

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

Bahrami S<sup>\*1</sup>, Razi Jalali MH<sup>1</sup>, Ramezani Z<sup>2</sup>, Pourmehdi Boroujeni M<sup>3</sup>, Toeimepour F<sup>1</sup>

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 *Echinococcus 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.  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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*

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

سمیه بهرامی<sup>۱\*</sup>، محمد حسین راضی جلالی<sup>۱</sup>، زهرا رمضانی<sup>۲</sup>، مهدی پورمهدی بروجنی<sup>۳</sup>، فریال طعیمه پور<sup>۱</sup>

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: ۰۹۱۷۳۱۲۱۴۸۰ 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 *اکنوکوکوس 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.  $\alpha$ -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 حالی که 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، عبارتی 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  $\alpha$ -Thujene بوده و دارای قدرت بالای اسکولکس‌کشی می‌باشد. این گیاه ممکن است به عنوان عامل طبیعی اسکولکس‌کش مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** تره‌تیزک، اسانس، پروتواسکولکس، کیست هیداتیک، برون‌تنی

دریافت: ۹۴/۱/۲۲

پذیرش: ۹۴/۶/۱۱

## مقدمه

کیست هیداتیک ناشی از رشد مرحله نوزادی انگل *اکنوکوکوس 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

به دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران مراجعه و با توجه به کلیدهای تشخیصی مورد تایید قرار گرفت.

#### اسانس گیری از گیاه تره تیزک با استفاده از دستگاه کلونجر

گیاه ابتدا شسته و جهت نفوذ بهتر آب و بخار در حین اسانس گیری 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 جمع آوری 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 دی اتیل اتر

برای خشک کردن اسانس، در مرحله نخست به اندازه حجم اسانس، به آن دی اتیل اتر اضافه گردید. مجموع اسانس و دی اتیل اتر موجود در لوله توسط دست چندین بار هم زده شد. در مرحله بعد به مدت ۲ تا ۳ دقیقه سانتریفیوژ صورت گرفت. فاز دی اتیل اتر حاوی اسانس توسط پیپت برداشته شد و به لوله ای دیگر منتقل گردید و سپس به مدت چند ساعت در آن قرار داده شد تا دی اتیل اتر 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 تره تیزک توسط دستگاه

##### کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی

در این مطالعه از دستگاه GC با نام Agilent 7890A و دستگاه Mass با نام Agilent 5975 استفاده گردید. ستون موئین 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 موئین، ۰/۲۵ میکرومتر بود. نوع عملیاتی دستگاه به شرح زیر بود: دمای اولیه آن ۷۰ درجه سانتی گراد

سگ آلوده، خوردن سبزیجات یا علوفه آلوده به تخم انگل از راه های انتقال آلودگی می باشد. اشکال لاروی انگل در میزبانان واسط به صورت کیست های بزرگی در اندام های داخلی مخصوصاً کبد و ریه ظاهر می شوند [۲]. درمان کیست هیداتیک شامل درمان دارویی، جراحی و یا ترکیبی از هر دو است. به دلیل خطرات استفاده از داروهای شیمیایی و بروز مقاومت نسبت به این داروها در بسیاری از انگل ها از جمله کیست هیداتیک گرایش به استفاده از گیاهان و مشتقات حاصل از آنها رو به افزایش است. روش های سنتی درمان بیماری های انگلی به طور عمیقی با گیاهان بومی منطقه پیوند خورده است. عصاره های گیاهی و ترکیبات مشتق شده از گیاهان، منبع غنی عوامل دارویی جدید را فراهم می کنند و در کشورهای مختلف از گیاهان بومی جهت درمان بسیاری از عوامل عفونی استفاده می شود [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* می باشد. این گیاه یک ساله و به ارتفاع ۲۰ تا ۳۰ سانتی متر است که در نواحی مختلف ایران از جمله استان خوزستان پرورش می یابد. برای این گیاه اثراتی نظیر کاهش دهنده فشار خون، گشادکننده مجاری هوا، اثرات ضد میکروبی و همچنین ضد انگلی قائل شده اند. بدین ترتیب هدف از مطالعه تجربی حاضر آنالیز اسانس گیاه تره تیزک و بررسی اثرات ضد پروتواسکولکسی اسانس آن بوده است.

#### روش کار

##### تهیه و تایید گیاه تره تیزک

برای انجام مطالعه تجربی حاضر پس از تهیه گیاه از بازار جهت اطمینان از جنس و گونه گیاه مورد نظر

بوده و با سرعت ۱۰ درجه سانتی گراد در دقیقه به دمای ۳۰۰ درجه رسیده و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما ثابت ماند. Run Time کلی، به مدت ۳۰ دقیقه بوده است. گاز حامل دستگاه هلیوم و دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی گراد بود و در حالت Split انجام شد که نسبت Split، ۱:۱۰ در نظر گرفته 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<sup>۱</sup> 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 پروتواسکولکس کنشی 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 کنشی ۵ غلظت ۱، ۳، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در میلی‌لیتر اسانس تره‌تیزک در ۴، 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 اتوزین 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  $\pm$  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  $\alpha = 0/05$  بود. همچنین جهت بررسی وابسته بودن درصد پروتواسکولکس کنشی به غلظت اسانس و زمان انکوباسیون از آزمون همبستگی اسپیرمن استفاده گردید.

#### 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  $\alpha$ -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

<sup>1</sup> Retention Index

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-

جدول ۱. نتایج به دست آمده از آنالیز کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی گیاه تره تیزک به دو طریق تعیین اندیکس بازداشت و مقایسه با

کتابخانه دستگاه کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی

| شماره | نام ترکیب                  | اندیکس بازداشت | درصد عناصر |
|-------|----------------------------|----------------|------------|
| ۱     | $\alpha$ -Thujene          | ۹۲۴/۷          | ۸۸/۸۶      |
| ۲     | $\alpha$ -Pinene           | ۱۰۱۱/۸         | جزئی       |
| ۳     | $\gamma$ -Terpinene        | ۱۰۹۳           | جزئی       |
| ۴     | sabinene                   | ۱۱۰۲           | ۰/۸۳       |
| ۵     | $\beta$ -Pinene            | ۱۱۲۱/۲         | جزئی       |
| ۶     | $\alpha$ -Terpinene        | ۱۱۵۷           | جزئی       |
| ۷     | carvacrol                  | ۱۱۹۸           | ۰/۱۷       |
| ۸     | Myrcene                    | ۱۲۱۴/۸         | ۲/۹        |
| ۹     | $\beta$ -Bisabolene        | ۱۲۱۶           | جزئی       |
| ۱۰    | Terpin-4-ol                | ۱۲۲۵/۸         | جزئی       |
| ۱۱    | thymol                     | ۱۲۳۱/۶         | جزئی       |
| ۱۲    | $\alpha$ -Gurjunene        | ۱۲۶۹           | ۰/۱۹       |
| ۱۳    | P-cymene                   | ۱۲۹۱/۴         | ۱/۶۷       |
| ۱۴    | 1,8-Cineole                | ۱۲۹۸           | ۰/۴۴       |
| ۱۵    | $\gamma$ -Gurjunene        | ۱۳۲۱/۸         | ۰/۲۴       |
| ۱۶    | Thymyl acetate             | ۱۳۴۵/۸         | ۰/۲        |
| ۱۷    | $\beta$ -Caryophyllene     | ۱۴۱۷/۴         | جزئی       |
| ۱۸    | $\alpha$ -Humulene         | ۱۴۸۶           | جزئی       |
| ۱۹    | Trans- $\beta$ -Bisabolene | ۱۵۲۲/۸         | جزئی       |

#### نتایج مربوط با پروتواسکولکس کشی غلظت‌های مختلف اسانس تره تیزک در زمان‌های مختلف انکوباسیون

فعالیت پروتواسکولکس کشی غلظت ۱ میلی گرم در میلی لیتر اسانس به ترتیب ۸/۳، ۹/۴، ۱۲/۳ و ۱۸/۸ درصد پس از ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه انکوباسیون بود. قدرت پروتواسکولکس کشی اسانس در غلظت ۳ میلی گرم در میلی لیتر نیز به ترتیب ۲۴/۲، ۲۴/۸، ۲۵/۷ و ۳۷/۱ درصد پس از زمان‌های مختلف انکوباسیون بود. این در حالی بود که اسانس با غلظت ۵ میلی گرم در میلی لیتر پس از مواجه شدن با پروتواسکولکس در زمان‌های مختلف مورد نظر در مطالعه، به ترتیب ۴۹/۲، ۵۶/۱، ۷۷/۴ و ۹۳/۵ درصد

آن‌ها را از بین برد. همچنین غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر اسانس پس از ۱۰ دقیقه مواجه شدن با پروتواسکولکس‌ها، ۸۸/۶۴ 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 میلی گرم در میلی لیتر نیز در زمان‌های مختلف تمامی پروتواسکولکس‌ها از بین رفته بودند.

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

( $p < 0.05$ ). همچنین غلظت ۱۵ میلی گرم در میلی لیتر اسانس در تمامی زمان های انکوباسیون به شکل معنی داری درصد پروتواسکولکس کشی بالاتری نسبت به گروه کنترل داشت.

در مطالعه حاضر در ارتباط با میزان پروتواسکولکس کشی غلظت های مختلف اسانس و زمان های متفاوت انکوباسیون ارتباط معنی داری وجود داشت. بطوری که ضریب همبستگی بین اسانس در زمان ۱۰ دقیقه انکوباسیون و میزان

پروتواسکولکس کشی 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 می یافت ( $p < 0.001$ ).

جدول ۲ اثرات ضد پروتواسکولکس کشی غلظت های مختلف تریه تیزک و کنترل حاوی نرمال سالین و توپین ۸۰ در زمان های مختلف انکوباسیون را نشان می دهد.

جدول ۲. درصد مرگ و میر پروتواسکولکس ها در گروه های مختلف آزمایش

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

حروف غیر متشابه نشان دهنده معنی داری آن می باشد.

## بحث

بنزایمیدازول ها، فراوان ترین داروهای هستند که در درمان شیمیایی هیداتیدوزیس مورد استفاده قرار می گیرند. حلالیت کم برخی از داروهای بنزایمیدازولی در آب، محدودیت مهمی در فرمولاسیون این داروها ایجاد می کند و تنها امکان فرمولاسیون برخی از این داروها را به صورت سوسپانسیون خوراکی فراهم می کند. جذب ضعیف برخی از این داروها از دستگاه گوارش منجر به کاهش اثر این داروها می گردد [۵]. از عوارض جانبی داروهای بنزایمیدازولی می توان به نوتروپنی، لوکوپنی، پروتئین یوری، آسیب کبدی، افزایش ترانس آمینازها، اختلالات گوارشی و ریزش مو اشاره کرد. همچنین از خطرهای مهم بنزایمیدازول ها، سمیت دارو برای جنین و ناقص الخلقه زایی به خصوص در اوایل آبستنی می باشد [۶]. بنابراین

دستیابی به داروهای موثرتر و بدون عوارض جانبی برای درمان کیست هیداتیک از اهمیت زیادی برخوردار است.

اخیراً متابولیت های ثانویه گیاهان دارویی مانند اسانس ها و عصاره های گیاهی از نظر اثرات ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفته اند و مشخص شده است که اغلب اسانس های گیاهی استخراج شده از گیاهان دارویی دارای خواص ضد قارچی، ضد انگلی، ضد باکتریایی و ضد ویروسی می باشند [۷]. با توجه به اهمیت گیاهان بومی هر منطقه و با توجه به خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد انگلی اسانس ها هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ضد پروتواسکولکسی گیاه بومی تریه تیزک بوده است. در مطالعه حاضر پس از آنالیز اسانس گیاه تریه تیزک ۱۹ ترکیب که حدود ۹۵/۵ درصد آن را تشکیل می دادند، بدست آمد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر ترکیب  $\alpha$ -Thujene مهمترین جزء تشکیل دهنده

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 ارگانیك بوده که برای آن سه ایزومر  $\alpha$ -Thujene،  $\beta$ -Thujene و Sabinene شناخته شده است. این در حالی است که  $\alpha$ -Thujene مهمترین ایزومر این ترکیب می باشد [۸].  $\alpha$ -Thujene جزو دسته مونوترپن ها و مونوترپن ها نیز از کلاس ترپن ها بوده که دارای دو واحد ایزوپرن می باشند. ترپن ها دسته ای از مواد آلی هستند که در طبیعت گستردگی فراوان دارند [۹]. ترپن ها با خصوصیات هیدروفوبیتی بالا قادرند لیپیدهای دیواره سلول های باکتری ها، قارچ ها و انگل ها را جدا کنند و از این راه نفوذپذیری غشاء سلولی را افزایش دهند. اختلال در عملکرد غشای سلول منجر به خروج یون ها و بهم خوردن تعادل الکترونی غشاء می شود، در نتیجه عبور و خروج مواد دچار مشکل شده و در نهایت منجر به مرگ سلول می شود. به همین دلیل است که منابع متعددی ترپن ها و مونوترپن ها را از عوامل موثر در فعالیت ضد میکروبی، ضد انگلی و ضد قارچی اسانس ها می دانند [۱۱، ۱۰].

Myrcene یا  $\beta$ -myrcene یک ترکیب طبیعی الفینیک<sup>۱</sup> می باشد. ترکیبات الفینیک در واقع هیدروکربن های غیراشباع می باشند. Myrcene نیز از کلاس مونوترپن ها بوده و برای آن اثرات ضد درد و ضد التهابی تشخیص داده شده است. اثر ضد التهابی این ترکیب مربوط به پروستاگلندین E می باشد [۱۲]. P-cymene نیز از ترکیبات طبیعی بوده که جزء آلکیل بنزن ها و مونوترپن ها تقسیم بندی می شود. این ترکیب نیز دارای سه ایزومر بوده که P-cymene ایزومر طبیعی آن می باشد. برای این ترکیب نیز اثرات ضدباکتریایی مشاهده شده است [۱۳]. این

ترکیب مولکول آب گریزی بوده که باعث تورم غشاء سیتوپلاسمی می گردد [۱۴]. این مولکول زمانی که با سایر ترکیبات فنولی نظیر تیمول ترکیب شود، اثرات ضد میکروبی قوی را از خود بروز می دهد [۱۵]. قابل ذکر است که بسیاری از مطالعات نشان داده اند که کل اسانس، اثرات ضد عفونی قوی تری را نسبت به تک تک اجزاء اصلی اسانس دارا می باشد [۱۶]. همچنین نشان داده شده است که بسیاری از ترکیباتی که میزان آن ها 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 ضد پروتواسکولکسی غلظت های مختلف اسانس مشاهده گردید که پس از گذشت ۳۰ و ۶۰ دقیقه، غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر اسانس ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس ها را از بین برده بود. در غلظت ۱۵ میلی گرم در میلی لیتر نیز در زمان های مختلف تمامی پروتواسکولکس ها از بین رفته بودند. بنابراین با توجه به یافته های مطالعه حاضر به نظر می رسد که اسانس تره تیزک اثرات ضد پروتواسکولکسی مناسبی را دارد. در همین راستا در زمینه مطالعات پیرامون اثر اسانس گیاهان بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک و ترکیبات تشکیل دهنده آن ها مطالعاتی در دسترس بود که به بخشی از آن ها اشاره می گردد. نتایج مطالعه مؤذنی و همکاران مشخص نمود که اسانس گیاه زینان<sup>۲</sup> (تراکیسپر موم آممی<sup>۳</sup>) قدرت پروتواسکولکس کشی بالایی دارد و می تواند به عنوان یک اسکولیسیدال طبیعی مطرح باشد. در مطالعه مذکور اسانس گیاه زینان غنی از تیمول (۵۰/۰۷ درصد) بوده است [۱۱]. مطالعات نشان داده اند که تیمول و پیش سازهای آن نظیر Cymene و Terpinene دارای اثرات ضد میکروبی می باشند [۱۴، ۱۷]. به نظر می رسد که تیمول با اثر بر

<sup>۲</sup> Ajowan

<sup>۳</sup> *Trachyspermum ammi*

<sup>۱</sup> Olefinic

روی فسفولیپید غشا و تغییر در نفوذپذیری غشاء میکروارگانیزم 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 و همکاران در مطالعه‌ای دیگر به ارزیابی خاصیت پروتواسکولکس‌کشی اسانس گیاه مرزه خوزستانی<sup>۱</sup> 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<sup>۲</sup> مهمترین جزء اسانس (۹۴/۹ درصد) تشخیص داده شد [۱۸].

کارواکرول نیز در واقع نوعی فنول مونوترپنوئیدی<sup>۳</sup> می‌باشد که دارای اثرات ضد میکروبی قوی است [۱۹]. اولتی<sup>۴</sup> و همکاران معتقدند که ترکیباتی نظیر کارواکرول نقش مبادله‌کننده پروتون دارند و در نتیجه گرادیانت غشاء سیتوپلاسمی را کاهش می‌دهند و باعث تخلیه سلول

<sup>۱</sup> *Satureja khuzestanica*<sup>۲</sup> Carvacrol<sup>۳</sup> Monotepenoid Phenol<sup>۴</sup> Ultee

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 منشأ طبیعی در نظر 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 در قالب پژوهانه از طریق هزینه‌کرد پایان‌نامه‌های دانشجویان تحصیلات تکمیلی (پایان نامه دکترای عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز) فراهم نموده‌اند، اعلام می‌دارند.

### References

- Altintas N. Past to Present: echinococcosis in Turkey. *Acta Trop.* 2003 Feb; 85(2): 105-112.
- Wen H, New RR, Craig PS. Diagnosis and treatment of human hydatidosis. *Br J Clin Pharmacol.* 1993 Jun; 35(6): 565-574.
- Pessoa LM, Morais SM, Bevilacqua CML, Luciano JHS. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. *Vet Parasitol.* 2002 Oct; 109: 59-63.
- Hasegawa K, Mizutani J, Kosemura S, Yamamura S. Isolation and identification of lepidimoid, a new allelopathic substance from mucilage of germinated cress seeds. *Plant Physiol.* 1992 Oct; 100(2): 1059-1061.
- Ceballos L, Alvarez LI, Sanchez Bruni SF, Elisondo 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.
- 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.

- 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*. *Phytother 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 scolical effect of *Satureja khuzestanica* (Jamzad) essential oil. *Asian 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.