

بررسی فعالیت کشندگی اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشگک (*Ducrosia anethifolia* DC. Boiss) بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط برون‌تنی

حسن عیبدی*، دامون رزمجویی، روزبه حق جو، محمد ذوالعدل

مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۱/۰۵/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: مشگک که از خانواده چتریان است، گیاهی دوساله، پایا، به رنگ سبز مات یا متمایل به آبی، دارای ارتفاع حدود ۳۰-۱۰ سانتی‌متر بوده که در قسمت پایین منشعب و بدون کرک می‌باشد. از این گیاه، در طب سنتی ایران، جهت تسکین درد و رفع التهاب استفاده شده و اثرات ضد میکروبی آن علیه باکتری‌های گرم مثبت، مخمرها و برخی درماتوفیت‌ها گزارش شده است. هدف از این پژوهش تعیین و بررسی فعالیت کشندگی اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشگک بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط برون‌تنی بود.

روش بررسی: این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در سال ۱۴۰۰ بر روی پروتواسکولکس‌های جدا شده از کیست‌های آلوده گوسفندی که از کشتارگاه یاسوج جمع‌آوری شدند، انجام شد، سپس گیاه مشگک تهیه و فرآوری اسانس در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج با استفاده از دستگاه تقطیر با آب، طرح کلونجر صورت گرفت. همچنین ترکیبات عمده گیاه به وسیله کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی تعیین گردید؛ سپس درصد پروتواسکولکس‌کشی غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اسانس گیاه مشگک در شرایط برون‌تنی در زمان‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۳۰ دقیقه با استفاده از شمارش پروتواسکولکس‌های مرده با رنگ‌آمیزی حیاتی اتوزین ۰/۱ درصد تعیین شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج مربوط به کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی انجام شده بر روی اسانس گیاه مشگک نشان داد که از بین ترکیبات عمده موجود در اسانس گیاه فوق‌الذکر، بیشترین ترکیب، Decanal، Dodecanal، α-pinene و (2E)-Dodecenal بود. اثر اسکولیسیدالی بهینه (کشندگی صد درصد در کمترین مدت زمان مواجهه با کمترین غلظت) در مدت زمان ۵ دقیقه مواجهه پروتواسکولکس‌ها با غلظت ۱/۲۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اسانس گیاه مشگک بوده است (p < ۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: اسانس گیاه مشگک دارای اثر اسکولیسیدالی قوی بوده و در صورت تأیید نتایج این مطالعه در پژوهش‌های آتی درون‌تنی و اطمینان از عدم سمیت آن می‌توان از آن به عنوان یک ماده پروتواسکولکس‌کش استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: مشگک، پروتواسکولکس، کیست هیداتید، اسانس.

* نویسنده مسئول: حسن عیبدی، یاسوج، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج

Email: abidihassan57@gmail.com

مقدمه

شیمی درمانی با بنزیمیدازول‌ها و بهترین روش درمانی برای کیست‌های بزرگتر از ۵ سانتی‌متر می‌باشد^(۲).^۱ با توجه به تحت فشار بودن کیست هیداتیک، پاره شدن و انتشار مایع هیداتید حاوی پروتواسکولکس در هنگام انجام روش‌های جراحی، پدیده‌ای غیرعادی نیست و همین امر مهم‌ترین علت عود این بیماری است، از این روی استفاده از مواد کشنده پروتواسکولکس^(۹) در حین جراحی ضروری است^(۳). در تاریخچه درمان این بیماری، به منظور بی‌خطر ساختن کیست هیداتید، لیستی از مایعات طبیعی از جمله صفرای گوسفند، آب نمک، سولفات مس، بتا نفتول، اسید بوریک، سالیسیلیک اسید، کلرید جیوه، الکل، فرمالین یک درصد و فرمالین گلیسیرین، جهت تزریق به داخل کیست پس از خارج نمودن مایع کیست، به وسیله محققین مختلف معرفی شده است. با وجود این که تا به امروز محلول‌های مختلف پروتواسکولکس‌کش در جراحی و روش زیرجلدی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، ماده ایده‌آلی که به طور کامل مؤثر و همچنین بدون عارضه جانبی باشد، تاکنون شناخته نشده است. محلول نمک هیپرتونیک، نیترات نقره، ستریمیدین^(۱۰) و فرمالین از متداول‌ترین

هیداتیدوزیس^(۱) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زئونوز^(۲) است که به وسیله فرم لاروی کرم‌های نواری جنس *اکینوкокوس*^(۳) ایجاد می‌شود. گونه غالب این انگل یعنی *اکینوкокوس گرانولوزوس*^(۴) در اندام داخلی علفخواران و انسان باعث ایجاد کیست هیداتید تک‌حفره‌ای می‌گردد. این بیماری در برخی از مناطق دنیا مانند؛ استرالیا، شمال آفریقا، خاور دور و خاورمیانه به صورت اندمیک وجود دارد و هنوز به عنوان یک مشکل بهداشتی باقی مانده است، همچنین در برخی از کشورها به‌عنوان یک بیماری بازپدید مطرح است^(۱). برای درمان هیداتیدوزیس، بسته به اندازه و موقعیت قرارگیری کیست، روش‌های گوناگونی مورد استفاده قرار گرفته است که از جمله آنها می‌توان به دارودرمانی با ترکیبات بنزایمیدازول^(۵)، تخلیه از طریق پوست با هدایت اولتراسونوگرافی و جراحی به روش سوراخ نمودن، تخلیه مایع درون کیست، تزریق مواد شیمیایی و دارویی اسکولیسیدال در داخل کیست و تخلیه مجدد مایع درون کیست‌های هیداتید^(۶) اشاره نمود. روش اخیر به عنوان یک عمل جراحی که قبل و پس از آن بایستی با استفاده از دارو یا ترکیب دارویی، خطرات ناشی از نشست پروتواسکولکس‌ها^(۷) و ابتلا به کیست‌های ثانویه را در بیماران کاهش داد، تخلیه کیست‌های هیداتید^(۸) واقع در شکم و ریه بوده که به عنوان یک گزینه درمانی نسبتاً جدید و با حداقل تهاجم، مکمل یا جایگزین عمل جراحی و نیز مکمل

-
- 1- Hydatidosis
 - 2-Zoonosis
 - 3-Echinococcus
 - 4-Echinococcus granulosus
 - 5-Benzimidazole
 - 6-Puncture, Aspiration, Injection and Reaspiration (PAIR)
 - 7-Protoscoleces
 - 8-Hydatid Cyst
 - 9-Scolicidals
 - 10-Cetrimide

سوریه، لبنان و برخی کشورهای عربی و خلیج فارس نیز به میزان کمتری یافت می‌شود (۷-۱۰).^۱

مشگک گیاهی دوساله، پایا، به رنگ سبز مات یا متمایل به آبی، دارای ارتفاع حدود ۱۰-۳۰ سانتی‌متر که در قسمت پایین منشعب و بدون کرک می‌باشد. ساقه گیاه به صورت متعدد، از قاعده دارای انشعابات دو شاخه‌ای می‌باشد. بخش‌های پایینی گیاه دارای دو برگ بلند به طول ۱۶-۱۰ سانتی‌متر بوده و پهنک آنها دارای بریدگی سه تایی است. کناره‌های گلبرگ دنداندار و کمی کرک دار است. گل‌ها به رنگ‌های سفید، زرد تا کمی قرمز دیده می‌شود که به صورت گل‌آذین چتر مرکب می‌باشند. دندان‌های کاسبرگ گل‌ها نامساوی و گلبرگ به شکل تخم مرغ با نوک برگشته در جهت پایین می‌باشد. گل آذین دارای ۵ تا ۲۰ پایک است که با یکدیگر برابر و ۳ تا ۷ سانتی‌متر طول دارند. زائده‌های پای چتر و چترک‌ها تقریباً بدون کرک، به شکل باریک و نوک تیز و به بلندی دم گلها بوده و دارای ۱۵ تا ۲۵ گل دو جنسی می‌باشند و گلدهی آن از فروردین تا خرداد می‌باشد (۸ و ۶).

در طب سنتی ایران، مشگک جهت تسکین دردهای مختلف مانند سردرد، کمردرد، قولنج، درمان التهابات بینی، سرماخوردگی و بی‌خوابی (۱۱ و ۶)، درمان دلپیچه و نفخ معده، رفع گرمی و درمان بی‌نظمی‌های قاعدگی، تأخیر در قاعدگی و تنظیم قاعدگی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۹).

پروتواسکولکس‌کش‌های مورد استفاده می‌باشند که هر کدام عوارض خطرناکی مانند؛ فیبروز^(۱)، مجاری صفراوی و نکروز^(۲) کبد را باعث می‌شوند. همچنین کلانژیت اسکروزان^(۳) ناشی از این مواد، عارضه خطرناکی است که ممکن است بعد از جراحی و عبور محلول‌های پروتواسکولکس‌کش از مجاری صفراوی ایجاد گردد. با توجه به این معضلات، سازمان جهانی بهداشت^(۴)، نیاز فوری به یافتن یک پروتواسکولکس‌کش جدید با تأثیر بیشتر و عوارض کمتر را برای استفاده در حین جراحی اعلام نموده است (۵ و ۴).

تنوع ساختمانی ترکیبات فعال گیاهان دارویی و متنوع بودن منابع این گیاهان، آنها را به‌عنوان منبع مفیدی از ترکیبات درمانی نوین معرفی نموده است. در سال‌های اخیر، شواهدی مبنی بر وجود مواد طبیعی ضد پروتواسکولکس در برخی گیاهان به دست آمده است، این گیاهان اثرات ضد میکروبی با طیف وسیع دارند و ممکن است بتوانند به جای مواد صناعی دارویی مورد استفاده قرار بگیرند (۶).

گیاه مشگک که در ایران به نام‌های مُشگک، ریشگک و مُشک‌بو شناخته می‌شود، از جنس خانواده چتریان است. از این جنس سه گونه؛ *D. anethifolia*، *D. flabellifolia*، *D. asadi* شناسایی شده که در مناطق دشتی روی خاک‌های شنی در کرمان، خراسان، زنجان، شوشتر، بهبهان، شیراز، کازرون، بروجان و سیستان و بلوچستان انتشار دارد. این گیاه که دامنه انتشار آن از مصر تا هندوستان است، در کشورهای دیگر نیز مانند؛ افغانستان، پاکستان، عراق،

1-Fibrosis
2-Necrosis
3-Sclerosing Cholangitis (SC)
4-World Health Organization(WHO)

بر میلی‌لیتر اسانس گیاه مشگک با استفاده از رقیق‌سازی سریالی^(۱) تهیه شد (۱۷).^۱

به منظور بررسی ترکیبات موجود در اسانس گیاه مشگک، از دستگاه کروماتوگراف گازی مدل ۶۸۹۰ کوپل شده با طیف سنج جرمی مدل ۷۳۹۷۳^(۲) ساخت شرکت Agilent آمریکا، دارای ستون موئین HP-5MS با فاز ساکن فنیل متیل پلی‌سیلوکسان ۵ درصد^(۳) (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شده است؛ بدین نحو که پس از تزریق اسانس به وسیله یک میکروسرنج به درون محفظه داغ انژکتور، نمونه در تماس با دمای بالای انژکتور بلافاصله تبخیر شده و به همراه جریان گاز حامل به سوی ستون هدایت شد. ستون در آونی قرار داشت که دمای آن با دقت و حساسیت فوق‌العاده زیاد تنظیم و تثبیت شد. هر جزء نمونه به صورت مجزا با فاز ساکن درون ستون برهمکنش فیزیکی برقرار نموده و از آنجا که میزان برهمکنش هر جزء با فاز ساکن، متفاوت از سایر اجزا بوده و در نتیجه سرعت حرکت هر جزء با جزء دیگر فرق دارد، لذا پس از خارج شدن هر جزء از ستون و رسیدن آن به آشکارساز یک سیگنال الکتریکی تولید شده که شدت آن متناسب با مقدار کمی آن جزء بوده و در نهایت یک کروماتوگرام رسم شده که پاسخ‌های آشکارساز به اجزاء نمونه بر حسب زمان خروج اجزا از ستون بود. پس از شناسایی طیف‌های حاصل با

همچنین در پژوهش‌های انجام شده، تأثیرات ضد میکروبی (۱۲)، ضد قارچی (۱۳)، شل‌کنندگی عضلات، ضد افسردگی (۶)، ضد اضطرابی (۱۴) و ضد تشنج (۱۵) برای *D. anethifolia* گزارش شده است.

با توجه به موارد پیشگفت و از آنجا که استفاده از گیاهان دارویی در درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های عفونی، مؤثر بوده و در مقایسه با داروهای شیمیایی عوارض کمتری داشته‌اند، لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی فعالیت کشندگی اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشگک بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط برون‌تنی بود.

روش بررسی

این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در سال ۱۴۰۰ در دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد، ابتدا گیاه مشگک از دشت‌های اطراف شهرستان بهبهان (جاده بهبهان به سمت دیلم در طول جغرافیایی: ۳۰/۵۶۵۳۶۴۹۹ و عرض جغرافیایی: ۵۰/۲۵۴۲۵۴۳۴) در فصل گل‌دهی گیاه جمع‌آوری شد. برای تهیه اسانس، مقدار ۲۰۰ گرم از گل، برگ و ساقه مشگک در حالت تر و تازه برداشته، در قطعات کوچک برش داده شده و پس از انتقال سریع به مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، عمل اسانس‌گیری به مدت ۳ ساعت با استفاده از دستگاه تقطیر با آب، طرح کلونجر صورت گرفت (۱۶). پس از مخلوط نمودن ۰/۱ میکرولیتر از اسانس حاصله با ۰/۹۷ میلی‌لیتر نرمال سالین و ۰/۰۳ میلی‌لیتر توین ۸۰، غلظت‌های ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ میکرولیتر

1- Serial Dilution
2-Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC/MS)
3-5% Phenyl Methylpolysiloxane)

میلی‌لیتر اسانس گیاه مشکک به مدت ۵، ۱۰، ۱۵ و ۳۰ دقیقه، درصد کشندگی هر یک از آنها با استفاده از رنگ‌آمیزی حیاتی ائوزین ۰/۱ درصد و شمارش پروتواسکولکس‌های مرده تعیین شد (۱۸).^۱ داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه، اثر اسکولیسیدالی اسانس گیاه مشکک با غلظت‌های ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر در مدت زمان‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۳۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج مربوط به کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی انجام شده بر روی اسانس گیاه مشکک مشتمل بر ترکیبات موجود در اسانس گیاه فوق‌الذکر به همراه زمان بازداری، اندیس کواتس محاسبه شده، اندیس کواتس استاندارد و درصد ترکیب در جدول ۱ ارائه شده است.

بر اساس یافته‌های ارائه شده در جدول ۱ و نمودار ۱ و نتایج آنالیز واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر، اثر اسکولیسیدالی بهینه (کشندگی صد در صد در کمترین مدت زمان مواجهه با کمترین غلظت) در مدت زمان ۵ دقیقه مواجهه پروتواسکولکس‌ها با غلظت ۱/۲۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اسانس گیاه مشکک بوده است ($p < 0.05$).

رسم کروماتوگرام، با توجه به زمان بازداری هریک از ترکیب‌ها، اندیس کواتس^(۱) برای هر جزء موجود در کروماتوگرام اسانس محاسبه شد. این مقادیر با مقادیر اندیس کواتس موجود در جداول استاندارد مقایسه شده و ترکیبات موجود در اسانس مورد شناسایی قرار گرفت (۱۴).

در مرحله بعد جهت تهیه پروتواسکولکس زنده، با مراجعه به کشتارگاه صنعتی یاسوج، ۵ کبده گوسفندی آلوده به کیست هیداتید جمع‌آوری و به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی یاسوج انتقال داده شد. پس از شستشوی سطح خارجی آنها با سرم فیزیولوژی و انتقال آنها به محیط استریل هود، در شرایط آسپتیک، ۱۷ کیست هیداتید از بافت این کبده‌ها جدا شده و سطح خارجی آنها با اتانول ۷۰ درصد ضد عفونی شد. سپس پروتواسکولکس‌های موجود در این کیست‌ها با سرنگ دارای نیدل ۱۸ خارج شده و سه بار با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. در مرحله بعد، میزان زنده بودن پروتواسکولکس‌ها با استفاده از ائوزین ۰/۱ درصد تعیین شد، که این میزان از ۹۰ درصد کمتر نبود، پروتواسکولکس‌های زنده در ظرف‌های تیره حاوی نرمال سالین و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و حجم سرم فیزیولوژی حاوی پروتواسکولکس به حدی رسانده شد که پس از به هم زدن سریع، هر قطره از آن حاوی حدود ۵۰۰ پروتواسکولکس باشد. سپس در هر یک از سه بار انجام آزمایش، با مواجهه یک قطره از محلول حاوی حداقل ۵۰۰ پروتواسکولکس با محیط کنترل مثبت (آب نمک اشباع)، کنترل منفی (سرم فیزیولوژی) و غلظت‌های ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ میکرولیتر بر

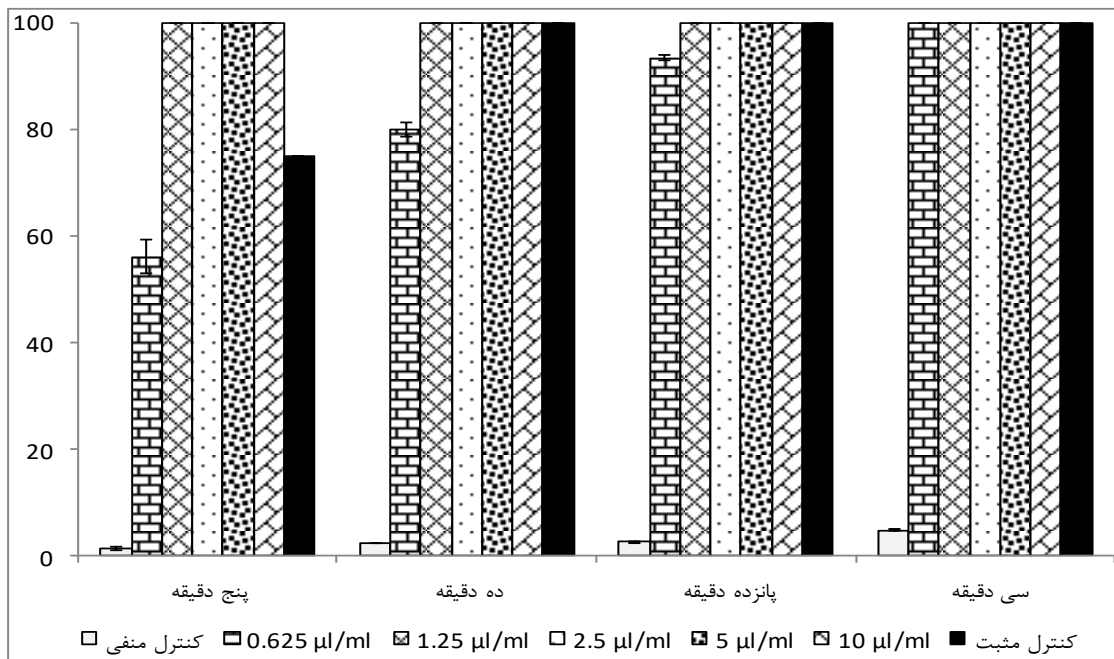
1-Kovats Index (KI)

جدول ۱: ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه مشکک

ردیف	نام ترکیب	زمان بازداری	اندیس کواتس محاسبه شده	اندیس کواتس استاندارد	درصد ترکیب
۱	α -pinene	۷/۱۱	۹۴۰/۲۷	۹۳۹	۲۰/۸۹
۲	β -Pinene	۸/۲۳	۹۷۸/۵۰	۹۷۹	۱/۶۴
۳	D-Limonene	۹/۸۵	۱۰۱۹/۲۵	۱۰۲۴	۱/۹۱
۴	α -Terpinolene	۱۱/۶۸	۱۰۷۵/۴۰	۱۰۸۶	۱/۶۵
۵	Decanal	۱۵/۵۵	۱۱۷۰/۹۱	۱۲۰۱	۳۲/۰۷
۶	1-Decanol	۱۸/۲۸	۱۲۳۸/۱۲	۱۲۶۶	۱/۵۴
۷	n-decanol	۱۸/۸۴	۱۲۴۸/۹۴	۱۲۶۹	۱/۳۷
۸	Dodecanal	۲۱/۹۰	۱۳۲۱/۳۴	۱۴۰۸	۲۱/۱۳
۹	(2E) -Dodecenal	۲۲/۷۵	۱۳۶۵/۷۱	۱۴۶۶	۱۵/۸۰

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار درصد پروتواسکولکس کشتی اسانس گیاه مشکک برحسب غلظت و زمان مواجهه

زمان مواجهه (دقیقه)	غلظت (میکرو لیتر بر میلی لیتر)	تعداد پروتواسکولکس‌های شمارش شده	تعداد پروتواسکولکس‌های مرده	درصد پروتواسکولکس کشتی	انحراف معیار \pm میانگین
	۰/۶۲۵	۵۰۳/۶۷ \pm ۳/۵۱	۲۸۲/۳۳ \pm ۱۵/۰۱	۵۶/۰۶ \pm ۳/۱۷	
	۱/۲۵	۵۰۶/۶۷ \pm ۶/۱۱	۵۰۶/۶۷ \pm ۶/۱۱	۱۰۰ \pm ۰	
۵	۲/۵	۵۰۲/۳۳ \pm ۲/۰۸	۵۰۲/۳۳ \pm ۲/۰۸	۱۰۰ \pm ۰	
	۵	۵۰۵/۰۰ \pm ۴/۳۶	۵۰۵/۰۰ \pm ۴/۳۶	۱۰۰ \pm ۰	
	۱۰	۵۰۴/۳۳ \pm ۳/۷۹	۵۰۴/۳۳ \pm ۳/۷۹	۱۰۰ \pm ۰	
	کنترل منفی	۵۲۳	۷	۱/۳۴	
	کنترل مثبت	۵۱۴	۳۸۵	۷۴/۹۰	
	۰/۶۲۵	۵۰۶/۰۰ \pm ۴/۵۸	۴۰۴/۳۳ \pm ۹/۰۲	۷۹/۹۱ \pm ۱/۴۶	
	۱/۲۵	۵۰۳/۳۳ \pm ۴/۱۶	۵۰۳/۳۳ \pm ۴/۱۶	۱۰۰ \pm ۰	
	۲/۵	۵۰۵/۰۰ \pm ۴/۳۶	۵۰۵/۰۰ \pm ۴/۳۶	۱۰۰ \pm ۰	
۱۰	۵	۵۰۴/۰۰ \pm ۲/۶۵	۵۰۴/۰۰ \pm ۲/۶۵	۱۰۰ \pm ۰	
	۱۰	۵۰۳/۰۰ \pm ۳/۶۱	۵۰۳/۰۰ \pm ۳/۶۱	۱۰۰ \pm ۰	
	کنترل منفی	۵۰۶	۱۲	۲/۳۷	
	کنترل مثبت	۵۰۴	۵۰۴	۱۰۰	
	۰/۶۲۵	۵۰۸/۳۳ \pm ۵/۵۱	۴۷۴/۶۷ \pm ۷/۵۱	۹۳/۳۷ \pm ۰/۴۸	
	۱/۲۵	۵۰۵/۳۳ \pm ۴/۶۲	۵۰۵/۳۳ \pm ۴/۶۲	۱۰۰ \pm ۰	
	۲/۵	۵۰۵/۶۷ \pm ۲/۵۲	۵۰۵/۶۷ \pm ۲/۵۲	۱۰۰ \pm ۰	
۱۵	۵	۵۰۱/۶۷ \pm ۱/۵۳	۵۰۱/۶۷ \pm ۱/۵۳	۱۰۰ \pm ۰	
	۱۰	۵۰۲/۳۳ \pm ۲/۰۸	۵۰۲/۳۳ \pm ۲/۰۸	۱۰۰ \pm ۰	
	کنترل منفی	۵۱۲	۱۳	۲/۳۷	
	کنترل مثبت	۵۰۷	۵۰۷	۱۰۰	
	۰/۶۲۵	۵۰۶/۰۰ \pm ۵/۵۷	۵۰۶/۰۰ \pm ۵/۵۷	۱۰۰ \pm ۰	
	۱/۲۵	۵۰۲/۶۷ \pm ۱/۱۶	۵۰۲/۶۷ \pm ۱/۱۶	۱۰۰ \pm ۰	
	۲/۵	۵۰۹/۶۷ \pm ۸/۷۴	۵۰۹/۶۷ \pm ۸/۷۴	۱۰۰ \pm ۰	
۳۰	۵	۵۰۶/۶۷ \pm ۳/۵۱	۵۰۶/۶۷ \pm ۳/۵۱	۱۰۰ \pm ۰	
	۱۰	۵۰۴/۰۰ \pm ۶/۹۳	۵۰۴/۰۰ \pm ۶/۹۳	۱۰۰ \pm ۰	
	کنترل منفی	۵۰۲	۲۴	۲/۳۷	
	کنترل مثبت	۵۰۷	۵۰۷	۱۰۰	



نمودار ۱: درصد پروتواسکولکس‌کشی اسانس گیاه مشکگ برحسب غلظت و زمان مواجهه

بحث

گیاهان دارویی، قدیمی‌ترین داروهایی هستند که به وسیله انسان استفاده شده و امروزه، مصرف روزافزون آنها، مؤید اقبال عمومی جامعه برای جایگزینی داروهای گیاهی به جای داروهای متعارف می‌باشد (۱۷). پژوهش‌های انجام شده تا کنون نشان داده است که برخی از گیاهان، دارای ترکیبات طبیعی ضد پروتواسکولکس می‌باشند (۶). لذا هدف از این پژوهش تعیین و بررسی فعالیت کشندگی اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشکگ بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط برون‌تنی بود.

مشگگ یکی از این گیاهان است که علاوه بر این که تأثیرات بیولوژیکی نظیر؛ اثرات ضد میکروبی، ضد باکتریایی و ضد قارچی آن در پژوهش‌های

پیشین، گزارش شده است (۱۴-۱۲)، بر اساس مبانی دانش نظری می‌تواند به دلیل وجود هیدروکربن‌های مونوتربین در ترکیب اصلی آن دارای اثرات اسکولیسیدالی نیز باشد (۲۲-۱۹).

در مطالعه حاضر، ترکیبات عمده اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشکگ به ترتیب فراوانی شامل Decanal (۳۲/۰۷ درصد)، Dodecanal (۲۱/۱۳ درصد)، α -pinene (۲۰/۸۹ درصد) و (2E)-Dodecenal (۱۵/۸۰ درصد) می‌باشد. یافته‌های مطالعه مصطفوی و همکاران مبنی بر این که ترکیبات عمده اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشکگ به ترتیب فراوانی، Decanal (۵۴ درصد)، α -Pinene (۱۱ درصد)، terpinolene (۳/۲ درصد)، cis-chrysanthenyl acetate و decanoic (۳/۲ درصد)، (z)- β -ocimene (۲/۸ درصد) و

شیمیایی خاک، زمان جمع‌آوری و مراحل رویشی گیاه (رویشی، گل دهی و بذردهی) باشد (۲۲). یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از آن است که غلظت‌های بالاتر اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشکگ، سبب از بین رفتن تعداد بیشتری از پروتواسکولکس‌ها شده و درصد مرگ پروتواسکولکس‌ها با افزایش زمان مواجهه با اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشکگ، افزایش یافته است. همچنین یافته‌ها نشان داد که اثر اسکولیسیدالی بهینه (کشنده‌گی صد در صد در کمترین مدت زمان مواجهه با کمترین غلظت) در مدت زمان ۵ دقیقه مواجهه پروتواسکولکس‌ها با غلظت ۱/۲۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اسانس گیاه مشکگ بوده است. در مطالعه مؤذنی و همکاران که اثر بهینه اسکولیسیدالی اسانس گیاه زنیان رومی در مدت زمان ۱۰ دقیقه مواجهه پروتواسکولکس‌ها با غلظت ۱۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر این اسانس گزارش شده است، Thymol، Gamma-Terpinene و P-Cymene به عنوان ترکیبات عمده این اسانس بوده‌اند (۲۱). نتایج مطالعه کاووسی و همکاران حاکی از آن است که غلظت بهینه اسکولیسیدالی اسانس گیاه آنغوزه، ۶۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر در مدت زمان ۱۰ دقیقه بوده و ترکیبات عمده این اسانس، (E)-1-Propenyl sec-butyl disulfide، β -Pinene و β -o-Cymene بوده است (۲۳). در مطالعه لشکری‌زاده و همکاران اثر بهینه اسکولیسیدالی اسانس گیاه رازیانه در مدت زمان ۵ دقیقه مواجهه پروتواسکولکس‌ها با غلظت ۱ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بوده است (۲۴). در مطالعه محمودوند و همکاران، اثر

acid (۱/۳) درصد بوده است (۲۰) از یافته‌های مطالعه حاضر مبنی بر وجود Decanal و α -Pinene به عنوان دو ترکیب عمده در اندام‌های هوایی گیاه مشکگ حمایت می‌کند. نتایج مطالعه یاسا و همکاران نشان داد که ترکیبات عمده موجود در اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشکگ به ترتیب فراوانی مشتمل بر α -pinene (۱۴/۵ درصد)، Decanoic acid (۱۰/۴ درصد)، Decanal (۱۰/۱ درصد)، β -myrcene (۶/۱ درصد)، benzyl acetate (۴/۵ درصد)، Dodecanal (۴/۱ درصد)، E,E- α -farnesene (۳/۵ درصد) و limonene (۲/۵۷ درصد) بوده (۱۰) که وجود ترکیبات α -pinene، Decanal، Dodecanal و limonene در اندام‌های هوایی گیاه مشکگ با نتایج مطالعه حاضر هم‌سو بوده، اما سایر ترکیبات گزارش شده با ترکیبات مستخرجه در مطالعه حاضر مشابه نبوده است. همچنین مقایسه نتایج مطالعه کرمی و بهلولی با مطالعه حاضر نشان داد که ترکیبات α -Pinene، Dodecanal، n-Decanol و (2E)-Dodecenal در هر دو مطالعه به عنوان ترکیبات عمده اسانس گیاه مشکگ شناخته شده، اگر چه که درصد ترکیب هر یک از آنها بین دو مطالعه متفاوت است. همچنین ترکیبات Decanoic acid، cis-Chrysanthenyl acetate، n-Nonanal، Caryophyllene oxide (۷) در مطالعه حاضر به عنوان ترکیبات عمده موجود در اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشکگ شناسایی نشده‌اند. تفاوت ترکیبات اسانس گیاهان از یک جنس و گونه می‌تواند به دلیل تنوع و تفاوت شرایط اکولوژیکی از جمله اقلیم (دما، رطوبت و میزان بارندگی)، شرایط فیزیکی و

از نتایج آن در خصوص استفاده آن در بالین بررسی‌های لازم انجام شود.

نتیجه‌گیری

کشندگی در غلظت‌های پایین‌تر اسانس اندام‌های هوایی گیاه مشکگ و مدت زمان مواجهه کمتر، مؤید آن است که اسانس گیاه مشکگ دارای اثر اسکولیسیدالی قوی بوده و در صورت تأیید نتایج این مطالعه در پژوهش‌های آتی درون‌تنی و اطمینان از عدم سمیت آن می‌توان از آن به عنوان یک ماده پروتواسکولکس‌کش استفاده نمود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان‌نامه دکترای حرفه‌ای پزشکی با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1400.154 از دانشگاه علوم پزشکی یاسوج می‌باشد که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری آن دانشگاه انجام شده است.

اسکولیسیدالی بهینه، در مدت زمان ۵ دقیقه مواجهه پروتواسکولکس‌ها با غلظت ۲۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اسانس گیاه زیره سیاه کرمانی که ترکیبات عمده آن β -Pinene و Gamma-Terpinene و Cuminaldehyde بوده، مشاهده شده است (۲۲). در مطالعه طبری و همکاران، اثر اسکولیسیدالی بهینه، در مدت زمان ۶۰ دقیقه مواجهه پروتواسکولکس‌ها با غلظت ۵۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اسانس گیاه باریجه که ترکیب عمده آن β -Pinene بوده، گزارش شده است (۲۵). در مطالعه محمودوند و همکاران، کشندگی صد در صد در مدت زمان ۵ دقیقه مواجهه پروتواسکولکس‌ها با غلظت ۲۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اسانس گیاه زردچوبه گزارش شده است (۲۶). یافته‌های مطالعه هیزم و همکاران در مورد اثر اسکولیسیدالی گیاه آویشن نشان داد که غلظت ۳ میکرولیتر بر میلی‌لیتر از اسانس این گیاه در مدت زمان مواجهه ۱ دقیقه توانسته صد در صد پروتواسکولکس‌ها را از بین ببرد (۲۷). از دلایل احتمالی عدم مشابهت نتایج پژوهش‌های فوق با مطالعه حاضر، می‌توان به ترکیبات عمده موجود در اسانس گیاه‌های مورد مطالعه اشاره نمود. لذا پیشنهاد می‌شود.

پژوهش‌های بیشتر برای بررسی اجزای اسکولکس‌کش اسانس گیاه مشکگ و مکانیسم عمل آنها و بررسی اثر سینرژیک آنها با داروی استاندارد آلبندازول ضروری به نظر می‌رسد. پیشنهاد می‌شود در ادامه، پژوهش‌ها سم‌شناسی و درون‌تنی با استفاده از اسانس گیاه مشکگ انجام تا با استفاده

REFERENCES

1. Deplazes P, Rinaldi L, Alvarez Rojas CA, Torgerson PR, Harandi MF, Romig T, et al. Global Distribution of Alveolar and Cystic Echinococcosis. *Advances in Parasitology*: Academic Press; 2017; 315-493.
2. Kern P, Menezes da Silva A, Akhan O, Müllhaupt B, Vizcaychipi KA, Budke C, et al. The echinococcoses: diagnosis, clinical management and burden of disease. *Advances in Parasitology*: Academic Press; 2017; 259-369.
3. Craig PS, Hegglin D, Lightowers MW, Torgerson PR, Wang Q. Echinococcosis: Control and Prevention. *Advances in Parasitology*: Academic Press; 2017; 55-158.
4. World Health Organization. Report of the WHO informal working group on cystic and alveolar echinococcosis surveillance, prevention and control, with the participation of the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Organisation for Animal Health, 22-23 June 2011, Department of Control of Neglected Tropical Diseases, WHO, Geneva, Switzerland. 2011.
5. Sharafi SM, Sefiddashti RR, Sanei B, Yousefi M, Darani HY. Scolicidal agents for protoscolices of *Echinococcus granulosus* hydatid cyst: Review of literature. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences* 2017; 22(1): 92-6.
6. Kohansal MH, Nourian A, Rahimi MT, Daryani A, Spotin A, Ahmadpour E. Natural products applied against hydatid cyst protoscolices: a review of past to present. *Acta Tropica* 2017; 176: 385-94.
7. Karami A, Bahloli A. Variability in essential oil of *Ducrosia anethifolia*(DC) Boiss. growing wild in Fars province, Iran. *Julius-Kühn-Archiv* 2016; 453: 132.
8. Valiejo-Roman C, Terentieva E, Samigullin T, Pimenov M, Ghahremani-Nejad F, Mozaffarian V. Molecular data (nrITS-sequencing) reveal relationships among Iranian endemic taxa of the Umbelliferae. *Feddes Repertorium: Zeitschrift für Botanische Taxonomie und Geobotanik* 2006; 117(5-6): 367-88.
9. Dolatkahi M, Nabipour I. Ethnobotanical study of medicinal plants used in the northeast latrine zone of Persian Gulf. *Journal of Medicinal Plants* 2014; 13(50): 129-43.
10. Yassa N, Aliasl F, Mozaffarian V. Essential oil composition of *Ducrosia assadii* aerial parts and fruits from Iran. *Planta Medica* 2011; 77(12): PE35.
11. Obeidi L, Ashraf Mehrabi A, Omid M, Oladzad A. Karyotype analysis and meiotic behaviors of *Ducrosia anethifolia*: The first case study. *African Journal of Agricultural Research* 2012; 7(33): 4589-95.
12. Mahboubi M, Feizabadi MM. Antimicrobial activity of *Ducrosia anethifolia* essential oil and main component, decanal against methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 2009; 12(5): 574-9.
13. Stavri M, Mathew KT, Bucar F, Gibbons S. Pangelin, an antimycobacterial coumarin from *Ducrosia anethifolia*. *Planta Medica* 2003; 69(10): 956-9.
14. Shahabipour S, Firuzi O, Asadollahi M, Faghihmirzaei E, Javidnia K. Essential oil composition and cytotoxic activity of *Ducrosia anethifolia* and *Ducrosia flabellifolia* from Iran. *Journal of Essential Oil Research* 2013; 25(2): 160-3.
15. Zamyad M, Abbasnejad M, Esmaeili-Mahani S, Mostafavi A, Sheibani V. The anticonvulsant effects of *Ducrosia anethifolia*(Boiss) essential oil are produced by its main component alpha-pinene in rats. *Arquivos De Neuro-Psiquiatria* 2019; 77: 106-14.
16. Arjmand Z, Dastan D. Chemical characterization and biological activity of essential oils from the aerial part and root of *Ferula haussknechtii*. *Flavour and Fragrance Journal* 2020; 35(1): 114-23.
17. Mahmoudvand H, Mirbadie SR, Sadooghian S, Harandi MF, Jahanbakhsh S, Saedi Dezaki E. Chemical composition and scolicidal activity of *Zataria multiflora* Boiss essential oil. *Journal of Essential Oil Research* 2017; 29(1): 42-7.

18. Mahdavi M, Masood J. Scolicidal effect of alcoholic, aqueous and total alkaloids of *Peganum Harmala L.* (Syrian Rue) against hydatid cysts protoscolices. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications* 2002; 60(3): 215-26.
19. Sefidkon F, Javidtash I. Essential oil composition of *Ducrosia anethifolia*(DC.) Boiss from Iran. *Journal of Essential Oil Research* 2002; 14(4): 278-9.
20. Mostafavi A, Afzali D, Mirtadzadini S. Chemical composition of the essential oil of *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss. from Kerman Province in Iran. *Journal of Essential Oil Research* 2008; 20(6): 509-12.
21. Moazeni M, Saharkhiz MJ, Hosseini AA. In vitro lethal effect of ajowan (*Trachyspermum ammi L.*) essential oil on hydatid cyst protoscolices. *Veterinary Parasitology* 2012; 187(1-2): 203-8.
22. Mahmoudvand H, Tavakoli Oliaei R, Mirbadie SR, Kheirandish F, Tavakoli Kareshk A, Ezatpour B, et al. Efficacy and safety of *Bunium persicum* (Boiss) to inactivate protoscolices during hydatid cyst operations. *Surgical Infections* 2016;17(6): 713-9.
23. Kavooosi G, Purfard AM. Scolicidal effectiveness of essential oil from *Zataria multiflora* and *Ferula assafoetida*: disparity between phenolic monoterpenes and disulphide compounds. *Comparative Clinical Pathology* 2013; 22(5): 999-1005.
24. Lashkarizadeh MR, Asgaripour K, Dezaki ES, Harandi MF. Comparison of scolicidal effects of amphotricin B, silver nanoparticles, and *Foeniculum vulgare* Mill on hydatid cysts protoscolices. *Iranian Journal of Parasitology* 2015; 10(2): 206.
25. Tabari MA, Youssefi MR, Nasiri M, Hamidi M, Kiani K, Samakkhah SA, et al. Towards green drugs against cestodes: Effectiveness of pelargonium roseum and ferula gummosa essential oils and their main component on *Echinococcus granulosus* protoscolices. *Veterinary Parasitology* 2019; 266: 84-7.
26. Mahmoudvand H, Pakravanan M, Aflatoonian MR, Khalaf AK, Niazi M, Mirbadie SR, et al. Efficacy and safety of *Curcuma longa* essential oil to inactivate hydatid cyst protoscolices. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2019; 19(1): 187.
27. Hizem A, M'rad S, Oudni-M'rad M, Mezhoud H, Ben Jannet H, Flamini G, et al. In vitro scolicidal activity of *Thymus capitatus* Hoff. et Link. essential oil on *Echinococcus granulosus* protoscolices. *Journal of Essential oil Research* 2020; 32(2): 178-85.

In Vitro Scolicidal Activity of Aerial Parts Essential Oils of *Ducrosia anethifolia* DC. *Boiss.* Against Hydatid Cyst Protoscolices

Abidi H*, Razmjoue D, Haghjoo R, Zoladl M

Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 20 Aug 2022 Accepted: 01 Nov 2022

Abstract:

Background & aim: *Ducrosia anethifolia* DC. *Boiss.*, which belongs to the Apiaceae family, is a biennial plant, stable, dull green or bluish in color, with a height of about 10-30 cm, which is branched and without fluff in the lower part. This plant has been used in Iranian traditional medicine to relieve pain and relieve inflammation, and its antimicrobial effects against Gram-positive bacteria, yeasts, and some dermatophytes have been reported. In the present study the In-Vitro scolicidal activity of essential oils of *Ducrosia anethifolia* DC. *Boiss.* on hydatid cyst protoscoleces was investigated.

Methods: In the present experimental study was conducted in 2021 on infected sheep cysts collected from Yasuj slaughterhouse. *Ducrosia anethifolia* DC. *Boiss.* essential oil were obtained and processed in the Medicinal Plants Research Center of Yasuj University of Medical Sciences laboratory. Moreover, the major compounds of plants' essential oils was determined by gas chromatography-mass spectrometry. At that point, the in-vitro protoscolicidal percentage of essential oil of *Ducrosia anethifolia* DC. *Boiss.* concentrations 10, 5, 2.5, 1.25, and 0.625 mg/ml in durations of 5, 10, 15, and 30 minutes was determined. The collected data analyzed using SPSS software version 21 through descriptive and analysis of variance with repeated measurement as inferential statistics with a 95% confidence level.

Results: The results of gas chromatography-mass spectrometry performed on *Ducrosia anethifolia* DC. *Boiss.* essential oil indicated that among the major compounds in the above-mentioned plant essential oil, the most compounds were Decanal, Dodecanal, α -pinene and (2E)-Dodecenal.. The results demonstrated that the highest effective concentration for *Ducrosia anethifolia* DC. *Boiss.* essential oil was 1.25 mg/ml, which caused 100% death of protoscoleces in 5 minutes ($p < 0.05$).

Conclusion: *Ducrosia anethifolia* DC. *Boiss.* essential oil has a strong scolicidal effect and if the results of this study are confirmed in future in-vivo studies and its non-toxicity is ensured, it can be used as a protoscolecoxidal substance.

Keywords: *Ducrosia anethifolia* DC. *Boiss.*, Protoscolicidal, Hydatid cyst, Essential oils.

*Corresponding author: Abidi H, Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.

Email: abidihassan57@gmail.com

Please cite this article as follows: Abidi H, Razmjoue D, Haghjoo R, Zoladl M. In Vitro Scolicidal Activity of Aerial Parts Essential Oils of *Ducrosia anethifolia* DC. *Boiss.* Against Hydatid Cyst Protoscolices. Armaghane-danesh 2022; 28(1): 1-12.