Applied Biology, Volume 11, Issue 44, 2022

Research Article

Comparative study of the effect of aqueous and alcoholic extract of pomegranate peel on *Trichomonas vaginalis* in vitro[1]

Faranak Kalantari Dezfuli MSc., Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. fkd13460325@gmail.com

Zohreh Momeni Assistant Professor, Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran **(Corresponding author).** zohreh.momeni@kiau.ac.ir

Mahdis Ebrahim Zadeh Assistant Professor, Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. Ebrahimzadeh@kiau.ac.ir

Abstract

Objectives: Trichomoniasis is the most common non-viral sexually transmitted infection in the world. Metronidazole is currently used for the treatment of trichomoniasis, which has side effects. In recent years, the use of plants has been considered by researchers. This study was conducted to investigate the anti-trichomonal activity of aqueous and alcoholic extract of pomegranate peel on *Trichomonas vaginalis* in vitro.

Methods: In this experimental study, the extracts were prepared, and to evaluate the effect of aqueous and alcoholic extract of pomegranate peel on *Trichomonas vaginalis* parasites, the concentrations of 100, 200, 400, 800, 1600, and 3200 µg/ml were prepared. Metronidazole and TYM medium were considered positive and negative controls, respectively. Afterward, 10^5 live parasites were added to all wells, and all groups were kept at 37°C. Live parasites were counted at 24 and 48 h intervals by Trypan Blue using a neobar slide microscope (Hemocytometer). Also, the effect of metronidazole (0.5, 1, 2, 4, 8, and 10 µg/ml) was investigated as a drug control. Subsequently, the IC_{50} value for the above extract was calculated using GraphPad Prism 9. It should be noted that all steps of the experiment were performed in triplicate and the results were considered as average.

Results: The IC_{50} of aqueous and alcoholic extract of pomegranate peel on *Trichomonas vaginalis* were calculated at 226.3, 109.9 µg/ml after 24h and 60.16 and 32.6 µg/ml after 48h, respectively. The IC_{50} of metronidazole was calculated at 0.28 and 0.1 µg/ml after 24h and 48h. The highest mortality rate (100%) was observed at a concentration of 3200 µg/ml after 24h of exposure.

Conclusion: While the aqueous and alcoholic extract of pomegranate peel has an anti-Trichomonas effect, the anti-Trichomonas properties of the alcoholic extract are more than its aqueous extract. Further and more comprehensive studies are suggested to investigate this plant's constituents and the parasite's lethal effect in vitro and in vivo conditions.

Keywords: Trichomonas vaginalis, Alcoholic extract, Aqueous extract, pomegranate peel, IC_{50}.

1. **Received:** 2021/09/27 ; **Revision:** 2021/11/06 ; **Accepted:** 2021/12/06 ; **Published online:** 2021/12/22

© the authors http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir **Publisher:** Qom Islamic Azad University

بیولوژی کاربردی، دوره ۱۱، شماره ۴۴، ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

بررسی مقایسه‌ای اثر عصاره آبی و الکلی پوست انار بر انگل تریکوموناس واژینالیس در شرایط برون‌تنی[1]

فرانک کلانتری دزفولی | کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. fkd13460325@gmail.com
زهره مومنی | استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران (**نویسنده مسئول**). zohreh.momeni@kiau.ac.ir
مهدیس ابراهیم‌زاده | استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. Ebrahimzadeh@kiau.ac.ir

چکیده

هدف: تریکومونایازیس، مهم‌ترین بیماری مقاربتی جنسی غیر ویروسی است که توسط تک‌یاخته تاژکدار تریکوموناس واژینالیس ایجاد می‌شود. مترونیدازول موثرترین دارویی است که می‌تواند اثرات نامطلوبی داشته باشد. گیاهان دارویی به دلیل عوارض جانبی کم‌تر، مقبولیت بیشتری داشته و مطالعه حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای اثر عصاره آبی و الکلی پوست انار بر انگل تریکوموناس واژینالیس در شرایط برون‌تنی انجام شد.

مواد و روش‌ها: عصاره آبی و الکلی از پوست انار تهیه و کشت انگل در محیط کشت TYM انجام گرفت. در محیط کشت تاثیر غلظت‌های (۳۲۰۰،۱۶۰۰،۸۰۰،۴۰۰،۲۰۰،۱۰۰) میکروگرم بر میلی لیتر عصاره الکلی و آبی پوست انار بر رشد انگل تریکوموناس واژینالیس در ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی شد. تاثیر مترونیدازول به عنوان کنترل مثبت و محیط کشت تنها به عنوان کنترل منفی بر انگل مذکور ارزیابی شد. همچنین تاثیر مترونیدازول با غلظت‌های (۱۰، ۸، ۴، ۲، ۱، ۰/۵) میکروگرم بر میلی لیتر بر روی رشد انگل تریکوموناس در بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. در همه موارد، تعداد انگل زنده و مرده با رنگ‌آمیزی تریپان بلو و لام نئوبار شمارش شد. مقدار IC_{50} به کمک نرم‌افزار GraphPad Prism 9 محاسبه گردید. تمامی مراحل آزمایش سه بار تکرار و نتایج به صورت میانگین در نظر گرفته شد.

نتایج: مقدار IC_{50} عصاره‌های آبی و الکلی پوست انار به ترتیب ۲۲۶/۳ و ۱۰۹/۹ میکروگرم بر میلی لیتر در ۲۴ ساعت و ۶۰/۱۶ و ۳۲/۶ میکروگرم بر میلی لیتر در ۴۸ ساعت محاسبه گردید. مقدار IC_{50} مترونیدازول در بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت، به ترتیب ۰/۲۸ و ۰/۱ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد. عصاره الکلی پوست انار اثر مهارکنندگی ۱۰۰٪ در غلظت ۳۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بعداز ۲۴ ساعت در مجاورت با انگل را نشان داد.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های آبی و الکلی پوست انار دارای خواص ضد تریکومونایی می‌باشد. خاصیت ضد انگلی عصاره الکلی بیشتر از عصاره آبی است. مطالعات بیشتر و جامع‌تری برای بررسی ترکیبات پوست انار در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی پیشنهاد می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تریکوموناس واژینالیس، عصاره آبی، عصاره الکلی، انار، IC_{50}.

---

۱. **تاریخ دریافت:** ۱۴۰۰/۰۷/۰۵؛ **تاریخ اصلاح:** ۱۴۰۰/۰۸/۱۵؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۰/۰۹/۲۵؛ **تاریخ انتشار:** ۱۴۰۰/۱۰/۰۱
ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم

۱. مقدمه

تریکوموناس واژینالیس یک تکه یاخته انگلی تاژکدار و عامل بیماری تریکومونیازیس است و تنها عضو خانواده تریکومونادیده است که باعث بیماری در انسان می‌شود. عفونت از طریق تماس جنسی منتقل و محدود به دستگاه تناسلی است. تریکومونیازیس شایع‌ترین بیماری مقاربتی غیر ویروسی در جهان است که معمولاً در کشورهای در حال توسعه شایع‌تر است. بیماری‌های مقاربتی (STD) و عوارض مربوط به آنها، از جمله پنج دلیل بالای مراجعه مردم به پزشکان در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. به گفته سازمان بهداشت جهانی(WHO) در سال ۲۰۱۶، تعداد ۱۵۶ میلیون مورد مبتلا به تریکومونیازیس گزارش شده که تقریباً نیمی از بیماران مقاربتی را شامل می‌شد (۱- ۲).

میزان شیوع در بین جمعیت‌های مختلف، متفاوت و در زنان بین ۷۴-۵% گزارش شده است (۳). شیوع این بیماری در کشور ایران بین ۱۵/۷-۲/۱% برآورده شده است (۴). این انگل فلاژل‌دار در واژن، پیشابراه و غدد پروستات وجود دارد و می‌تواند باعث واژینیت، سرویسیت، اورتیت، اپیدیدمیت، سرطان دهانه رحم، نازایی و بیماری التهابی لگن شود. در دوران بارداری، این عفونت می‌تواند سبب عوارض متعددی از جمله پارگی زودرس کیسه آب، زایمان زودرس، تولد نوزادان با وزن کم و افزایش احتمال آلودگی به ویروس ایدز شود (۵-۶). این عفونت با توجه به علائم بالینی، تشخیص داده می‌شود، ولی این تشخیص باید با روش لام مرطوب نیز تایید گردد که روش ساده و کم هزینه‌ای است و زمان کمی نیز صرف آن می‌شود (۷-۸). رایج‌ترین نشانه‌های آن عفونت، خارش، سوزش و درد هنگام ادرار کردن، ترشحات فراوان و چرکی واژن، مقاربت دردناک، واژینیت، ادم واریتم می‌باشد (۵). مترونیدازول، داروی انتخابی موثر برای درمان واژینیت تریکومونایی است، اما سرطان‌زایی بالقوه، اثرات تراتوژنیک بر جنین و مقاومت این میکروارگانیسم به مترونیدازول نیز گزارش شده است. عوارض جانبی این دارو شامل خارش و سوزش، التهاب زبان، سردرد، سرگیجه، خواب آلودگی، ایجاد توهم و هذیان، تشدید علائم اسکیزوفرنی، تهوع و استفراغ، درد و کرامپ‌های شکمی، خشکی دهان و طعم فلز در دهان گزارش شده است (۹).

به منظور کاهش عوارض جانبی، روش‌های رایج درمانی و داروهای گیاهی می‌توانند به عنوان یک منبع جدید ضد تک یاخته‌ای با قابلیت بالا، سمیت و هزینه کم، مورد توجه قرار گیرند. گزارش‌های متعددی از کشورهای مختلف مبنی بر مقاومت و عوارض کارسینوژنیک و تراتوژنیک دارو، محققان را بر آن داشت تا به جستجوی داروهای جایگزین با عوارض جانبی کم‌تر بپردازند (۱۰-۱۱). در سال‌های اخیر، استفاده از گیاه درمانی و داروهایی با منشاء گیاهی، رو به افزایش

است، به طوری که در حال حاضر، حدود یک سوم تا نیمی از فرآورده‌های دارویی موجود در آمریکا، منشاء گیاهی دارند (۱۲).

مطالعات مختلفی به منظور اثر ضد انگلی گیاهان دارویی بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس انجام شده است. Naovi و همکاران (۱۹۹۱)، معتقدند که بخش‌های مختلف انار، بویژه پوست میوه و ریشه انار، خواص دفع کرم دارند (۱۳). انار حاوی ترکیبات پلی فنلی، قندها، اسیدهای چرب، ترکیبات معطر، اسیدهای آمینه، تکوفرول‌ها، استرول‌ها، ترپنوئیها، آلکالوئیدها وغیره است.

طی سال‌های اخیر، پژوهش‌های متعددی در خصوص خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد التهابی و ضد میکروبی ترکیبات انار به منظور استفاده از این ترکیبات در معالجه و پیشگیری از سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی، آلودگی‌های باکتریایی و مقاومت به آنتی‌بیوتیک و دندانپزشکی انجام شده است (۱۴). Lansky و همکاران (۲۰۰۰)، معتقدند که آلکالوئیدهای پل تیرین موجود در ریشه و پوست میوه انار، باعث این خاصیت شده‌اند (۱۳).

اولین ترکیبات زیست فعال پلی فنل‌ها و خصوصیات بالقوه آنتی‌اکسیدانی آن‌ها توسط Avirm و همکاران (۲۰۰۴) به تفسیر شرح داده شده است (۱۴). فعالیت آنتی‌اکسیدانی برون‌تنی (in vitro) میوه کامل و برگ انار نیز توسط Zhang و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است. استفاده گسترده از گیاهان دارویی به دلایل مختلفی همچون عوارض جانبی کم‌تر، قیمت کم‌تر و نیز سازگاری با عملکرد فیزیولوژیک طبیعی بدن، مورد توجه بوده است (۱۵). بنابراین، با توجه به شیوع بالای واژینیت تریکومونایی و عوارض شناخته شده مترونیدازول، نیاز به شناخت و مصرف بیشتر داروهای گیاهی موثر با عوارض کم‌تر احساس می‌شود. مطالعه حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای اثر عصاره آبی و الکلی پوست انار بر انگل تریکوموناس واژینالیس در شرایط برون تنی انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. تهیه عصاره الکلی و آبی پوست انار

پوست انار را بعد از شستشو در دمای محیط خشک کرده و سپس پودر شد. جهت عصاره الکلی، ۵۰ گرم از پودر خشک شده با ۵۰۰ سی‌سی الکل اتیلیک ۹۶% مخلوط شد. بعد از ۲۴ ساعت، با قیف بوخنر و کاغذ صافی وات‌من، صاف شد. سپس این محلول در دستگاه روتاری قرار داده شد تا حجم نهایی به ۳۰ سی‌سی رسید. در گام بعدی، این عصاره را داخل پلیت بزرگی ریخته

و در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس گذاشته شد تا کاملاً خشک شود. رسوب خشک شده با تیغ استریل تراشیده و در ظرفی ریخته شد و با آب مقطر محلول و با گذراندن از فیلتر ۰/۲ میکروبیولوژی، استریل و در ظروف استریل تقسیم گردید. برای عصاره آبی نیز ۵۰ گرم از پودر با ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر مخلوط و روی هیتر گذاشته شد تا در ۱۰۰ درجه به جوش آمده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق بماند. سپس عصاره حاصل توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی وات‌من، صاف شد و در لوله‌های فالکن ۵۰ سی‌سی ریخته شد و با سرنگ از لوله کشیده و از فیلتر باکتریولوژی ۰/۲ سر سرنگی عبور داده شد تا عصاره‌های حاصل، استریل و عاری از میکروب باشند. عصاره‌های آبی و الکلی فیلتر شده و استریل، به میزان یک سی‌سی در میکروتیوپ‌های استریل تقسیم و در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. برای محاسبه غلظت عصاره آبی و الکلی فیلتر شده، ابتدا یک میکروتیوپ استریل دربسته را با ترازوی حساس، وزن کرده و عدد بدست آمده، یادداشت شد. سپس یک میلی لیتر عصاره را درون آن ریخته و در انکوباتور گذاشته شد تا خشک شود. مجدداً میکروتیوپ خشک شده را وزن کرده، اختلاف این دو عدد، میزان غلظت ماده در یک میلی لیتر بدست آمد. غلظت عصاره‌های آبی و الکلی، هر دو ۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد، که به کمک آب مقطر استریل، یک سوم رقیق کرده و به غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر رسید.

۲-۲. کشت انگل تریکوموناس واژینالیس

سوش آزمایشگاهی تریکوموناس واژینالیس، از رسوب ادرار زنان دارای علائم واژینیت جداسازی و پس از خلوص در آزمایشگاه گروه میکروبیولوژی، داخل فریزر۸۰- درجه سلسیوس نگهداری می‌شد. انگل در محیط کشت TYM حاوی ۱۰% سرم گوساله همراه با آنتی‌بیوتیک‌های سیپرو فلوکساسین (۵۰ میکرو گرم بر میلی لیتر)، سفتریاکسون (۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) و آمفو ترپسین B (۲/۵ میکرو گرم بر میلی لیتر) طی پنج بار پاساژ یک روز در میان، کشت و تکثیر انبوه شد (۱۶).

۲-۳. روش انجام آزمایش

برای انجام آزمایش، از پلیت‌های استریل ۲۴ خانه‌ای استفاده شد. برای بررسی اثر ضد تریکومونایی عصاره آبی و الکلی، غلظت‌های ۳۲۰۰، ۱۶۰۰، ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره‌ها تهیه و میزان رشد انگل طی ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی گردید. برای کنترل

مثبت، به جای عصاره، ۲۰۰ میکرولیتر مترونیدازول با غلظت۱۰میکرو گرم بر میلی لیتر به محیط کشت اضافه شد و برای کنترل منفی، فقط از محیط کشت استفاده شد. تعداد نهایی انگل در داخل چاهک‌ها، به کمک لام نئوبارو رنگ حیاتی تریپان بلو شمارش و به میزان پانصد هزار عدد در میلی لیتر محاسبه گردید (۱۷). هر کدام از رقت‌ها به صورت دوتایی و آزمایش با سه بار تکرار انجام گرفت. برای سنجش سمّیت عصاره‌ها بر روی سلول، از آزمون MTT و رده سلولی SKOV3 (سلول سرطانی تخمدان) استفاده و درصد بقای سلولی محاسبه گردید. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۱) و آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد. میزان p کم‌تر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد. برای محاسبه IC_{50} و CC_{50} از نرم‌افزار GraphPad Prism (نسخه ۹) استفاده گردید.

۳. یافته‌ها

۳-۱. نتایج شمارش انگل‌ها در مجاورت غلظت‌های مختلف عصاره آبی و الکلی پوست انار

درصد بازدارندگی رشد (GI% percentage of growth inhibition) برای عصاره‌های آبی و الکلی پوست انار در طی ۲۴ و ۴۸ ساعت با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۸-۱۹). در این فرمول، a تعداد انگل زنده در چاهک کنترل منفی و b تعداد انگل زنده در چاهک حاوی عصاره می‌باشد:

$$GI\% = \frac{a - b}{a} \times 100$$

مقایسه درصد بازدارندگی رشد عصاره‌های آبی و الکلی پوست انار نشان می‌دهد که عصاره الکلی در غلظت‌های ۳۲۰۰، ۱۶۰۰، ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، اثر بازدارندگی رشد بیشتری نسبت به عصاره آبی بر انگل تریکوموناس واژینالیس داشته است. عصاره الکلی گیاه پوست انار در غلظت ۳۲۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت قادر به مهار ۱۰۰% انگل‌ها در شرایط برون تنی شد (نمودار ۱).

جدول شماره (۱ و ۲) میانگین شمارش انگل همراه با انحراف معیار غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و الکلی پوست انار در بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت را نشان می‌دهد. نمودار (۳ و ۴)، تصاویر ستونی تعداد انگل در عصاره‌های آبی و الکلی در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت را نشان می‌دهد. با توجه به میانگین‌های به دست آمده، در غلظت ۱۶۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر عصاره آبی در ۴۸ ساعت، میزان رشد بسیار کم شده تا اینکه در غلظت ۳۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، به

صفر رسید. بین غلظت‌های مختلف عصاره آبی، اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در تیمار ۴۸ ساعته، بین تمام غلظت‌ها در عصاره آبی، اختلاف معنی‌دار است؛ به جز غلظت ۲۰۰ و۴۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر که اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. آنالیز داده‌ها نشان‌دهنده این است که افزایش درصد ممانعت از رشد انگل‌ها در تمامی غلظت‌ها و در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت، در مقایسه با گروه کنترل، معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵).

عصاره الکلی گیاه پوست انار در غلظت ۳۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر در هر دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت قادر به مهار ۱۰۰% انگل‌ها در شرایط برون‌تنی شد. در غلظت‌های مختلف عصاره الکلی پوست انار، تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (P<۰/۰۵). آنالیز داده‌های عصاره الکلی، نشان‌دهنده این است که افزایش درصد ممانعت از رشد انگل‌ها در تمامی غلظت‌ها و هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت، در مقایسه با گروه کنترل، معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵). جهت مشخص نمودن تفاوت معنی‌دار بودن غلظت‌ها بر رشد انگل، از آزمون‌های پست داک توکی و دانکن استفاده شد. نتایج نشان داد که میانگین گروه کنترل با هر دو گروه عصاره آبی و عصاره الکلی از نظر آماری در سطح پنج درصد، معنادار شده است، ولی بین دو گروه عصاره آبی و الکلی، تفاوت معناداری از نظر میانگین مشاهده نشد.

به منظور بررسی تاثیر زمان بر رشد انگل، تعداد انگل‌ها در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت شمارش شدند. نتیجه آزمون t نشان داد که در زمان‌های مختلف، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود دارد؛ به طوری که در بازه زمانی ۴۸ ساعت، تاثیر عصاره‌ها بر ممانعت از رشد انگل به طور معنی‌داری افزایش یافته است.

۳-۲. نتایج شمارش انگل در غلظت‌های مختلف مترونیدازول

برای بررسی تاثیر سمّیت مترونیدازول بر تریکوموناس واژینانس، غلظت‌های ۱۰، ۸، ۴، ۲، ۱، ۰/۵ میکرو گرم بر میلی لیتر از مترونیدازول تهیه و طی زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت مواجهه انگل تریکوموناس واژینالیس با مترونیدازول انجام و تعداد انگل‌های زنده به همراه گروه کنترل شمارش گردید. جدول شماره (۴) درصد حیات انگل در مواجهه با غلظت‌های مختلف مترونیدازول را نشان می‌دهد. محاسبه درصد حیات از اختلاف ۱۰۰ منهای درصد ممانعت از رشد به دست می‌آید. آنالیز داده‌ها نشان‌دهنده این است که کاهش درصد حیات انگل‌ها در تمامی غلظت‌ها و در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت، در مقایسه با گروه کنترل، معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵). داروی

مترونیدازول بعد از ۴۸ ساعت در غلظت ۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر باعث کشندگی ۱۰۰% تریکوموناس واژینالیس گردید.

۳-۳. محاسبه مقدار IC_{50} برای ترکیبات مورد آزمایش بر تریکوموناس واژینالیس و مقایسه آن‌ها

عدد IC_{50}، غلظتی از دارو یا عصاره بوده که قادر به مهار رشد ۵۰% از انگل می‌باشد. مقدار IC_{50} برای زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت با استفاده از نرم‌افزار GraphPad prism 9 محاسبه گردید. نتایج نشان داد که عصاره الکلی پوست انار نسبت به عصاره آبی در غلظت‌ها و زمان‌های یکسان و تحت شرایط یکسان، اثر بهتری در کاهش تعداد انگل تریکوموناس واژینالیس داشته است. میزان IC_{50} برای عصاره الکلی پوست انار ۱۰۹/۹ میکروگرم بر میلی لیتر و برای عصاره آبی ۲۲۶/۳ میکروگرم بر میلی لیتر در ۲۴ ساعت می‌باشد؛ در حالی که مقدار IC_{50} برای بازه زمانی ۴۸ ساعت ۳۲/۶ میکروگرم بر میلی لیتر برای عصاره الکلی و ۶۰/۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر برای عصاره آبی به دست آمد. مقدار IC_{50} مترونیدازول ۰/۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر در ۲۴ ساعت و ۰/۱ میکروگرم بر میلی لیتر در ۴۸ ساعت بدست آمد. نتایج نشان داد که عصاره الکلی پوست انار در ۴۸ ساعت بهترین تاثیر را داشته و البته در مقایسه با مترونیدازول، قطعاً مترونیدازول موثرتر بوده است.

۳-٤. محاسبه CC_{50} و SI عصاره‌ها

جهت تعیین میزان توکسیسیتی داروها، از کشت سلول SKOV3 استفاده شد. برای بررسی تاثیر سمیت سلولی، عصاره‌های آبی و الکلی پوست انار در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ و ۳۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و مترونیدازل در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر تهیه و بعد از ۲۴ ساعت تیمار سلول‌ها با این داروها، بوسیله روش MTT تاثیر آن‌ها بر سلول‌ها SKOV3 در مقایسه با گروه کنترل بررسی و مقدار CC_{50} برای هر کدام از داروها با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism 9 محاسبه گردید. نتیجه CC_{50} مترونیدازول ۱/۵۵، عصاره آبی ۱۵۷/۹، عصاره الکلی ۲۲۸۴ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد (جدول ۳ و ۴).

مؤثر بودن هر ترکیب دارویی، به ایندکس درمانی (SI) آن بستگی دارد که با تقسیم CC_{50} به IC_{50} هر دارو محاسبه می‌شود. این مقدار برای عصاره آبی و الکلی پوست انار و نیز مترونیدازول به ترتیب برابر ۰/۶۹، ۲۰/۷۸، ۵/۵۵ میکرو گرم بر میلی لیترمی‌باشد. بنابراین، عصاره الکلی پوست انار بهتر از مترونیدازول عمل کرده و از بین این سه دارو، عصاره الکلی از بقیه بهتر است. با توجه

به منحنی‌های رسم شده در قسمت نتایج، در هر دو داروی مورد مطالعه (عصاره آبی و عصاره الکی پوست انار)، با افزایش غلظت و مدت زمان مجاورت عصاره و انگل، کاهش قابل توجهی در تعداد تروفوزوئیت‌های تریکوموناس واژینالیس مشاهده می‌شود. طبق نتایج به دست آمده، عصاره الکلی پوست انار در مجموع در مقایسه با عصاره آبی پوست انار، اثر بهتری در بازدارندگی رشد تریکوموناس واژینالیس داشته است.

٤. بحث

با بررسی نتایج عملکرد ضد انگلی عصاره‌های آبی و الکلی پوست انار و نیز ارزیابی کنترل‌های مثبت و منفی، به نظر می‌رسد که عصاره الکلی پوست انار، توانایی قابل قبولی در مقابل تریکوموناس واژینالیس دارد. همچنین نتایج حاکی از موثر بودن زمان و غلظت در افزایش کشندگی انگل است ($P<۰/۰۵$).

اثر ضد تریکومونایی گیاهان مختلف بسیار مورد مطالعه قرار گرفته که در برخی مطالعات نتایج خوبی مشاهده شده است. وزینی و همکاران (۲۰۱۸)، در پژوهشی تاثیر عصاره متانولی آنغوزه را بر روی تریکوموناس بررسی کردند (۲۰). نتایج مطالعه نشان می‌دهد که در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر طی ۳ ساعت، تمامی انگل‌ها از بین رفته و به صفر می‌رسد؛ در حالی که در مطالعه حاضر، میزان IC_{50} عصاره الکلی پوست انار، در زمان ۲۴ساعت ۱۰۹/۹ میکروگرم بر میلی لیتر بود. گرچه مقایسه نتایج، نشان‌دهنده تاثیر بهتر عصاره متانلی آنغوزه است، اما عصاره الکلی پوست انار هم تاثیر خوبی داشته است. مطالعه فخریه کاشان و همکاران (۲۰۱۴)، نیز نشان داد که میزان IC_{50} عصاره‌های الکلی و آبی ژرانیوم در طی ۲۴ ساعت، ۲۷/۶۳ و ۵۴/۶۷ میکروگرم بر میلی لیتر است (۲۱)؛ در حالی که میزان IC_{50} عصاره‌های الکلی و آبی پوست انار طی ۴۸ ساعت، ۳۲/۶ و ۶۰/۱۶ میکرو گرم بر میلی لیتر بوده است؛ گرچه مقادیر با هم نزدیک است، ولی مدت زمان این دو نتیجه مسئله مهمی بوده و ژرانیوم موثرتر از پوست انار، تاثیر داشته است.

یوسفی و همکاران (۲۰۱۳)، در پژوهشی اثر هیدرو الکلی نعناع و مریم گلی را بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس بررسی کردند (۲۲). نتایج نشان داد که عصاره هیدرو الکلی مریم گلی در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و عصاره هیدرو الکلی نعناع در غلظت ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، طی زمان ۲۴ ساعت، قادر به مهار ۱۰۰% رشد انگل تریکوموناس می‌باشد؛ در حالی که عصاره آبی و الکلی گیاه پوست انار در غلظت ۳۲۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر در بازه زمانی ۲۴

ساعت، قادر به مهار ۱۰۰% انگل‌ها در شرایط برون‌تنی گردید. مقایسه این دو پژوهش نشان می‌دهد که عصاره آبی و الکلی پوست انار تاثیر بهتری در مقایسه با عصاره هیدرو الکلی نعناع دارد. همچنین نتیجه قابل قبولی در مقایسه با عصاره هیدرو الکلی مریم گلی نشان می‌دهد.

بهاروند و همکاران (۲۰۱۶)، در مطالعه‌ای به بررسی اثر عصاره انبه و بلوبری بر روی رشد انگل تریکوموناس پرداختند (۲۳). نتایج نشان داد که میزان IC_{50} عصاره‌های انبه و بلوبری، در بازه زمانی ۲۴ ساعت، به ترتیب ۱۱۸/۳ و ۶۰/۷۴ میکروگرم بر میلی لیتر می‌باشد. مقایسه نتایج تحقیق فوق با مطالعه حاضر نشان می‌دهد که عصاره الکلی پوست انار (IC_{50}=۱۰۹/µ۹g/ml) اثری بهتر از عصاره انبه داشته، ولی عصاره بلوبری تاثیر بهتری نسبت به عصاره الکلی پوست انار دارد. مقایسه نتایج تاثیر داروی مترونیدازول بر روی انگل نشان داد که IC_{50} مترونیدازول پژوهش فوق ۰/۰۳۸ میکروگرم بر میلی لیتر است؛ در حالی که در پژوهش حاضر ۰/۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر است. گرچه نتایج هر دو حکایت از حساسیت انگل به داروی مترونیدازول می‌باشد، اما این تفاوت اعداد می‌تواند به دلیل تفاوت ایزوله‌های تریکوموناس واژینالیس باشد.

امروزه دانشمندان در چین و ژاپن، توجه ویژه‌ای نسبت به تهیه فرآورده‌های گیاهی داشته‌اند (۲۴). از گیاه مورد، در طب سنّتی ایران به عنوان ضد عفونی‌کننده استفاده می‌شود (۳۱). اثر عصاره متانولی برگ مورد بر روی باکتری‌هایی همچون استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا ثابت شده است (۲۵). در سال ۱۳۹۸ رضایی کهخایی و همکاران، اثر عصاره واسانس برگ مورد را بر روی تریکوموناس واژینالیس در شرایط برون‌تنی بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت ۶۰۰ میکرو گرم عصاره مورد در بدو کشت، باعث از بین رفتن تریکوموناس واژینالیس شده و غلظت ۳۰۰ میکروگرم این عصاره باعث نابودی تریکوموناس واژینالیس، پس از یک ساعت می‌شود. همچنین نتایج مطالعه نشان‌دهنده کشندگی ۱۰۰ درصد عصاره‌های گیاه مورد در غلظت‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ میکروگرمی بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت بود (۲۶). مقایسه نتیجه فوق با مطالعه حاضر نشان‌دهنده موثرتر بودن عصاره متانولی برگ مورد می‌باشد که به نظر می‌رسد بایستی عصاره‌های متانلی این گیاهان، با هم مقایسه شود تا شاید بتوان نتیجه‌گیری بهتری کرد.

انار حاوی ترکیبات پلی فنلی، قندها، اسیدهای چرب، ترکیبات معطر، اسیدهای آمینه، تکوفرول‌ها، استرول‌ها، ترپنوئیها و آلکوئیدها است.Lansky و همکاران (۲۰۰۰) معتقدند که آلکوئیدهای پل تیرین موجود در ریشه و پوست میوه انار، باعث دفع کرم می‌شوند (۱۳). مطالعات

آن‌ها نشان داد که عصاره‌های ساده پوست میوه انار تاثیر خوبی روی باکتری‌های روده، سالمونلا تیفی، ویبریو کلرا، ژیاردیا، آمیب و ویروس‌هایی همچون هرپس سیمپلکس، پلی ویروس‌ها، ایدز و تومورها دارد. خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی برگ و پوست انار در مقایسه با دانه و آب میوه، به دلیل داشتن مقدار زیادی پلی فنل‌های موجود در آن‌ها است. بررسی تاثیر ضد میکروبی انار توسط محققین زیادی صورت گرفته است و گستره تاثیر بازدارندگی آن همیشه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن که عمدتاً به میزان ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی میوه مربوط می‌شود، توصیف شده است.

نتایج پژوهش Dahhan و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشان داد که عصاره پوست میوه انار بیشترین فعالیت ضد میکروبی را روی تعدادی از باکتری‌ها و قارچ‌ها دارد. به نظر می‌رسد محتوای فنولیکی بالای پوست و بذر انار می‌تواند خاصیت ضد قارچی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی این عصاره‌ها را بوجود آورد (۲۷). Opara و همکاران (۲۰۰۹)، نیز در تحقیقات آزمایشگاهی خود نشان دادند که یک میکروب‌کش ضد ویروس HIV می‌تواند از گیاه انار تولید شود (۲۸).

سلاح‌ورزی و همکاران هم در سال ۲۰۱۱ به بررسی ارتباط فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچی عصاره قسمت‌های مختلف انار با محتوای فنولیکی آن پرداختند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که عصاره متانولی پوست میوه انار با میانگین ۴۷/۶ و ۳۷/۷ درصد، به ترتیب بیشترین اثر بازدارندگی را بر رشد میسلیوم‌ها و جوانه‌زنی اسپور قارچ‌ها دارد. همچنین محتوای فنولیک پوست میوه انار ۱/۸ برابر محتوای فنولیک برگ آن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه، بذر و برگ درخت انار به ترتیب برابر ۵۵/۳، ۳۵/۷ و ۱۶/۴ درصد مشخص گردید. بنابراین، به نظر می‌رسد محتوای فنولیکی بالای پوست و بذر انار می‌تواند خاصیت ضد قارچی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی این عصاره‌ها را بوجود آورد (۲۹).

در پژوهش حاضر تاثیر استفاده از عصاره‌های آبی و الکلی پوست انار روی انگل تریکوموناس واژینالسی بررسی شد. نتایج نشان داد که هر دو نوع عصاره الکلی و آبی پوست انار، در دوزهای مشخص، بر تعداد انگل تاثیر دارد. موثرترین دوز برای عصاره الکلی ۳۲۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر بود، که حتی در ۲۴ ساعت نیز می‌تواند میزان انگل‌های زنده را به صفر برساند و بین غلظت‌های مختلف عصاره الکلی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P<0.01$). نتایج پژوهش‌ها همواره حاکی از آن است که عصاره‌های الکلی نسبت به عصاره‌های آبی، به دلیل جداسازی بیشتر ترکیبات موثر، اثرگذارتر هستند. البته گرچه در این تحقیق هم عصاره الکلی پوست انار نسبت به

عصاره آبی اثر بهتری داشت، اما هر دو، اثر ضد تریکومونایی موثری داشتند. همچنین در مطالعه حاضر مشاهده شد که با افزایش غلظت عصاره و گذشت زمان، تعداد انگل‌های بیشتری از بین رفتند و افزایش زمان و غلظت، با کاهش تعداد انگل رابطه مستقیمی دارد.

۵. نتیجه‌گیری

واژینیت تریکومونایی یکی از مشکلات عمده زنان در سنین باروری در بسیاری از کشورهای توسعه یافته و یا در حال توسعه است که در صورت عدم درمان می‌تواند اثرات سوء بر سلامت بگذارد.

نتایج پژوهش حاضر حاکی از موثر بودن ترکیبات گیاهی عصاره آبی و بخصوص عصاره الکلی در از بین بردن انگل تریکوموناس واژینالیس است، اما با توجه به اینکه اکثر مطالعات برون‌تنی بوده و مطالعات انجام شده بر روی انسان محدود هستند، از طرفی برخی گیاهان دارویی می‌توانند منجر به بروز عوارضی شوند، لذا، مطالعات انسانی بیشتری برای کاربرد این عصاره‌های گیاهی در درمان واژینیت تریکومونایی مورد نیاز است. عصاره آبی و الکلی پوست انار باعث مهار رشد تریکوموناس واژینالیس شده و دارای اثر ضد انگلی است و به نظر می‌رسد پوست انار را می‌توان به عنوان یک داروی گیاهی با اثربخشی بیشتر نسبت به برخی تحقیقات و ایجاد مقاومت دارویی کم‌تر پس از مطالعات درون‌تنی و بررسی بیشتر پیرامون مکانیسم اثر عصاره در درمان تریکومونیازیس جایگزین مترونیدازول نمود. تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی تاثیر گیاه پوست انار بر رشد انگل تریکوموناس واژینالیس انجام نگرفته و تحقیق حاضر برای اولین بار بوده است، لذا، استفاده از پوست انار برای درمان این انگل نیازمند بررسی‌های بیشتری است.

این مطالعه گامی در جهت شناسایی هرچه بیشتر درمان‌های طبیعی به عنوان روشی کم هزینه، کم خطر و در دسترس و با معطوف نمودن نظر جامعه پزشکی و داروسازی به اهمیت گیاهان دارویی، درصدد تشویق آن‌ها به استفاده مناسب از گیاهان دارویی و گسترش گیاه‌درمانی در کشور می‌باشد تا به این ترتیب گامی در جهت خودکفایی دارویی کشور برداشته شود.

٦. تشکر و قدردانی

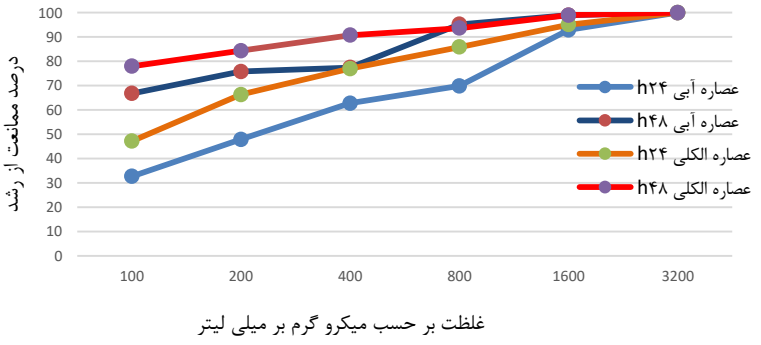
از کارشناسان محترم آزمایشگاه تحصیلات تکمیلی واحد کرج به جهت همکاری خوب آن‌ها در به ثمر رسیدن پژوهش حاضر، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Van Gerwen OT & Muzny CA. Recent advances in the epidemiology, diagnosis, and management of Trichomonas vaginalis infection. *F1000Research*. 2019; 8. **DOI:** 10.12688/f1000research.19972.1
2. Korich F, Reddy N & Trent M. Mycoplasma genitalium and Trichomonas vaginalis: addressing disparities and promoting public health control of two emerging sexually transmitted infections. *Current opinion in pediatrics*. 2020; 32(4): 482.
3. Swygard H, Miller WC, Kaydos-Daniels SC, Cohen MS, Leone PA, Hobbs MM & et al. Targeted screening for Trichomonas vaginalis with culture using a two-step method in women presenting for STD evaluation. *Sex Transm Dis*. 2004; 31(11): 659-64.
4. Rasti S, Taghriri A & Behrashi M. Trichomoniasis in parturients referring to Shabihkhani hospital in Kashan, 2001-02. *Feyz J Kashan Univ Med Sci*. 2003; 7. (in Persian)
5. Brandelli CLC, Vieira PdB, Macedo AJ & Tasca T. Remarkable anti-trichomonas vaginalis activity of plants traditionally used by the Mbyá-Guarani indigenous group in Brazil. *Biomed Res Int*. 2013; 2013. **DOI:** 10.1155/2013/826370
6. Rafieian-Kopaei M, Yousofi Darani H, Delaram M, Safdari F, Banaian S, Sereshti M & et al. Effects of eucalyptus camaldulensis exracts on trichimonas vaginalis growth in vitro. *J Med Plants.* 2012; 2(42): 116-20. (in Persian).
7. Cunningham F, Leveno K, Bloom S, Spong CY & Dashe J. *Williams obstetrics, 24e*. Mcgraw-hill New York, NY, USA; 2014.
8. Berek JS & PJA H. *Berek & Novak, s gynecology*, 15th ed. Tehran: Artin teb; 2012.
9. Jafarnezhad F, Kiyani Mask M, Rakhshandeh H & Taghi Shakeri M. Comparison of the percentage of medical success for Phytovagex vaginal suppository and Metronidazole oral tablet in women with bacterial vaginosis. *Iran J Obstet Gynecol Infertil*. 2017; 20(3): 29-39. (in Persian).
10. Ezatpour B, Badparva E, AHMADI S, Rashidipour M & Ziaei H. Investigation of anti Trichomonas vaginalis activity of Lavandula angyustifolia essential oil in invitro media. *JOURNAL OF ILAM UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES*. 2009; 14(4): 31-6. (in Persian)
11. Naemi F, Asghari G, Yousofi H & Yousefi HA. Chemical composition of essential oil and anti trichomonas activity of leaf, stem, and flower of Rheum ribes L. extracts. *Avicenna J phytomedicine*. 2014; 4(3): 191-9. (in Persian)
12. Khalili B, Rafieian M, Hejazi SH, Yusefi HA, Yektaian N & SHIRANI BL. Effect of Achillea millefolium, Artemisia absinthium & Juglans regia leaves extracts on Trichomonas vaginalis, in vitra. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences.* 2011; 12(4): 62-9. (in Persian)
13. Lansky E, Shubert S, Neeman I & oet al. Pharmacological and therapeutic properties of pomegranate. In: *Symposium on production, processing and marketing of pomegranate in the Mediterranean region: advances in research and technology Séminaires Méditerranéens (CIHEAM)*; 2000: 231-5.
14. Aviram M, Rosenblat M, Gaitini D, Nitecki S, Hoffman A, Dornfeld L & et al. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clin*

Nutr. 2004; 23(3): 423-33.
15. Zhang L, Zhang Y & Yang X. Antioxidant effects on oil and antibacterial activities of extracts from different parts of pomegranate. *ZHONGGUO LIANGYOU XUEBAO*. 2010; 25: 38-43.
16. Momeni Z, Sadraei J, Kazemi B & Dalimi A. Molecular typing of the actin gene of Trichomonas vaginalis isolates by PCR-RFLP in Iran [Internet]. *Experimental parasitology Elsevier*. 2015; 159: 259-63. **DOI:** 10.1016/j.exppara.2015.10.011
17. Meri T, Jokiranta TS, Suhonen L & Meri S. Resistance of Trichomonas vaginalis to metronidazole: Report of the first three cases from Finland and optimization of in vitro susceptibility testing under various oxygen concentrations. *J Clin Microbiol*. 2000; 38(2): 763-7.
18. Moon T, Wilkinson JM & Cavanagh HMA. Antiparasitic activity of two Lavandula essential oils against Giardia duodenalis, Trichomonas vaginalis and Hexamita inflata. *Parasitol Res*. 2006; 99(6): 722-8.
19. Tonkal A. In Vitro Antitrichomonal Effect of Nigella Sativa Aqueous Extract and Wheat Germ Agglutinin. *J King Abdulaziz Univ Sci*. 2009; 16(2): 17-34.
20. Vazini H & Rahimi Esboei B. In vitro study of the effect of hydroalcholic extracts of Carum copticum and Ferula asafetida against Trichomonas vaginalis. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci*. 2018; 23(1): 76-83. (in Persian)
21. FAKHRIE KZ, Arbabi M, Delavari M, TAGHIZADEH M, Hooshyar H & Solaymani F. The effect of aqueous and alcoholic extracts of Pelarqonium roseum on the growth of Trichomonas vaginalis in vitro. *Feyz.* 2014; 18(4): 369-75. (in Persian)
22. Yousefi M & et al. In-Vitro Effect of Menthe Piperita and Salvia Officinalis Extracts on Trichomonas Vaginalis. *J Isfahan Med.* 2013; 31(240): 811-8. (in Persian)
23. Baharvandi Z & Sadraei J. Comparison of the Effect of Metronidazole, Tinidazole, Mango and Blueberry Extracts on Trichomonas vaginalis in Vitro. *Infect Epidemiol Med.* 2016; 2(3): 24-7.
24. Ziaei Hezarjaribi H, Nadeali N, Fakhar M & Soosaraei M. Medicinal plants with anti-trichomonas vaginalis activity in Iran: A systematic review. *Iran J Parasitol*. 2019; 14(1): 1-9. (in Persian)
25. Mehriardestani M, Aliahmadi A, Toliat T, Rahimi R, Baharvandi Z, Sadraei J & et al. Medicinal plants and their isolated compounds showing anti-Trichomonas vaginalis-activity. *Biomed & Pharmacother*. 2017; 88(3): 885-93.
26. Rezaie-Kahkhaieh KPF. Evaluation of the Effect of Myrtus Comminus Extract on Trichomonas Vaginalis. *J Zabol Med Sch*. 2020; 3(1): 29-33. (in Persian)
27. Dahham SS, Ali MN, Tabassum H & Khan M. Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (Punica granatum L.). *Am Eurasian J Agric Environ Sci*. 2010; 9(3): 273-81.
28. Opara LU, Al-Ani MR & Al-Shuaibi YS. Physico-chemical properties, vitamin C content, and antimicrobial properties of pomegranate fruit (Punica granatum L.). *Food Bioprocess Technol*. 2009; 2(3): 315-21.
29. Salahvarzi Y, Tehranifar A, Jahanbakhsh V & et al. Relation of antioxidant and antifungal activity of different parts of pomegranate (Punica granatum L.) extracts with its phenolic content. *Iran J Med Aromat Plants.* 2011; 27(1). (in Persian)

پیوست‌ها



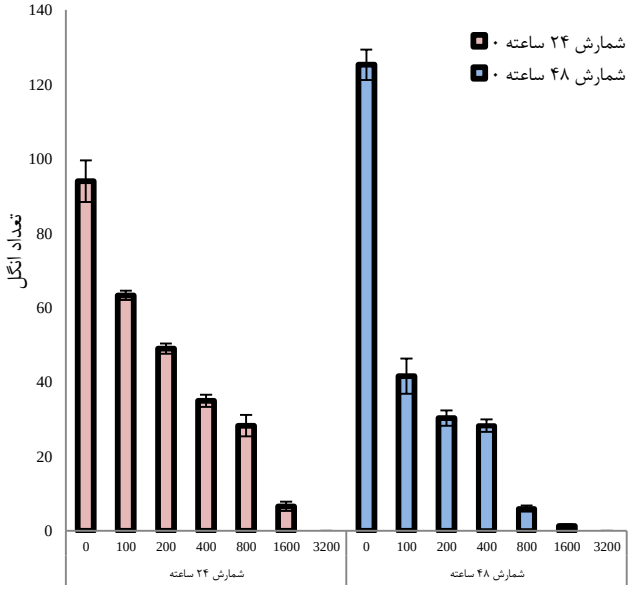
نمودار ۱- مقایسه درصد ممانعت از رشد (GI%) عصارهای آبی و الکلی پوست انار طی زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت

جدول ۱- بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پوست انار در رشد تریکوموناس واژینالیس طی زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت

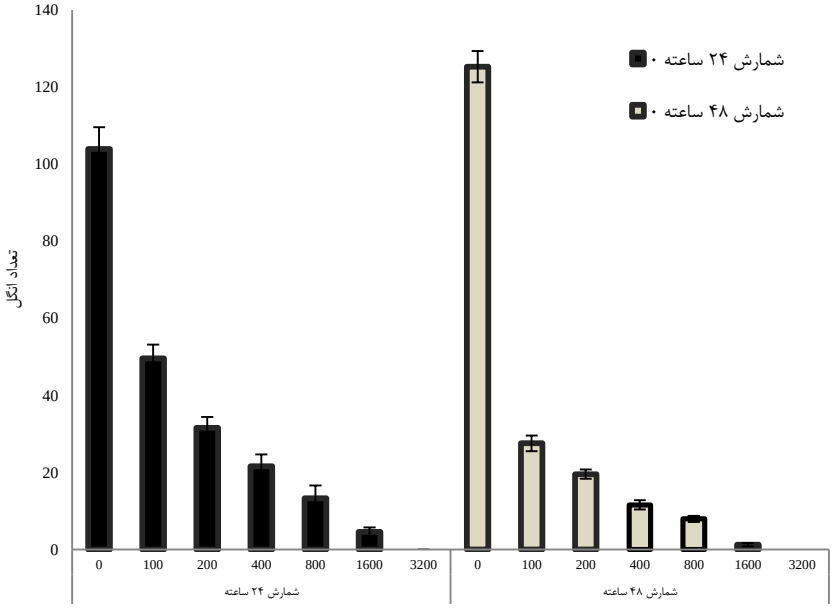
غلظت عصاره‌های گیاهی (p) (m) و مترونیدازول	میانگین (Mean±SD) شمارش انگل ۲۴ ساعت تعداد انگل $10^4\times$ در ml	میانگین (Mean±SD) شمارش انگل ۴۸ ساعت تعداد انگل $10^4\times$ در ml
کنترل منفی	۹۴ ± ۵/۶	۱۲۵/۳ ± ۴/۱
کنترل مثبت (m)	۰	۰
۱۰۰ (µg/ml) (p)	۶۳/۳ ± ۱/۲۴	۴۱/۶ ± ۴/۷
۲۰۰ (µg/ml) (p)	۴۹ ± ۱/۴۱	۳۰/۳ ± ۲/۰۵
۴۰۰ (µg/ml) (p)	۳۵ ± ۱/۶۳	۲۸/۳ ± ۱/۶۹
۸۰۰ (µg/ml) (p)	۲۸/۳ ± ۲/۸۶	۶ ± ۰/۸۱
۱۶۰۰ (µg/ml) (p)	۶/۶ ± ۱/۲۴	۱/۳ ± ۰/۴۷
۳۲۰۰ (µg/ml) (p)	۰	۰

جدول۲- بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی پوست انار در رشد تریکوموناس واژینالیس طی زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت

غلظت عصاره‌های گیاهی(p) و مترونیدازول (m)	میانگین (Mean±SD) شمارش انگل ۲٤ ساعت تعداد انگل $10^4\times$ در ml	میانگین (Mean±SD) شمارش انگل ٤۸ ساعت تعداد انگل $10^4\times$ در ml
کنترل منفی	۱۰۴ ± ۵/۶	۱۲۵/۳ ± ۴/۱
کنترل مثبت (m)	۰	۰
۱۰۰(µg/ml) (p)	۴۹/۶ ± ۳/۶	۲۷/۶ ± ۲/۰۵
۲۰۰(µg/ml) (p)	۳۱/۶ ± ۲/۸	۱۹/۶ ± ۱/۲
۴۰۰(µg/ml) (p)	۲۱/۶ ± ۳/۰۹	۱۱/۶ ± ۱/۲
۸۰۰(µg/ml)(p)	۱۳/۳ ± ۳/۳۹	۸ ± ۰/۸
۱۶۰۰(µg/ml)(p)	۴/۶ ± ۱/۲	۱/۳ ± ۰/۴
۳۲۰۰(µg/ml)(p)	۰	۰



نمودار ۲- مقایسه میانگین تعداد انگل‌ها در حضور عصاره آبی با غلظت‌های (۰،۱۰۰،۲۰۰،٤۰۰،۸۰۰،۱٦۰۰،۳۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) بعد از ۲٤ و ٤۸ ساعت



نمودار۳- مقایسه میانگین تعداد انگلها در حضور عصاره الکلی با غلظت‌های (۰،۱۰۰،۲۰۰،۴۰۰،۸۰۰،۱۶۰۰،۳۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت

جدول ۳ - درصد حیات انگل تریکوموناس واژینالیس پس از مواجه با غلظت‌های مختلف مترونیدازول

غلظت مترونیدازول میکروگرم بر میلی لیتر	درصد حیات ۲۴ ساعت	درصد حیات ۴۸ ساعت
۰/ ۵	۲۶/ ۴۲	۱۷/ ۶۳
۱	۲۳/ ۳۱	۱۱/ ۸۴
۲	۲۱/ ۲۴	۲/۲۳
۴	۱۷/ ۶۱	۱/ ۱۸
۸	۱۳/۴۷	۰/ ۷۸
۱۰	۱۰/ ۸۸	۰
کنترل	۱۰۰	۱۰۰

جدول٤- درصد حیات سلول SKOV3 پس از تیمار با عصاره آبی و الکلی پوست انار

غلظت عصاره میکروگرم بر میلی لیتر	درصد حیات عصاره آبی ٢٤ ساعت	درصد حیات عصاره الکلی ٢٤ ساعت
۲۰۰	۳۲/۷	۸۵/۷۹
۴۰۰	۲۷/۸۶	۸۱/۹۶
۸۰۰	۲۵/۳۱	۷۰/۶۷
۱۶۰۰	۲۲/۰۴	۶۰/۲۹
۳۲۰۰	۱۸/۰۳	۴۶/۶۳
کنترل	۱۰۰	۱۰۰