۴/۳	۹۴/۵۳
		۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۸	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۲	فلوکونازول	۵۰ میکروگرم	اکثراً مرده	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۳	انگل در محیط کشت	۵۰	۵۳	۶۲	۱۰۳	۵۸۴	مرده بودند	-



نمودار شماره ۲: درصد ممانعت از رشد انگل پس از تأثیر غلظت‌های مختلف عصارهٔ هیدروالکلی نعناع.

جدول شماره ۳: تأثیر غلظت های مختلف عصارهٔ هیدروالکلی مرزه بر روی تعداد انگل تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول.

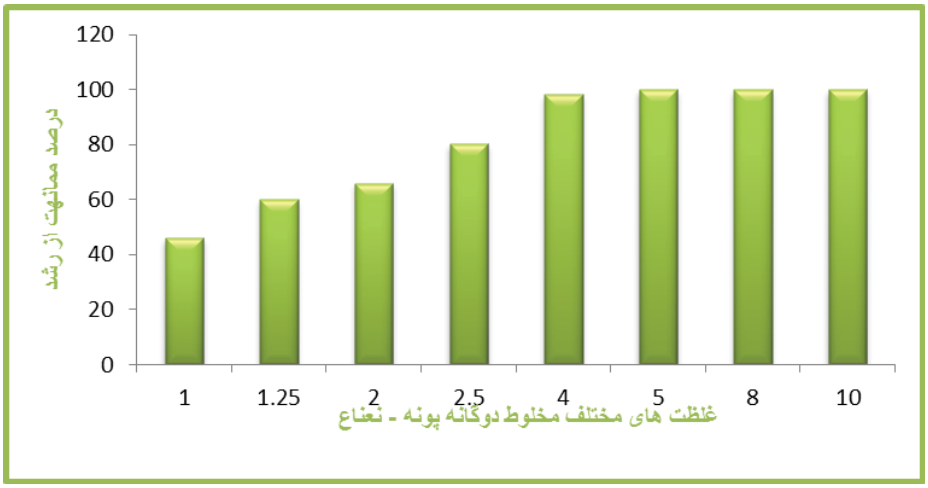
ردیف	عصارهٔ مورد مطالعه	غلظت عصاره Mg/ml	میانگین شمارش انگل بدوکشت	میانگین شمارش انگل ۱۲ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۲۴ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۴۸ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۷۲ساعت بعد	٪GI
۱	عصارهٔ گیاه مرزه	۱	۳۵/۴	۵۴/۷	۱۴۸/۶	۲۹۵/۴	۸۰/۷	۲۴
		۱/۲۵	۳۲/۵	۴۵/۲	۸۳/۶	۲۳۴/۲	۷۵/۶	۴۱
		۲	۲۱/۶	۳۶/۸	۴۸/۸	۱۳۲/۳	۶۸/۲	۶۱/۶
		۲/۵	۱۸/۴	۶۲/۶	۶۸/۲	۷۱/۳	۵۶/۵	۶۶
		۴	۹/۳	۷/۴	۰	۰	۰	۹۷/۹
		۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۸	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۲	فلوکونازول	۵۰ میکروگرم	اکثراً مرده	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۳	انگل در محیط کشت	۵۰	۵۳	۶۲	۱۰۳	۵۸۴	مرده بودند	–



نمودار شماره ۳: درصد ممانعت از رشد انگل پس از تأثیر غلظت‌های مختلف عصارهٔ هیدروالکلی مرزه.

جدول شماره ۴: تأثیر غلظت‌های مختلف مخلوط دوگانهٔ عصاره‌های هیدروالکلی پونه و نعناع بر روی تعداد انگل تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول.

ردیف	عصارهٔ مورد مطالعه	غلظت عصاره Mg/ml	میانگین شمارش انگل بدوکشت	میانگین شمارش انگل ۱۲ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۲۴ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۴۸ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۷۲ساعت بعد	GI٪
۱	مخلوط عصاره‌های پونه و نعناع	۱	۲۹/۸	۳۶/۷	۱۰۵/۴	۱۹۴/۶	۶۵/۲	۴۶
		۱/۲۵	۲۳/۳	۳۲/۳	۵۰/۶	۱۳۴/۳	۸۰/۶	۶۰
		۲	۱۶/۵	۲۳/۶	۳۹/۶	۱۱۶/۳	۷۶/۴	۶۶
		۲/۵	۱۲/۷	۱۹/۲	۲۴/۷	۶۰/۲	۴۲	۸۰/۱
		۴	۸/۲	۶/۱	۰	۰	۰	۹۸/۲
		۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۸	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۲	فلوکونازول	۵۰ میکروگرم	اکثراً مرده	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۳	انگل در محیط کشت	۵۰	۵۳	۶۲	۱۰۳	۵۸۴	مرده بودند	-



نمودار شماره ۴: درصد ممانعت از رشد انگل پس از تاثیر غلظت‌های مختلف مخلوط دوگانه پونه– نعناع.

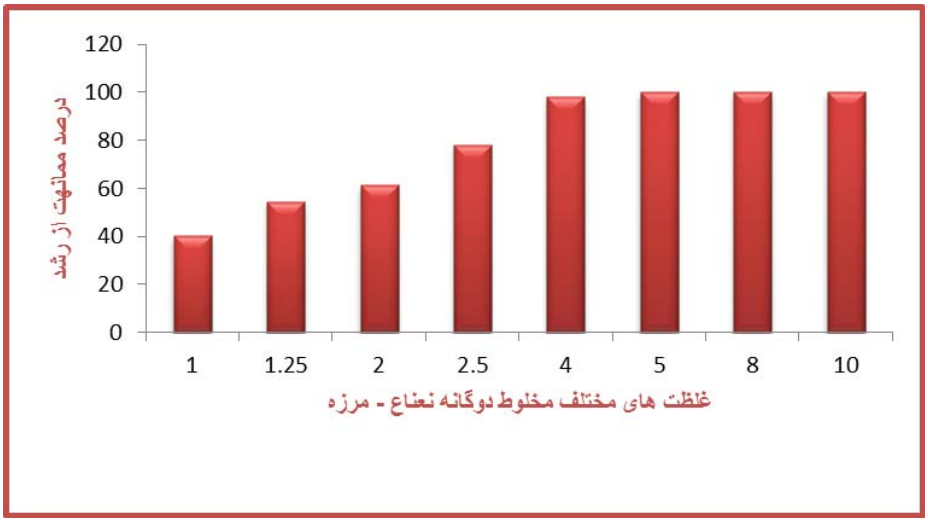
جدول شماره۵: تأثیر غلظت‌های مختلف مخلوط دوگانه عصاره‌های هیدروالکلی پونه و مرزه بر روی تعداد انگل تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول.

ردیف	عصارهٔ مورد مطالعه	غلظت عصاره Mg/ml	میانگین شمارش انگل بدوکشت	میانگین شمارش انگل ۱۲ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۲۴ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۴۸ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۷۲ساعت بعد	٪GI
۱	مخلوط عصاره‌های پونه و مرزه	۱	۲۶/۷	۳۲/۴	۹۸/۲	۱۶۹/۶	۵۹/۲	۵۱/۸
		۱/۲۵	۲۰/۳	۲۸/۶	۴۸/۴	۱۲۱/۴	۷۹/۲	۶۲/۸
		۲	۱۵/۳	۱۹/۸	۳۴/۳	۱۰۴/۷	۷۲/۳	۶۹/۲
		۲/۵	۱۲/۲	۱۸/۶	۲۱/۷	۵۱/۶	۳۵/۴	۸۲/۶
		۴	۶/۴	۰	۰	۰	۰	۹۹
		۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۸	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۲	فلوکونازول	۵۰ میکروگرم	اکثراً مرده	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۳	انگل در محیط کشت	۵۰	۵۳	۶۲	۱۰۳	۵۸۴	مرده بودند	–

نمودار شماره ۵: درصد ممانعت از رشد انگل پس از تأثیر غلظت‌های مختلف مخلوط دوگانه پونه– مرزه.

جدول شماره ۶: تأثیر غلظت‌های مختلف مخلوط دوگانهٔ عصاره‌های هیدروالکلی نعناع و مرزه بر روی تعداد انگل تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول.

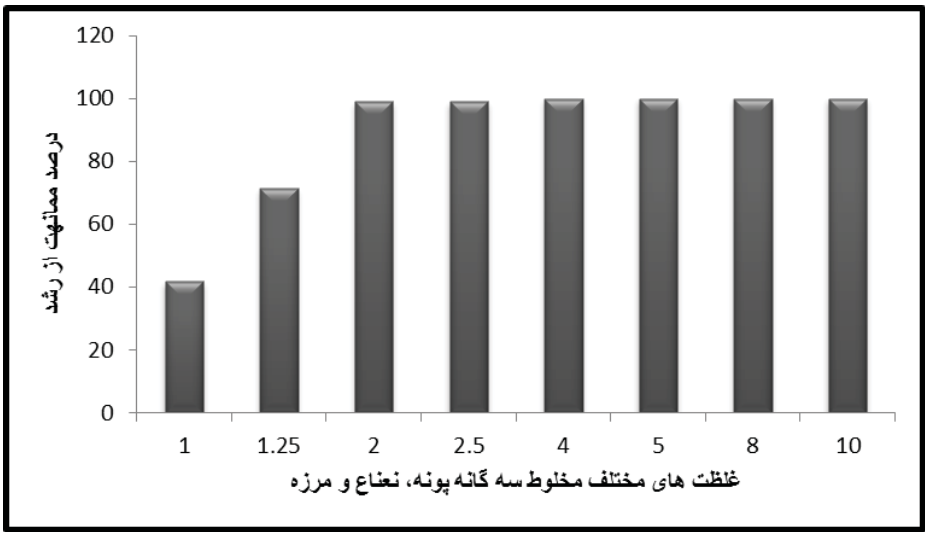
ردیف	عصارهٔ مورد مطالعه	غلظت عصاره Mg/ml	میانگین شمارش انگل بدوکشت	میانگین شمارش انگل ۱۲ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۲۴ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۴۸ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۷۲ساعت بعد	٪GI
۱	مخلوط عصاره‌های نعناع و مرزه	۱	۳۴/۲	۴۱/۵	۱۱۸/۷	۲۱۳/۴	۷۱/۶	۴۰/۲
		۱/۲۵	۲۹/۱	۳۴/۵	۵۶/۴	۱۶۲/۸	۸۱/۶	۵۴/۵
		۲	۱۸/۴	۲۷/۴	۴۵/۳	۱۳۴/۷	۸۴/۳	۶۱/۳۳
		۲/۵	۱۵/۲	۲۳/۴	۲۵/۴	۶۳/۲	۴۹/۳	۷۸
		۴	۹/۳	۵/۳	۰	۰	۰	۹۸/۱
		۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۸	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۲	فلوکونازول	۵۰ میکروگرم	اکثراً مرده	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۳	انگل در محیط کشت	۵۰	۵۳	۶۲	۱۰۳	۵۸۴	مرده بودند	-



نمودار شماره ۶: درصد ممانعت از رشد انگل پس از تأثیر غلظت‌های مختلف مخلوط دوگانهٔ نعناع– مرزه.

جدول شماره ۷: تأثیر غلظت‌های مختلف مخلوط سه‌گانهٔ عصاره‌های هیدروالکلی پونه، نعناع و مرزه بر روی تعداد انگل تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول.

ردیف	عصارهٔ مورد مطالعه	غلظت عصاره Mg/ml	میانگین شمارش انگل بدوکشت	میانگین شمارش انگل ۱۲ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۲۴ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۴۸ساعت بعد	میانگین شمارش انگل ۷۲ساعت بعد	٪GI
۱	مخلوط عصاره‌های پونه، نعناع و مرزه	۱	۱۶/۴	۲۳/۲	۶۳/۳	۲۷۱/۶	۹۲/۴	۴۱/۷
		۱/۲۵	۱۳/۶	۲۶/۴	۳۹/۳	۷۰/۲	۸۰/۶	۷۱/۳
		۲	۸/۲	۳	۰	۰	۰	۹۹
		۲/۵	۵/۴	۰	۰	۰	۰	۹۹
		۴	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۸	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
		۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۲	فلوکونازول	۵۰میکروگرم	اکثراً مرده	۰	۰	۰	۰	۱۰۰
۳	انگل در محیط کشت	۵۰	۵۳	۶۲	۱۰۳	۵۸۴	مرده بودند	–



نمودار شماره ۷: درصد ممانعت از رشد انگل پس از تأثیر غلظت‌های مختلف مخلوط سه‌گانهٔ پونه، نعناع و مرزه.

سپاسگزاری:

از مسئولان محترم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل و مرکز بهداشت شماره ۵ مشگین‌شهر و نیز بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش‌بنیان پژوهشگران داروی سبز که در تأمین هزینهٔ طرح، فعالیت‌های تولیدی و آزمایشگاهی همکاری داشته‌اند و هم‌چنین از مسئولان و کارکنان بخش زنان بیمارستان ولی‌عصر(عج) شهرستان مشکین‌شهر قدردانی می‌کنیم.

References:

1. Wolner-Hanssen P, Krieger JN, Stevens CE, Kiviat NB, Koutsky L, Critchlow C, DeRouen T, Hillier S, Holmes KK. Clinical manifestations of vaginal trichomoniasis. Jama. 1989 Jan 27;261(4):571-6.
2. Van Schalkwyk J, Yudin MH, Allen V, Bouchard C, Boucher M, Boucoiran I, Caddy S, Castillo E, Kennedy VL, Money DM, Murphy K. Vulvovaginitis: screening for and management of trichomoniasis, vulvovaginal candidiasis, and bacterial vaginosis. Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada. 2015 Mar 1;37(3):266-74.
3. 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. Parasitology Research. 2015 Apr 1;114(4):1291-300.
4. Soba B, Skvarc M, Maticic M. Trichomoniasis: a brief review of diagnostic methods and our experience with real-time PCR for detecting infection. Acta Dermatovenerol alp Pannonica Adriat. 2015 Jan 1;24(1):7-10.
5. Swygard H, Miller WC, Kaydos-Daniels SC, Cohen MS, Leone PA, Hobbs MM, Seña AC. Targeted screening for Trichomonas vaginalis with culture using a two-step method in women presenting for STD evaluation. Sexually transmitted diseases. 2004 Nov 1;31(11):659-64.
6. Rasti S, Taghriri A, Behrashi M. Trichomoniasis in parturients referring to Shabihkhani hospital in Kashan, 2001-02. KAUMS Journal (FEYZ). 2003 Jul 15;7(2):21-5.
7. Sobel JD, Nagappan V, Nyirjesy P. Metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis—an emerging problem. New England Journal of Medicine. 1999 Jul 22;341(4):292-3.
8. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 1999; 12.4: 564-582.
9. Mosaddegh M, Naghibi FI. Traditional Medicine: Past & Present. Traditional Medicine & Materia medica. Tehran: Published TMRC; 2002. vol. 1, p: 2-20.
10. Muelas-Serrano S, Nogal JJ, Martınez-Dıaz RA, Escario JA, Martınez-Fernández AR, Gómez-Barrio A. In vitro screening of American plant extracts on Trypanosoma cruzi and Trichomonas vaginalis. Journal of Ethnopharmacology. 2000 Jul 1;71(1-2):101-7
11. Khalilidehkordi B, Rafieyan M, Hejazi SH, Yusefi HA,Yektaeeian N, Shiranibidabadi L. In vitro antitrochomonas activity of extracts of Artemisia absinthium and Achillea millefolium and Juglans regia. J Shahrekord Univ Med Sci 1389;12(4):62-9.
12. Naghibi F, Mosaddegh M, Motamed SM, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran: From ethnobotany to pharmacology. Iran J Pharm Res 2005;4:63-79.
13. Hussain M, Ghani A. Herbal remidies used for gastrointestinal disorders in Kaghan valley, NWFP, Pakistan. Pak. J. Weed Sci. Res. 2008;14(3-4):169-200.
14. Khan SW, Khatoon SU. Ethnobotanical studies on some useful herbs of Haramosh and Bugrote valleys in Gilgit, northern areas of Pakistan. Pakistan Journal of Botany. 2008 Feb 1;40(1):43.
15. Hafedh H, Fethi BA, Mejdi S, Emira N, Amina B. Effect of Mentha longifolia L. ssp longifolia essential oil on the morphology of four pathogenic bacteria visualized by atomic force microscopy. African Journal of Microbiology Research. 2010 Jun 4;4(11):1122-7.
16. Hajlaoui H, Trabelsi N, Noumi E, Snoussi M, Fallah H, Ksouri R, Bakhrouf A. Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (Mentha longifolia and Mentha pulegium) used in the Tunisian folkloric medicine. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2009 Dec 1;25(12):2227-38.
17. Khattak S, Rehman SU, Khan T, Shah HU, Shad AA, Ahmad M. Invitro Screening for Biological and Pharmacological Effects of Indigenous Medicinal Plants, Mentha longifolia and Aloe vera. Journal-Chemical Society Of Pakistan. 2004 Sep 1;26:248-51.

18. Foster S. Peppermint: Mentha piperita. American Botanical Council -Botantical Series, 1996; 306:3 -8.
19. Peirce A. The American Pharmaceutical Association practical guide to natural medicines. New York: William Morrow and Company, Inc; 1999.
20. Iserin P. Encyclopedies des plants medicinal (identification, preparation, soins. Larousse/ VUEF); 2001. p:334.
21. Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Biochemical activities of Iranian Mentha piperita L. and Myrtus communis L. essential oils. Phytochemistry. 2006 Jun 1;67(12):1249-55.
22. Andoğan BC, Baydar H, Kaya S, Demirci M, Özbaşar D, Mumcu E. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. Archives of Pharmacal Research. 2002 Dec 1;25(6):860-4.
23. Bahraminejad S, Asenntorfer RE, Riley IT, Zwer P, Schultz CJ, Schmidt O. Genetic variation of flavonoid defense compound concentration in oat (Avena sativa L.) entries and testing of their biological activity. Australasian Plant Breeding Conference, Christchurch, New Zealand 2008, 18 – 21, pp: 1127 - 32.
24. Dombek C. the Lawrence review of natural products: facts and comparison. St. Louis; MO, Walters Kluwer Co.; 1993.
25. Mucciarelli M, Scannerini S, Bertea C, Maffei M. In vitro and in vivo peppermint (Mentha piperita) growth promotion by nonmycorrhizal fungal colonization. New Phytologist. 2003 Jun;158(3):579-91.
26. Ezzat SM. In vitro inhibition of Candida albicans growth by plant extracts and essential oils. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2001 Oct 1;17(7):757-9.
27. Marzuk Z, Marzuk B, ehraief I, Boukef K. Analysis of Tunisian Mentha pulegium L. oils from Monastir. SIPAM. 2006.
28. Schnelle FJ, Hoerst H. GLC-Analyse des Aetheris canen Oeles von Mentha requiennii (freiland = grow in open air). Planta Med. 1960; 16: 48-53.
29. Saremi H. Fusarium biology, ecology and taxonomy. Mashhad: Jahade Daneshghahi Press; 2005.
30. Lawrence BM. Composition of three oils of M. pulegium produced from plant grown in North Carolina. Perf. Flav. 1998;76(7-8):691-.
31. McCaskill D, Croteau R. Monoterpene and sesquiterpene biosynthesis in glandular trichomes of peppermint (Mentha x piperita) rely exclusively on plastid-derived isopentenyl diphosphate. Planta. 1995 Aug 1;197(1):49-56.
32. Jens R. Monoterpene composition of essential oil from peppermint (Mentha piperita L.) with regard to leaf position using solid-phase micro extraction and gas chromatography/mass spectrometry analysis. J. Agric. Food Chem. 1999; 47 (9): 3782-6.
33. Hoffmann BG, Lunder LT. Flavonoids from Mentha piperita leaves. Planta medica. 1984 Aug;50(04):361.
34. Bahraminejad S, Asenstorfer RE, Riley IT, Schultz CJ. Analysis of the antimicrobial activity of flavonoids and saponins isolated from the shoots of oats (Avena sativa L.). Journal of Phytopathology. 2008 Jan;156(1):1-7.
35. Inoue T, Sugimoto Y, Masuda H, Kamei C. Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from Mentha piperita L. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2002;25(2):256-9.
36. Frerot E, Bagnoud A, Vuilleumier C. Menthofurolactone: a new p-menthane lactone in Mentha piperita L.: analysis, synthesis and olfactory properties. Flavour and Fragrance journal. 2002 May;17(3):218-26.
37. Karamlou N. Study and standardization of essential oil of Mentha piperita cultivated in the different parts of Iran. Thesis, University of Tehran, Medical Science. 1999.
38. Cantino P, Harley RM, Wagstaff SJ. Genera of Labiatae status and classification. Royal Botanica Gardens Kew; 1992.
39. Skocibusic M, Bezic N, Dunkic V. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from Satureja subspicata Vis. growing in Croatia. Food Chem. 2006 Jan 1;96(1):20-8.

40. Güllüce M, Sökmen M, Daferera D, Ağar G, Özkan H, Kartal N, Polissiou M, Sökmen A, Şahin F. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of Satureja hortensis L. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003 Jul 2;51(14):3958-65.
41. Escudero J, Lopez JC, Rabanal RM, Valverde S. Secondary metabolites from Satureja species. New triterpenoid from Satureja acinos. Journal of Natural Products. 1985 Jan;48(1):128-31.
42. Tomas-Barberan FA, Husain SZ, Gil MI. The distribution of methylated flavones in the Lamiaceae. Biochemical Systematics and Ecology. 1988 Jan 1;16(1):43-6.
43. Koelzer J, Pereira DA, Dalmarco JB, Pizzolatti MG, Fröde TS. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of Lotus corniculatus. Food Chemistry. 2009 Dec 1;117(3):444-50.
44. Moniee SH. *Giahdarou*. Tehran: Ketabsara press; 1981. p:75. [InPersian].
45. Min BR, Barry TN, Attwood GT, McNabb WC. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. Animal feed science and technology. 2003 Apr 21;106(1-4):3-19.
46. Heidari S, Bandehpour M, Seyyed-Tabaei SJ, Valadkhani Z, Haghighi A, Abadi A, Kazemi B. Ferredoxin gene mutation in Iranian Trichomonas vaginalis isolates. Iranian Journal of Parasitology. 2013 Jul;8(3):402.
47. Gehrig S, Efferth T. Development of drug resistance in Trichomonas vaginalis and its overcoming with natural products. The Open Bioactive Compounds Journal. 2009 Sep 2;2(1).
48. Mahmoudi R, Ehsani A, Tajik H, Akhonzade Bastiand A, Khosrowshahi A Antimicrobial effects of Mentha Longifolia L . Essential oil and Lactobacillus casei against Staphylococcus aureus in Iranian White Cheese. J of Nut Sci. 2010; 1(20): 148-61.
49. Azaz AD, Kürkcüoglu M, Satil F, Can Baser KH, Tümen G. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of some Satureja essential oils. Flavour and Fragrance Journal. 2005 Nov;20(6):587-91.
50. Bezbradica DI, Tomovic JM, Vukasinovic MS, Siler-Marinkovic S, Ristic MM. Composition and antimicrobial activity of essential oil of Satureja montana L. collected in Serbia and Montenegro. Journal of Essential Oil Research. 2005 Jul 1;17(4):462-5.
51. Yamasaki K, Nakano M, Kawahata T, Mori H, Otake T, Ueda N, Oishi I, Inami R, Yamane M, Nakamura M, Murata H. Anti-HIV-1 activity of herbs in Labiatae. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 1998 Aug 15;21(8):829-33.
52. Abad MJ, Bermejo P, Gonzales E, Iglesias I, Irurzun A, Carrasco L. Antiviral activity of Bolivian plant extracts. General Pharmacology: The Vascular System. 1999 Apr 1;32(4):499-503.
53. Radonic A, Milos M. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from Satureja montana L. Free Radical Research. 2003 Jun 1;37(6):673-9.
54. Hajhashemi V, Sadraei H, Ghannadi AR, Mohseni M. Antispasmodic and anti-diarrhoeal effect of Satureja hortensis L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology. 2000 Jul 1;71(1-2):187-92.
55. Sefidkon F, Jamzad Z, Mirza M. Chemical variation in the essential oil of Satureja sahendica from Iran. Food Chemistry. 2004 Dec 1;88(3):325-8.
56. Jankov N, Baltova E, Topalov V. Action of some essential oils on Trichomonas vaginalis. Folia Medica. 1968;10(5):308.
57. González-Garza MT, Said-Fernández S. In vitro anti-trichomonad effectiveness of a gossypol-metronidazol blend. International Journal of Antimicrobial Agents. 1997 Jun 1;9(1):57-60.
58. Mitra SK, Sunitha A, Kumar VV, Pooranesan R, Satyarup S. Multicentric trial on the effect of V-gel (PDP-959 gel) in vaginitis. The Indian Practitioner. 1997;50(11):951.
59. Thompson KD. Antiviral activity of Viracea® against acyclovir susceptible and acyclovir resistant strains of herpes simplex virus. Antiviral Research. 1998 Jul 1;39(1):55-61.