**Journal of Ardabil University of Medical Sciences**

**Vol.15, No. 4, Winter 2016, Pages 395 - 403**

# *In vitro* Scolicidal Effect of *Lepidium sativum* Essential Oil

Bahrami S*[1], Razi Jalali MH[1], Ramezani Z[2], Pourmehdi Boroujeni M[3], Toeimepour F[1]

1. Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Nanotechnology Research Center, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
3. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

**** Corresponding author.*** Tel: +986113738636 Fax: +986113360807 E-mail: s.bahrami@scu.ac.ir

Received: Apr 11, 2015 Accepted: Sep 2, 2015

## ABSTRACT

***Background & objectives:*** One of the most important zoonotic parasitic diseases, hydatidosis, is caused by the larval stage of *Echinococcous granulosus*. Investigations have shown that plants secondary metabolites, such as essential oils have anti parasitic properties. Based on previous reports on antiparasitic properties of *Lepidium sativum*, in this study we investigated the scolicidal effects of the essential oil (EO) extracted from this plant.

***Methods:*** *Lepidium* EO was obtained by hydrodistillation method. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was employed to determine the chemical composition of the EO. Protoscolices were exposed to various concentrations of EO (1, 3, 5, 10 and 15 mg/ml) for 10, 20, 30 and 60 min. Viability of protoscolices was confirmed by 0.1% eosin staining.

***Results:*** A total of 19 compounds representing 95.5% of the total oil, were identified. α-Thujene (88.86%), Myrcene (2.9%) and P-cymene (1.67%) were found to be the major EO constituents. Based on the results, protoscolices mortality rates at 1, 3 and 5 mg/ml of EO didn't have a significant relationship with the control group. While, the difference in mortality rate at a concentration of 10 mg/ml of EO in 30 and 60 min was significant. Also, the concentration of 15 mg/ml of EO at all times of incubation had significantly higher protoscolicidal effect. In the present study there was a significant relation between the amount of protoscolicidal activity of different EO concentrations and different incubation times. In other words mortality rates enhanced with increasing concentrations and incubation times.

**Conclusion:** The results of present study revealed that the EO of *Lepidium* is rich in α-Thujene and has a high scolicidal power. This plant may be used as a natural scolicidal agent.

**Keywords:** *Lepidium sativum*; Essential Oil**;** Protoscolex; Hydatid Cyst; *In vitro*

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

# بررسی اثر ضد پروتواسکولکسی اسانس گیاه تره‌تیزک به صورت برون تنی

**سمیه بهرامی[1]*، محمد حسین راضی جلالی[1]، زهرا رمضانی[2]، مهدی پورمهدی بروجنی[3]، فریال طعیمه‌پور[1]**

۱. گروه انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران ۲. مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران ۳. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۷۳۱۲۱٤۸۰ فاکس: ۰۶۱۱۳۳۶۰۸۰۷ پست الکترونیک: s.bahrami@scu.ac.ir

## چکیده

**زمینه و هدف:** یکی از مهمترین بیماری‌های انگلی مشترک انسان و دام، هیداتیدوز است که توسط مرحله لاروی *اکینوکوکوس گرانولوزوس* ایجاد می‌شود. تحقیقات نشان داده است که متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی مانند اسانس‌ها دارای خواص ضد انگلی می‌باشند. از آن‌جایی که برای تره‌تیزک خصوصیات ضدانگلی عنوان شده است، در مطالعه حاضر اثرات ضدپروتواسکولکسی اسانس گیاه تره‌تیزک مورد تحقیق قرار گرفته است.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی اسانس تره‌تیزک به روش تقطیر با آب تهیه گردید. کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی (GC/MS)، جهت تعیین ترکیبات اسانس به کار گرفته شد. کبدهای گوسفندی آلوده به کیست هیداتیک از کشتارگاه صنعتی اهواز جمع‌آوری گردیدند، پس از جمع‌آوری مایع کیست هیداتیک در شرایط استریل و سانتریفوژ آن‌ها پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک جمع‌آوری گردید. پروتواسکولکس‌ها تحت غلظت‌های مختلف اسانس (۱، ۳، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، به مدت ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه قرار داده شدند. میزان زنده ماندن پروتواسکولکس‌ها توسط رنگ ائوزین ۰/۱ درصد تعیین گردید.

**یافته‌ها:** در این مطالعه ۱۹ ترکیب که ۹۵/۵٪ کل اسانس را تشکیل می‌داد، تشخیص داده شد. α-Thujene (۸۸/۸۶٪)، Myrcene (۲/۹٪) و P-cymene (۱/۶۷٪) اجزای اصلی اسانس تعیین شدند. بر اساس نتایج بدست آمده میزان مرگ و میر پروتواسکولکس‌ها در غلظت ۱، ۳ و ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس با گروه کنترل ارتباط معنی‌داری نداشت، در حالی‌که اختلاف در کشندگی در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه معنی‌دار بود. همچنین غلظت ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس در تمامی زمان‌های انکوباسیون به شکل معنی‌داری درصد پروتواسکولکس‌کشی بالاتری نسبت به گروه کنترل داشت. در مطالعه حاضر بین میزان پروتواسکولکس‌کشی غلظت‌های مختلف اسانس و زمان‌های متفاوت انکوباسیون ارتباط معنی‌داری وجود داشت، بعبارتی با افزایش غلظت اسانس و زمان انکوباسیون میزان کشندگی هم افزایش می‌یافت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن است که اسانس تره‌تیزک غنی از α-Thujen بوده و دارای قدرت بالای اسکولکس‌کشی می‌باشد. این گیاه ممکن است به عنوان عامل طبیعی اسکولکس‌کش مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه های کلیدی:** تره تیزک، اسانس، پروتواسکولکس، کیست هیداتیک، برون‌تنی

**دریافت:** ۹٤/۱/۲۲ **پذیرش:** ۹٤/۶/۱۱

## مقدمه

کیست هیداتیک ناشی از رشد مرحله نوزادی انگل *اکینوکوکوس گرانولوزوس* بوده که از بیماری‌های مشترک انسان و علفخواران محسوب می‌شود. این آلودگی، علاوه بر ایجاد بیماری شدید و مرگ احتمالی در انسان، با ایجاد هزینه‌های درمانی و همچنین کاهش فرآورده‌های دامی، موجب خسارات اقتصادی می‌شود [۱]. بیماری هیداتیدوز در کشورهای حاشیه مدیترانه و خاورمیانه به صورت اندمیک دیده می‌شود. امروزه مسافرت و توریسم باعث شده است این بیماری در سراسر جهان حتی کشورهای توسعه یافته دیده شود. تماس مستقیم با

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

سگ آلوده، خوردن سبزیجات یا علوفه آلوده به تخم انگل از راه‌های انتقال آلودگی می‌باشد. اشکال لاروی انگل در میزبانان واسط به صورت کیست‌های بزرگی در اندام‌های داخلی مخصوصاً کبد و ریه ظاهر می‌شوند [۲]. درمان کیست هیداتیک شامل درمان دارویی، جراحی و یا ترکیبی از هر دو است. به‌دلیل خطرات استفاده از داروهای شیمیایی و بروز مقاومت نسبت به این داروها در بسیاری از انگل‌ها از جمله کیست هیداتیک گرایش به استفاده از گیاهان و مشتقات حاصل از آنها رو به افزایش است. روش‌های سنتی درمان بیماری‌های انگلی به طور عمیقی با گیاهان بومی منطقه پیوند خورده است. عصاره‌های گیاهی و ترکیبات مشتق شده از گیاهان، منبع غنی عوامل دارویی جدید را فراهم می‌کنند و در کشورهای مختلف از گیاهان بومی جهت درمان بسیاری از عوامل عفونی استفاده می‌شود [۳]. در ایران که یکی از هفت کشور آسیایی است که بیشترین گیاهان دارویی را دارند، این گرایش وجود داشته و در سه دهه گذشته روند رو به رشد تمایل مردم در زمینه استفاده از داروهای گیاهی و احیای طب سنتی وجود داشته است. شاهی برگ‌ریز (تره تیزک) از خانواده چلیپاییان با نام علمی *Lepidium sativum* می‌باشد. این گیاه یک ساله و به ارتفاع ۲۰ تا ۳۰ سانتی متر است که در نواحی مختلف ایران از جمله استان خوزستان پرورش می‌یابد. برای این گیاه اثراتی نظیر کاهش دهنده فشار خون، گشادکننده مجاری هوا، اثرات ضدمیکروبی و همچنین ضدانگلی قائل شده‌اند. بدین ترتیب هدف از مطالعه تجربی حاضر آنالیز اسانس گیاه تره‌تیزک و بررسی اثرات ضدپروتواسکولکسی اسانس آن بوده است.

## روش کار

### تهیه و تایید گیاه تره‌تیزک

برای انجام مطالعه تجربی حاضر پس از تهیه گیاه از بازار جهت اطمینان از جنس و گونه گیاه مورد نظر به دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران مراجعه و با توجه به کلیدهای تشخیصی مورد تایید قرار گرفت.

### اسانس‌گیری از گیاه تره‌تیزک با استفاه از دستگاه کلونجر

گیاه ابتدا شسته و جهت نفوذ بهتر آب و بخار در حین اسانس‌گیری توسط کارد به شکل قطعات ریز درآورده شد. برای تهیه اسانس در این مطالعه از دستگاه کلونجر استفاده شد. پس از گذشت حدود ۶ ساعت، روغن فرار در لولهٔ مدرج جمع‌آوری گردید. روغن فرار به دست آمده از این روش بسیار اندک بود، لذا برای به دست آوردن مقدار کافی از آن چندین بار این عمل تکرار گردید.

### خشک کردن اسانس با استفاده از دی‌اتیل اتر

برای خشک کردن اسانس، در مرحله نخست به اندازه حجم اسانس، به آن دی‌اتیل اتر اضافه گردید. مجموع اسانس و دی اتیل‌اتر موجود در لوله توسط دست چندین بار هم زده شد. در مرحله بعد به مدت ۲ تا ۳ دقیقه سانتریفیوژ صورت گرفت. فاز دی‌اتیل‌اتر حاوی اسانس توسط پیپت برداشته شد و به لوله‌ای دیگر منتقل گردید و سپس به مدت چند ساعت در آون قرار داده شد تا دی‌اتیل‌اتر بخار شود و اسانس خشک گردد. این عمل تا زمانی ادامه یافت که حجم اسانس موجود در انتهای لوله پس از مشاهده چند بار متوالی ثابت ماند و دیگر تغییری مشاهده نگردید.

### آنالیز اسانس گیاه تره‌تیزک توسط دستگاه کروماتوگرافی‌گازی- اسپکترومتری جرمی

در این مطالعه از دستگاه GC با نام Agilent 7890A و دستگاه Mass با نام Agilent 5975 استفاده گردید. ستون مویین دستگاه از نوع Hp-5ms با طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر بود. ضخامت لایه فاز ساکن اندود شده به جدار داخلی ستون مویین، ۰/۲۵ میکرومتر بود. نوع عملیاتی دستگاه به شرح زیر بود: دمای اولیه آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

بوده و با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۳۰۰ درجه رسیده و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما ثابت ماند. Run Time کلی، به‌مدت ۳۰ دقیقه بوده است. گاز حامل دستگاه هلیوم و دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود و در حالت Split انجام شد که نسبت Split، ۱:۱۰ در نظرگرفته شد. جرم اسکن شده در محدوده ۵۰ تا ۵۵۰ بود.

ترکیبات سازنده روغن فرار به دو روش تعیین شد. در روشی که بر اساس محاسبه اندیکس‌های بازداشت[1] بوده، آلکان‌های نرمال (C7-C28) که زمان بازداری آن‌ها به زمان بازداری ترکیبات نزدیک بوده در همان شرایط دستگاهی و دمایی نمونه‌های اسانس به دستگاه تزریق شده و کروماتوگرام آن‌ها ثبت گردید. سپس با فرمول زیر محاسبات اندیکس بازیافت تعیین گردید. روش دوم تعیین ترکیبات فرار، مقایسه طیف جرمی آن‌ها در زمان‌های بازداشت هریک به تنهایی با طیف‌های جرمی مربوط در کتابخانه‌ی دستگاه کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری (Library: NIST version 8) بوده است.

**بررسی پروتواسکولکس‌کشی اسانس گیاه تره‌تیزک**

کنار شعله و زیر هود، مایع کیست هیداتیک به آهستگی از کبدهای گوسفندان آلوده از کشتارگاه صنعتی اهواز جمع‌آوری گردید. مایع کیست هیداتیک با ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳ دقیقه سانتریفوژ گردید و رسوب آن جمع‌آوری گردید. در این مطالعه اثر پروتواسکولکس کشی ۵ غلظت ۱، ۳، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس تره‌تیزک در ٤ زمان ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. جهت پراکندگی یکنواخت اسانس در نرمال سالین ۰/۳ میلی‌لیتر از توین ۸۰ به هر لوله آزمایش اضافه می‌گردید. برای هر آزمایش ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده در داخل لوله ریخته شد و پس از آن ۱۵ میکرولیتر رسوب غنی از پروتواسکولکس به آن‌ها اضافه گردید. لوله‌ها بخوبی هم زده شد و در طول آزمایش بر روی شیکر قرار گرفت. در نهایت پس از طی شدن زمان آزمایش، لوله‌ها سانتریفوژ گردیدند و محلول رویی آنها دور ریخته شد. سپس یک میلی‌لیتر ائوزین ۰/۱ درصد به پروتواسکولکس‌ها اضافه گردید و خوب هم زده شد. مجدداً هر نمونه به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه گردید و پس از آن از رسوب باقیمانده بر روی لام اسمیر تهیه گردید. درصد پروتواسکولکس‌های کشته شده با شمارش حداقل ۲۰۰ پروتواسکولکس محاسبه گردید.

برای هر رقت در هر زمان کنترل (نرمال سالین حاوی توین ۸۰) در نظر گرفته شد. تمامی مراحل ذکر شده سه مرتبه به طور مجزا تکرار گردید و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد.

**روش‌های آماری**

داده‌های به دست آمده از این تحقیق، با بهره بردن از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میزان کشندگی پروتواسکولکس‌ها توسط غلظت‌های مختلف اسانس در زمان‌های متفاوت با گروه‌های کنترل از تست آماری کروسکال- والیس استفاده شد. مبنای قضاوت آماری $\alpha$ =۰/۰۵ بود. همچنین جهت بررسی وابسته بودن درصد پروتواسکولکس‌کشی به غلظت اسانس و زمان انکوباسیون از آزمون همبستگی اسپیرمن استفاده‌گردید.

**یافته‌ها**

**نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی گیاه تره‌تیزک**

پس از آنالیز گیاه تره‌تیزک در مجموع ۱۹ ترکیب که حدود ۹۵/۵ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند، بدست آمد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر ترکیب α-Thujene مهمترین جزء تشکیل‌دهنده اسانس بوده است. این ترکیب ۸۸/۸۶ درصد کل اسانس را به خود اختصاص داده است. پس از این ترکیب Myrcene و

[1] Retention Index

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

p-cymene بیشترین میزان را در اسانس داشتند (به ترتیب ۲/۹ و ۱/۶۷ درصد اسانس). جدول ۱ نتایج بدست آمده از آنالیز کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی گیاه تره‌تیزک در مطالعه حاضر را نشان می‌دهد.

**جدول ۱. نتایج به دست آمده از آنالیز کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی گیاه تره‌تیزک به دو طریق تعیین اندیکس بازداشت و مقایسه با کتابخانه دستگاه کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتر جرمی**

| شماره | نام ترکیب | اندیکس بازداشت | درصد عناصر |
|---|---|---|---|
| ۱ | α-Thujene | ۹۲٤/۷ | ۸۸/۸۶ |
| ۲ | α-Pinene | ۱۰۱۱/۸ | جزئی |
| ۳ | Y-Terpinene | ۱۰۹۳ | جزئی |
| ٤ | sabinene | ۱۱۰۲ | ۰/۸۳ |
| ۵ | β-Pinene | ۱۱۲۱/۲ | جزئی |
| ۶ | α-Terpinene | ۱۱۵۷ | جزئی |
| ۷ | carvacrol | ۱۱۹۸ | ۰/۱۷ |
| ۸ | Myrcene | ۱۲۱٤/۸ | ۲/۹ |
| ۹ | β-Bisabolene | ۱۲۱۶ | جزئی |
| ۱۰ | Terpin-4-ol | ۱۲۲۵/۸ | جزئی |
| ۱۱ | thymol | ۱۲۳۱/۶ | جزئی |
| ۱۲ | α-Gurgunene | ۱۲۶۹ | ۰/۱۹ |
| ۱۳ | P-cymene | ۱۲۹۱/٤ | ۱/۶۷ |
| ۱٤ | 1,8-Cineole | ۱۲۹۸ | ۰/٤٤ |
| ۱۵ | Y-Gurgunene | ۱۳۲۱/۸ | ۰/۲٤ |
| ۱۶ | Thymyl acetate | ۱۳٤۵/۸ | ۰/۲ |
| ۱۷ | β-Caryophyllene | ۱٤۱۷/٤ | جزئی |
| ۱۸ | α-Humulene | ۱٤۸۶ | جزئی |
| ۱۹ | Trans-β-Bisabolene | ۱۵۲۲/۸ | جزئی |

**نتایج مربوط با پروتواسکولکس‌کشی غلظت‌های مختلف اسانس تره‌تیزک در زمان‌های مختلف انکوباسیون**

فعالیت پروتواسکولکس کشی غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس به ترتیب ۸/۳، ۹/٤، ۱۲/۳ و ۱۸/۸ درصد پس از ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه انکوباسیون بود. قدرت پروتواسکوکس‌کشی اسانس در غلظت ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز به ترتیب ۲٤/۲، ۲٤/۸، ۲۵/۷ و ۳۷/۱ درصد پس از زمان‌های مختلف انکوباسیون بود. این در حالی بود که اسانس با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پس از مواجه شدن با پروتواسکولکس در زمان‌های مختلف مورد نظر در مطالعه، به ترتیب ٤۹/۲، ۵۶/۱، ۷۷/٤ و ۹۳/۵ درصد آن‌ها را از بین برد. همچنین غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس پس از ۱۰ دقیقه مواجه شدن با پروتواسکولکس‌ها، ۸۸/٦٤ درصد و پس از ۲۰ دقیقه ۹۶/۲ درصد آن‌ها را از بین برد. پس از گذشت ۳۰ و ۶۰ دقیقه، غلظت مذکور ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها را از بین برده بود. در غلظت ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز در زمان‌های مختلف تمامی پروتواسکولکس‌ها از بین رفته بودند.

میزان مرگ و میر پروتواسکولکس‌ها در غلظت ۱، ۳ و ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس با گروه کنترل ارتباط معنی‌داری نداشت، درحالی که اختلاف در کشندگی در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه با کنترل معنی‌دار بود

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

($p<۰/۰۵$). همچنین غلظت ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس در تمامی زمان‌های انکوباسیون به شکل معنی‌داری درصد پروتواسکولکس‌کشی بالاتری نسبت به گروه کنترل داشت.

در مطالعه حاضر در ارتباط با میزان پروتواسکولکس‌کشی غلظت‌های مختلف اسانس و زمان‌های متفاوت انکوباسیون ارتباط معنی‌داری وجود داشت. بطوری که ضریب همبستگی بین اسانس در زمان ۱۰ دقیقه انکوباسیون و میزان پروتواسکولکس‌کشی ۰/۹۸۶، اسانس و ۲۰ دقیقه انکوباسیون ۰/۹۸۶، در ۳۰ دقیقه ۰/۹۶۳ و در ۶۰ دقیقه ۰/۹۶۳ بود. بعبارتی با افزایش غلظت اسانس و زمان انکوباسیون میزان کشندگی هم افزایش می‌یافت ($p<۰/۰۰۱$).

جدول ۲ اثرات ضد پروتواسکولکس‌کشی غلظت‌های مختلف تره‌تیزک و کنترل حاوی نرمال سالین و توین ۸۰ در زمان‌های مختلف انکوباسیون را نشان می‌دهد.

**جدول ۲. درصد مرگ و میر پروتواسکولکس‌ها در گروه‌های مختلف آزمایش**

| زمان انکوباسیون / گروه مورد مطالعه | ۱۰ دقیقه | ۲۰ دقیقه | ۳۰ دقیقه | ۶۰ دقیقه |
|---|---|---|---|---|
| اسانس با غلظت ۱میلی‌گرم در میلی‌لیتر | ۸/۳[a] | ۹/۴[a] | ۱۲/۳[a] | ۱۸/۸[a] |
| اسانس با غلظت ۳میلی‌گرم در میلی‌لیتر | ۲۴/۲[a] | ۲۴/۸[a] | ۲۵/۷[a] | ۳۷/۱[a] |
| اسانس با غلظت ۵میلی‌گرم در میلی‌لیتر | ۴۹/۲[a] | ۵۶/۱[a] | ۷۷/۴[a] | ۹۳/۵[a] |
| اسانس با غلظت ۱۰میلی‌گرم در میلی‌لیتر | ۸۸/۶۴[a] | ۹۶/۲[a] | ۱۰۰[b] | ۱۰۰[b] |
| اسانس با غلظت ۱۵میلی گرم در میلی‌لیتر | ۱۰۰[b] | ۱۰۰[b] | ۱۰۰[b] | ۱۰۰[b] |
| نرمال سالین و توین ۸۰ | ۶/۵[a] | ۶/۹[a] | ۷/۳[a] | ۸/۱[a] |

حروف غیر متشابه نشان دهنده معنی‌داری آن می باشد.

## بحث

بنزایمیدازول‌ها، فراوان‌ترین داروهایی هستند که در درمان شیمیایی هیداتیدوزیس مورد استفاده قرار می‌گیرند. حلالیت کم برخی از داروهای بنزایمیدازولی در آب، محدودیت مهمی در فرمولاسیون این داروها ایجاد می‌کند و تنها امکان فرمولاسیون برخی از این داروها را به صورت سوسپانسیون خوراکی فراهم می‌کند. جذب ضعیف برخی از این داروها از دستگاه گوارش منجر به کاهش اثر این داروها می‌گردد [۵]. از عوارض جانبی داروهای بنزایمیدازولی می‌توان به نوتروپنی، لوکوپنی، پروتئین یوری، آسیب کبدی، افزایش ترانس‌آمینازها، اختلالات گوارشی و ریزش مو اشاره کرد. همچنین از خطرهای مهم بنزایمیدازول‌ها، سمیت دارو برای جنین و ناقص‌الخلقه‌زایی به خصوص در اوایل آبستنی می‌باشد [۶]. بنابراین دستیابی به داروهای موثرتر و بدون عوارض جانبی برای درمان کیست هیداتیک از اهمیت زیادی برخوردار است.

اخیراً متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی از نظر اثرات ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفته‌اند و مشخص شده است که اغلب اسانس‌های گیاهی استخراج شده از گیاهان دارویی دارای خواص ضد قارچی، ضد انگلی، ضد باکتریایی و ضد ویروسی می‌باشند [۷]. با توجه به اهمیت گیاهان بومی هر منطقه و با توجه به خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد انگلی اسانس‌ها هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ضد پروتواسکولکسی گیاه بومی تره‌تیزک بوده است. در مطالعه حاضر پس از آنالیز اسانس گیاه تره‌تیزک ۱۹ ترکیب که حدود ۹۵/۵ درصد آن را تشکیل می‌دادند، بدست آمد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر ترکیب α-Thujene مهمترین جزء تشکیل دهنده

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

اسانس بوده است. این ترکیب ۸۸/۸۶ درصد کل اسانس را به خود اختصاص داده است. پس از این ترکیب Myrcene (۲/۹ درصد) و p-cymene (۱/۶۷ درصد) بیشترین میزان را در اسانس داشتند.

Thujene با فرمول شیمیایی $C_{10}H_{16}$ یک ترکیب طبیعی ارگانیک بوده که برای آن سه ایزومر α-Thujene، β-Thujene و Sabinene شناخته شده است. این در حالی است که α-Thujene مهمترین ایزومر این ترکیب می‌باشد [۸]. α-Thujene جزو دسته مونوترپن‌ها و مونوترپن‌ها نیز از کلاس ترپن‌ها بوده که دارای دو واحد ایزوپرن می‌باشند. ترپن‌ها دسته‌ای از مواد آلی هستند که در طبیعت گستردگی فراوان دارند [۹]. ترپن‌ها با خصوصیات هیدروفوبیتی بالا قادرند لیپیدهای دیواره سلول‌های باکتری‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها را جدا کنند و از این راه نفوذپذیری غشاءِ سلولی را افزایش دهند. اختلال در عملکرد غشای سلول منجر به خروج یون‌ها و بهم خوردن تعادل الکترونی غشاءِ می‌شود، در نتیجه عبور و خروج مواد دچار مشکل شده و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود. به همین دلیل است که منابع متعددی ترپن‌ها و مونوترپن‌ها را از عوامل موثر در فعالیت ضد میکروبی، ضد انگلی و ضد قارچی اسانس‌ها می‌دانند [۱۰،۱۱].

Myrcene یا β –myrcene یک ترکیب طبیعی الفنیک[1] می‌باشد. ترکیبات الفنیک در واقع هیدروکربن‌های غیراشباع می‌باشند. Myrcene نیز از کلاس مونوترپن‌ها بوده و برای آن اثرات ضددردی و ضدالتهابی تشخیص داده شده است. اثر ضدالتهابی این ترکیب مربوط به پروستاگلاندین E می‌باشد [۱۲]. P-cymene نیز از ترکیبات طبیعی بوده که جزءِ آلکیل‌بنزن‌ها و مونوترپن‌ها تقسیم‌بندی می‌شود. این ترکیب نیز دارای سه ایزومر بوده که P-cymene ایزومر طبیعی آن می‌باشد. برای این ترکیب نیز اثرات ضدباکتریایی مشاهده شده‌است [۱۳]. این ترکیب مولکول آب‌گریزی بوده که باعث تورم غشاءِسیتوپلاسمی می‌گردد [۱۴]. این مولکول زمانی که با سایر ترکیبات فنولی نظیر تیمول ترکیب شود، اثرات ضد میکروبی قوی را از خود بروز می‌دهد [۱۵]. قابل ذکر است که بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که کل اسانس، اثرات ضدعفونی قوی‌تری را نسبت به تک تک اجزاءِ اصلی اسانس دارا می‌باشد [۱۶]. همچنین نشان داده شده است که بسیاری از ترکیباتی که میزان آن‌ها در اسانس اندک است، دارای اثرات ضد میکروبی خوبی بوده و حتی بر روی سایر ترکیبات اثرات سینرژیستی دارند [۱۴].

در مطالعه حاضر پس از بررسی اثرات ضدپروتواسکولکسی غلظت‌های مختلف اسانس مشاهده گردید که پس از گذشت ۳۰ و ۶۰ دقیقه، غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها را از بین برده بود. در غلظت ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز در زمان‌های مختلف تمامی پروتواسکولکس‌ها از بین رفته بودند. بنابراین با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر به‌نظر می‌رسد که اسانس تره‌تیزک اثرات ضد پروتواسکولکسی مناسبی را دارد. در همین راستا در زمینه مطالعات پیرامون اثر اسانس گیاهان بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک و ترکیبات تشکیل‌دهنده آن‌ها مطالعاتی در دسترس بود که به بخشی از آن‌ها اشاره می‌گردد. نتایج مطالعه مؤذنی و همکاران مشخص نمود که اسانس گیاه زینان[2] (*تراکیسپرموم آممی*[3]) قدرت پروتواسکولکس کشی بالایی دارد و می‌تواند به عنوان یک اسکولیسیدال طبیعی مطرح باشد. در مطالعه مذکور اسانس گیاه زینان غنی از تیمول (۵۰/۰۷ درصد) بوده است [۱۱]. مطالعات نشان داده‌اند که تیمول و پیش سازهای آن نظیر Cymene و Terpinene دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشند [۱۴،۱۷]. به نظر می‌رسد که تیمول با اثر بر

[1] Olefinic

[2] Ajowan

[3] *Trachyspermum ammi*

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

روی فسفولیپید غشا و تغییر در نفوذپذیری غشاءِ میکروارگانیسم و نشت مواد داخل سلولی آن به خارج، موجب آسیب به سلول می‌گردد [۱۷].

P-cymene از دیگر ترکیباتی بود که در مطالعات موذنی و همکاران از اسانس گیاه زینان جدا گردید [۱۱]. موذنی وهمکاران در مطالعه‌ای دیگر به ارزیابی خاصیت پروتواسکولکس‌کشی اسانس گیاه مرزه خوزستانی[1] پرداختند. بر اساس نتایج تحقیق آن‌ها مشخص گردید که غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس پس از مدت زمان ۶۰ دقیقه تمامی پروتواسکولکس‌ها را از بین می‌برد. در این مطالعه پس از آنالیز اسانس مرزه خوزستانی، کارواکرول[2] مهمترین جزءِ اسانس (۹۴/۹ درصد) تشخیص داده شد [۱۸]. کارواکرول نیز در واقع نوعی فنول مونوترپنوئیدی[3] می‌باشد که دارای اثرات ضد میکروبی قوی است [۱۹]. اولتی[4] و همکاران معتقدند که ترکیباتی نظیر کارواکرول نقش مبادله‌کننده پروتون دارند و در نتیجه گرادیانت غشاءِ سیتوپلاسمی را کاهش می‌دهند و باعث تخلیه سلول از ATP می‌گردند و در نهایت باعث مرگ سلول می‌شوند [۱۰].

## نتیجه‌گیری

در نهایت نتایج مطالعه حاضر نشان از قدرت پروتواسکولکس‌کشی بالای اسانس گیاه تره‌تیزک بومی استان خوزستان دارد. اثر ضدانگلی اسانس این گونه را می‌توان به مونوترپن‌های موجود در اسانس نسبت داد. بنابراین با توجه به اثر ضد انگلی اسانس گیاه تره‌تیزک می‌توان اسانس این گیاه را به‌عنوان ترکیبی با اثر ضدپروتواسکولکسی با منشاءِ طبیعی درنظر گرفت و مطالعات بیشتری در این زمینه انجام داد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و امتنان خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه این تحقیق را درقالب پژوهانه از طریق هزینه‌کرد پایان‌نامه‌های دانشجویان تحصیلات تکمیلی (پایان نامه دکترای عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز) فراهم نموده‌اند، اعلام می‌دارند.

[1] *Satureja khuzestanica*
[2] Carvacrol
[3] Monotepenoid Phenol
[4] Ultee

## *References*

1- Altintas N. Past to Present: echinococcosis in Turkey. Acta Trop. 2003 Feb; 85(2): 105-112.
2- Wen H, New RR, Craig PS. Diagnosis and treatment of human hydatidosis. Br J Clin Pharmacol. 1993 Jun; 35(6): 565-574.
3- Pessoa LM, Morais SM, Bevilaqua CML, Luciano JHS. Anthelmintic activity of essential oil of Ocimum gratissimun Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. Vet Parasitol. 2002 Oct; 109: 59-63.
4- Hasegawa K, Mizutani J, Kosemura S, Yamamura, S. Isolation and identification of lepidimoide, a new allelopathic substance from mucilage of germinated cress seeds. Plant Physiol. 1992 Oct; 100(2): 1059-1061.
5- Ceballos L, Alvarez LI, Sanchez Bruni SF, Elissondo C, Dopchiz M, Denegri G, et al. Development of a cyclodextrin-based flubendazole formulation to control secondary echinococcosis: pharmacokinetics, hydatid cyst morphology and efficacy in mice. J Vet Pharmacol Ther. 2006 Oct; 29: 85–86.
6- Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, Ammann RW, Kern P, Craig PS, et al. Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawlowski ZS. (Eds.), WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. World Organization for Animal Health, Paris, 2001: 20–71.

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]

7- Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. Food Microbiol. 2001 Aug; 18: 443-447.
8- Shulgin AT, Sargent T, Naranjo C. The Chemistry and psychopharmacology of nutmeg and of several related phenylisopropylamines. Psychopharmacol Bull. 1967 Dec; (3): 13.
9- Pichersky E. Biosynthesis of Plant Volatiles: Nature's Diversity and Ingenuity. Science. 2006 Feb; 311(5762): 808–811.
10- Ultee A, Bennink MHJ, Moezelaar R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Appl Environ Microbiol. 2002 Apr; 68(4): 1561–1568.
11- Moazeni M, Saharkhiz MJ, Hosseini AA. In vitro lethal effect of ajowan (*Trachyspermum ammi* L.) essential oil on hydatid cyst protoscolices. Vet Parasitol. 2012 Dec; 187: 203-208.
12- Lorenzetti BB, Souza GREP, Sarti SLJ, Santos Filho D, Ferreira SRH. Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. J Ethnopharmacol. 1991 Aug; 34(1): 43–48.
13- Sartorelli P, Marquioreto AD, Amaral-Baroli A, Lim MEL, Moreno PRH. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus*. Phythother Res. 2007 Mar; 21: 231-233.
14- Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. Int J Food Microbiol. 2004 Aug; 94: 223-253.
15- Juliano C, Mattana A, Usai M. Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of Thymus *herba-barona Loisel* growing wild in Sardinia. J Essent Oil Res. 2000 Mar; 12: 516–522.
16- Gill AO, Delaquis P, Russo P, Holley RA. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. Int J Food Microbiol. 2002 Feb; 73: 83–92.
17- Goudarzi GR, Saharkhiz MJ, Sattari M, Zomorodian K. Antibacterial activity and chemical composition of ajowan (Carum copticum benth. & hook) essential oil. J Agr Sci Technol. 2011 Nov; 13: 203–208.
18- Moazeni M, Saharkhiz MJ, Hosseini AA, Mootabi Alavi A. In vitro scolicidal effect of *Satureja khuzestanica* (Jamzad) essential oil. Ascian Pac J Trop Biomed. 2012 Aug; 1: 616-620.
19- Kim JM, Marshall MR, Cornell JA, Preston JF Wei CI. Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and on fish cubes. J Food Sci. 1995 Aug; 60: 1364-1368.

[ Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-05-17 ]