

بررسی اثر اسکولکس کشی عصاره‌های آبی، الکلی و آلكالوئیدهای تام دانه اسپند (*peganum harmala L.*) بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید

مینا مهدوی (مربی)*، دکتر جعفر مسعود (اسناد)*

* گروه انگل شناسی دانشکده بهداشت و آنستیتونحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

مقدمه: دانه اسپند *peganum harmala L.* از زمانهای دور به عنوان ضد انگل و ضد عفونی‌کننده کاربرد داشته است. در این دانه‌ها به دلیل وجود مجموعه‌ای از مواد آلكالوئیدی MAOI's و Beta-carbolines خواص متعددی از جمله ضد میکروب، ضدقارچ و ضد انگل‌های روده‌ای نهفته می‌باشد. در این گزارش نتایج آزمایشات مربوط به تأثیر دانه اسپند پروتواسکولکس‌های کیست (مورد ارزیابی قرار گرفته است).

مواد و روشها: سوسپانسیون‌های عصاره‌های آبی، الکلی و آلكالوئیدهای تام دانه اسپند *peganum harmala L.* بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید به طریق داخل لوله (*In vitro*) و سپس تزریق به داخل کیستهای کبده برای تعیین خاصیت اسکولکس کشی آنها در دو مرحله در دمای خشک (اتوو) و بن‌ماری لرزان (*Shaking bath*) (با دمای یکسان ۳۷°C) مورد آزمایش قرار گرفتند. تشخیص مرگ و میر پروتواسکولکسها بوسیله رنگ‌آمیزی حیاتی با اتوزین و همچنین مشاهده زنش سلولهای شعله‌ای داخل لارو و بیحرکت شدن لاروها انجام گرفت.

یافته‌ها: درصد مرگ و میر (*Mortality*) پروتواسکولکسها در داخل بن‌ماری لرزان در همه موارد به دلیل مواجهه بیشتر پروتواسکولکس‌ها با عصاره‌ها بالاتر از درصد مرگ و میر آنها در اتوو بوده است. عصاره آبی دانه در مقایسه با عصاره الکلی آن، تأثیری ضعیف و ناچیز بر روی پروتواسکولکسها داشته حتی در بن‌ماری و با بالاترین غلظت (۴۰۰۰ mg) پس از ۳۰ دقیقه سبب مرگ و میر فقط تا ۳ درصد گردیده در حالیکه عصاره الکلی با غلظت و در زمان مشابه سبب مرگ و میر تا ۱۰۰ درصد شده است. پس از دستیابی به خاصیت اسکولکس کشی قابل توجه عصاره الکلی، بررسی آلكالوئیدهای تام دانه اسپند ضروری به نظر می‌رسید. برای سنجش سمیت (*Toxicity*) سوسپانسیون آلكالوئیدی، از غلظتی که در آزمایشات داخل لوله (*In vitro*) منجر به مرگ و میر ۱۰۰ درصد پروتواسکولکسها شد بطریق داخل صفاقی (IP) به موشهای سفید کوچک آزمایشگاهی تلقیح گردید و مقدار قابل تحمل آن بر حسب میلی‌گرم برای هر کیلو وزن بدن محاسبه گردید (۸۴ mg/kg). نتایج آنالیز آماری نشان می‌دهد که توان اسکولکس کشی آلكالوئید دانه اسپند صدها برابر عصاره الکلی بود (LC₅₀=3.66, Lc90=6.84, P=0.02) در حالیکه مقیاس‌های آماری برای آلكالوئید) در حالیکه مقیاس‌های آماری برای عصاره الکلی (LC₅₀=2884.41, Lc90=3814.24, P=0.146) می‌باشد.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: نتایج آزمایشات با آلكالوئیدهای استخراج شده از عصاره الکلی حاکی از اینست که میزان غلظت و زمان لازم برای کشتن پروتواسکولکسها به نحو چشمگیری تنزل نموده و نقش مهم آلكالوئیدهای MAOI's را مسجل می‌نمایند.

مقدمه

دانه اسپند *peganum harmala L.* که نام انگلیسی آن *Harmel* و *Syrian rue* می‌باشد، از زمانهای دور به عنوان ضد انگل و ضد عفونی‌کننده کاربرد داشته است (۳) ولی با وجود مصارف سنتی این دانه در طب قدیم، تحقیقات علمی و مقدماتی محدودی در مورد خاصیت انگل کشی آن انجام گرفته و اغلب منابع جدید در دهه اخیر حاکی از مصرف این ماده بعنوان داروی ضد افسردگی است (۴).

در این دانه‌ها به دلیل وجود مجموعه‌ای از مواد آلکالوئیدی MAOI's و Beta-carbolines خواص متعددی از جمله ضد میکروب، ضدقارچ و ضد انگل‌های روده‌ای نهفته است (۳) و عصاره الکلی و آلکالوئیدهای نام آن نیز این خواص را با قدرت بیشتری دارا هستند.

یافتن ماده مؤثری با منشاء گیاهی که به عنوان اسکولکس کش مورد استفاده قرار گیرد و اثرات سمی و جانبی آن قابل تحمل برای میزبان باشد و بتوان از آن در جراحی‌های کیست هیداتید استفاده نمود همیشه در مد نظر پژوهشگران انگل شناس بوده زیرا می‌توان نام یک عصاره گیاهی را در فهرست اسکولکس کش‌ها که تاکنون اکثراً شیمیائی بوده اند جا داد. لذا در این گزارش نتایج آزمایشات مربوط به تأثیر عصاره های آبی، الکلی و آلکالوئیدهای نام دانه اسپند بطور جداگانه روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید با غلظت‌ها و زمانهای متفاوت و با روش داخل لوله (*In vitro*) و سپس تزریق به داخل کیست کبدی دست نخورده (*Intact*) و همراه با کنترل‌های شیمیائی (شاهد) مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روشها

این بررسی تحلیلی است (*Analytic study*) و وجود شاهد در آن ضروری می‌باشد. روش مطالعه *Interventional* بوده و گروه مورد قبل و بعد از تأثیر دارو (*Intervention*) مورد آزمایش قرار گرفته و با گروه‌های شاهد که همزمان مورد آزمایش قرار می‌گرفتند مقایسه شدند.

معیار (*Criteria*) در این بررسی، سنجش میزان مرگ و میر (*Mortality*) پروتواسکولکسها قبل و پس از مجاور نمودن آنها با

عصاره‌ها و آلکالوئیدهای نام بوده که پس از رنگ آمیزی حیاتی تعیین می‌گردید.

مرحله اول:

الف- تهیه عصاره نام الکلی:

- ۱- دانه های پودر شده اسپند به کمک حلال آبی الکلی (مستانول ۸۰ درجه) و با استفاده از دستگاه سوکسله به مدت ۱۲ ساعت عصاره‌گیری گردید.
- ۲- تقطیر عصاره نام: عصاره حاصل در مرحله ۱ با استفاده از دستگاه گردان (روتاری) تقطیر و در فشار کم از حلال جداسازی گردید.
- ۳- خشک کردن عصاره: عصاره تقطیر شده با استفاده از اتوو در حرارت 40°C به مدت ۴۸ ساعت جهت خارج کردن باقیمانده حلال آبی الکلی نگهداری گردید. از این عصاره نام جهت انجام آزمایشات استفاده شد.

ب- تهیه عصاره آبی:

- ۵۰۰ گرم دانه اسپند بصورت پودر تهیه و در ۱/۵ لیتر آب (به نسبت ۱/۳) خیس‌انده شد و سپس با حرارت ملایم به مدت طولانی (۱۲ ساعت) دم شد و در ظرفهای مسطح بزرگ برای غلیظ شدن تقسیم گردید.

ج- نحوه جداسازی آلکالوئیدهای نام عصاره:

- به منظور پیگیری اثرات آلکالوئیدهای نام گیاه که از ترکیبات فعال موجود در دانه‌ها می‌باشند عملیات زیر صورت گرفته است:
- ۱- عصاره خشک شده ابتدا با آب اسید و سپس با محلول آمونیاک غلیظ مجاور گردید.
 - ۲- عصاره قلیائی با استفاده از دکانتور به کمک حلال کلروفرم مورد استخراج قرار گرفت.
 - ۳- محلولهای کلروفرمی که حاوی آلکالوئیدهای نام نوع اول تا سوم دانه‌ها بودند توسط دستگاه گردان (روتاری) تقطیر گردیدند.
 - ۴- عصاره تقطیر شده با قرار دادن در محیط آزمایشگاه غلیظ گردید.
 - ۵- عصاره آلکالوئیدی نام خشک شده و پودری شکل با سائیدن در داخل هاون چینی به صورت پودر نرم تهیه و

مواردی حتی ۱۵-۱۴ ساعت بعد نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

۶- برای بررسی تأثیر عصاره‌ها با غلظت‌های متفاوت بر روی پروتواسکولکسها، لوله‌ها را از اتوو خارج و مایع روی آنها را به آرامی با پی پست پاسنور کشیده و به پروتواسکولکسهای رسوب نموده در ته لوله مقداری سرم فیزیولوژی اضافه شد. این شستشو سه بار تکرار می‌شد.

۷- از پروتواسکولکسهای شسته شده یک قطره روی لام قرار داده و به آن یک قطره محلول اتوزین ۱ درصد اضافه نموده و پس از یک دقیقه در زیر میکروسکوپ مشاهده می‌گردید.

۸- درصد پروتواسکولکسهای مرده و رنگ گرفته که معمولاً تگومنت آنها نیز تغییر شکل داده و تعدادی یا همه قلابهای آنها ریخته و سلولهای شعله‌ای آنها فاقد حرکت بود تعیین شده و برای یافتن میانگین، این عمل سه بار تکرار گردید.

۹- کلیه این مراحل با غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی، الکلی و آلکالوئیدهای تام دانه اسپند در داخل اتوو (دمای خشک) و بن‌ماری لرزان (Shaking bath) (با دمای یکسان ۳۷°C) در زمانهای متفاوت انجام گرفته است.

۱۰- برای ارزیابی اثرات سمی سوسپانسیون آلکالوئیدی دانه اسپند ۶۰ موش سفید کوچک آزمایشگاهی با میانگین وزن ۲۹/۸ گرم مورد آزمایش قرار گرفتند. گروه شاهد مرکب از ۲۰ موش با وزن و سن مشابه گروه (مورد) بوده است.

در این مرحله با تکرار کلیه آزمایشات مرحله اول در بن‌ماری لرزان، عصاره الکلی با غلظت ۴۰۰۰ mg پس از ۳۰ دقیقه سبب مرگ و میر پروتواسکولکسها تا ۱۰۰ درصد شد، درحالی‌که عصاره آبی با غلظت و زمان مشابه بیش از ۳ درصد مرگ و میر ایجاد نکرده است که با نتایج مرحله اول همخوانی دارد.

علاوه بر این تأثیر کترلهای شیمیایی ضعیف‌تر بیش از مرحله قبل مشهود بوده و سدیم کلراید ۲۰ درصد و فرمل ۱۰ درصد نیز پس از ۳۰ دقیقه سبب مرگ و میر پروتواسکولکسها تا ۹۰ درصد شدند در تزریق داخل کیستی عصاره الکلی با غلظت ۴۰۰۰ mg به کیستهای با ابعاد مشابه مرحله اول، میزان مرگ و میر پس از ۳ ساعت به ۱۰۰ درصد - ۹۵ درصد رسیده است.

وزنهای متفاوتی (۱۰-۱) از آن در داخل ۲ ml سرم فیزیولوژی بصورت سوسپانسیون آماده و پس از یکنواخت نمودن بوسیله همزن برقی (Stirrer) مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج عصاره‌های آبی و الکلی و آلکالوئیدهای تام از دانه اسپند در دانشکده داروسازی انجام گرفت.

مرحله دوم:

آزمایشات مربوط به تأثیر عصاره بر روی پروتواسکولکسها:

۱- پروتواسکولکسهای موجود در کیستهای کبیدی گوسفند، که از کشتارگاه‌های شهری و اسلامشهر جمع‌آوری گردیدند و حداکثر ۳-۴ ساعت از ذبح آنها گذشته بود، بوسیله سرنگ ۱۰ ml از کیست خارج شده و ۳ بار با سرم فیزیولوژی ۹ در هزار شستشو داده شد.

۲- توانایی زنده ماندن (Viability) پروتواسکولکسها بوسیله حرکت سلولهای شعله‌ای و رنگ‌پذیری آنها با اتوزین ۱ درصد تعیین شده که این میزان (تعداد پروتواسکولکسهای زنده) هیچگاه کمتر از ۹۰ درصد نبود.

۳- حجم سرم فیزیولوژی حاوی پروتواسکولکس به حدی رسانده شد که پس از هم زدن سریع، هر قطره از آن حاوی حدود ۵۰۰ پروتواسکولکس بود.

۴- به این مایع، جنتامایسین (که به میزان ۱ ml جنتامایسین در ۸ ml آب مقطر رقیق گردیده و ۱۲ قطره از آن برای هر ۲۰ ml از مایع در نظر گرفته شد)، اضافه گردید تا مانع رشد میکروبها در آن گردد.

۵- از رقت‌های مختلف (۴۰۰۰-۵۰) عصاره‌های آبی و آبی الکلی و همچنین شاهدها (الکل اتیلیک ۷۰ درصد، ۵ درصد و ۲ درصد، ستریماید ۱ درصد - ۰/۵ درصد، فرمل ۱۰ درصد، سدیم کلراید ۲۰ درصد، سرم فیزیولوژی ۹ در هزار) به مقدار ۲ ml در داخل لوله‌های در پیچ دار استریل ریخته و یک قطره از مایع حاوی پروتواسکولکس که دارای ۵۰۰ پروتواسکولکس بود به آن اضافه شد و پس از بستن در لوله‌ها در داخل اتوو ۳۷°C قرار گرفت (برای جلوگیری از آلودگیهای ثانوی این عمل نزدیک شعله صورت گرفت) سپس در زمانهای متفاوت از ۳۰ دقیقه تا ۵ ساعت و در

گروه	روش تلقیح	مقدار آلكالوئید دریافتی (mg/kg)	تلفات پس از تلقیح	زمان زنده ماندن موشها
۱	داخل صفاقی	۸۴	٪۰	۳-۴ ماه بعد
۲	داخل صفاقی	۱۱۲	٪۱۱	-
۳	داخل صفاقی	۱۶۱	٪۳۲	-
۴	داخل صفاقی	۲۲۶	٪۱۰۰	-
شاهد	داخل صفاقی	سرم فیزیولوژی ۹درهزار	٪۰	۳-۴ ماه بعد

جدول شماره ۱- جدول توصیفی عملیات انجام شده بر روی گروههای مختلف آزمایش و نتایج حاصله از آن

یافته‌ها

پس از ۳ ساعت است

مرحله دوم - نتایج بررسی عصاره های آبی و الکلی دانه

اسپند در دمای مرطوب ۳۷ oc (بن ماری لرزان Shaking bath):

در آنالیز آماری این مرحله

Lc50=2884.4
Lc90=3814.24

پس از ۳۰ دقیقه است.

مرحله سوم: نتایج بررسی تاثیر آلكالوئیدهای تام دانه اسپند

در اتوو و بن ماری لرزان (Shaking bath) در ۳۷oc:

درصد مرگ و میر پروتواسکولکسها با استفاده از عصاره آلكالوئیدهای تام دانه اسپند با غلظت ۸-۷ mg پس از ۳۰ دقیقه در بن ماری لرزان ۱۰۰ درصد و در اتوو حدود ۹۵ درصد بوده است (نمودار ۱).

نتیجه آنالیز آماری این مرحله در جدول زیر منعکس است و در (نمودار ۲) نیز نشان داده شده است.

Lc50= 5.33	در اتوو
Lc90= 8.06	
P=0.146	
Lc50=3.66	در بن ماری
Lc90=6.84	
P=0.02	

جدول ۲ - نتیجه آنالیز آماری مرحله سوم

در جدول مقایسه ای ۳ نیز توان اسکولکس کشی چشمگیر

عصاره آلكالوئیدی دانه اسپند مشهود است که به ترتیب Lc50

مرحله اول- نتایج بررسی عصاره های آبی و الکلی دانه

اسپند در دمای خشک ۳۷oc (اتوو):

با مجاور نمودن پروتواسکولکسهای آماده و غلظتهای متفاوت

از عصاره آبی و الکلی (۴۰۰۰-۵۰۰ mg) در زمانهای مختلف (بین

۳۰ دقیقه تا ۵ ساعت)، عصاره آبی با غلظت ۴۰۰۰ mg پس از ۵

ساعت منجر به مرگ و میر معادل ۸۰ درصد گردید در حالیکه

عصاره الکلی با همین غلظت پس از ۳ ساعت تا ۹۸ درصد مرگ

و میر ایجاد نمود. از کترلهای شیمیایی نیز Cetrimide ۰/۵ درصد

و الکل اتیلیک ۷۰ درصد خاصیت اسکولکس کشی قویتر از

سایرین را داشته و پس از ۳۰ دقیقه تا ۱۰۰ درصد مرگ و میر

ایجاد نمودند. هدف از بکارگیری شاهد های مختلف مقایسه تاثیر

ترکیبات شیمیایی اسکولکس کش متداول و عصاره های آبی و

الکلی و آلكالوئید دانه اسپند بوده است. بدلیل ضعیف بودن

خاصیت اسکولکس کشی عصاره آبی، فقط از عصاره الکلی با

غلظت ۴۰۰۰ mg برای تزریق به داخل کیست های کبدی استفاده

شد و در کیستهایی که ابعاد آنها ۲-۳cm بود میزان مرگ و میر پس

از ۳ ساعت به ۷۵ درصد رسید. در این قسمت از آزمایش سرم

فیزیولوژی ۹ در هزار نیز به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

در آنالیز آماری با برنامه Probit

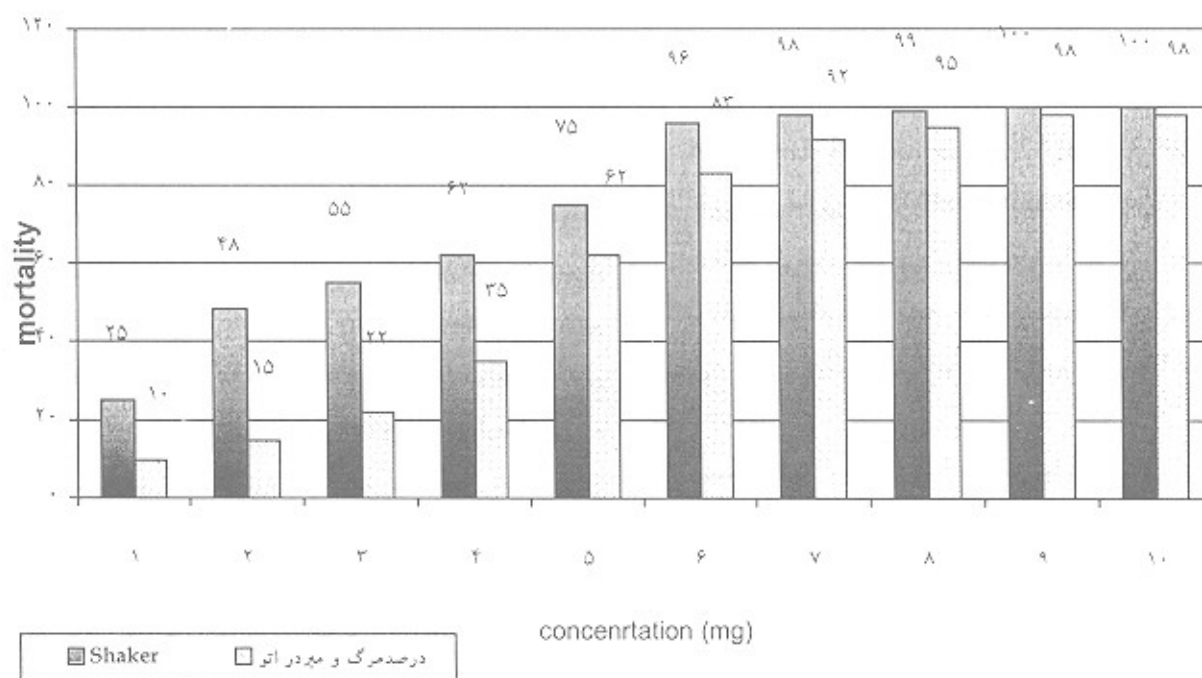
Lc50= 890.95
Lc90= 2563

برای سنجش Toxicity، به چهار گروه مختلف موش سفید آزمایشگاهی با میانگین وزن ۲۹/۸ گرم مقادیر متفاوتی از سوسپانسیون آکالوئیدی بطریق I.P. تلقیح گردید که گروهی که مقدار آکالوئید دریافتی آنها برابر ۸۴mg/kg بوده است، بدون تلفات زنده ماندند (نمودار ۴).

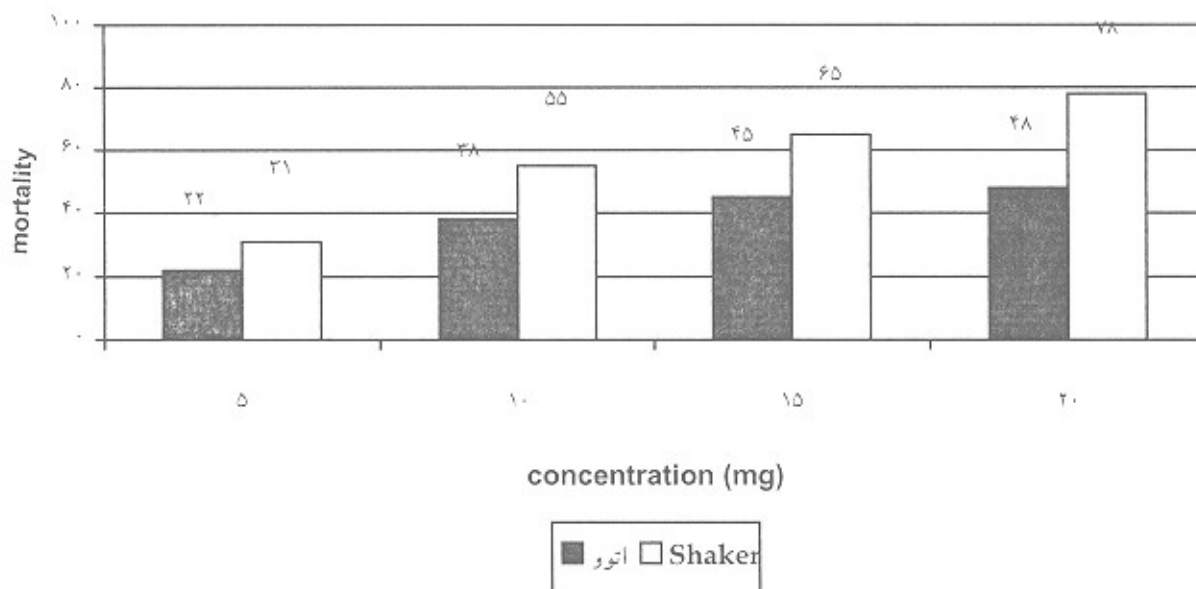
آکالوئیدهای دانه اسپند ۵۵۷ برابر و Lc90 آن ۷۸۸ برابر عصاره الکلی دانه اسپند است. در آزمایشات تزریق به کیست کبیدی با سوسپانسیون آکالوئیدی با غلظت ۲۰ mg پس از ۶۰ دقیقه درصد مرگ و میر پروتواسکولکسها برابر ۸۰ درصد است (نمودار ۳).

جدول ۳- جدول مقایسه Lc50 و Lc90 عصاره الکلی و آکالوئیدهای توتال اسپند در ۳۰ دقیقه

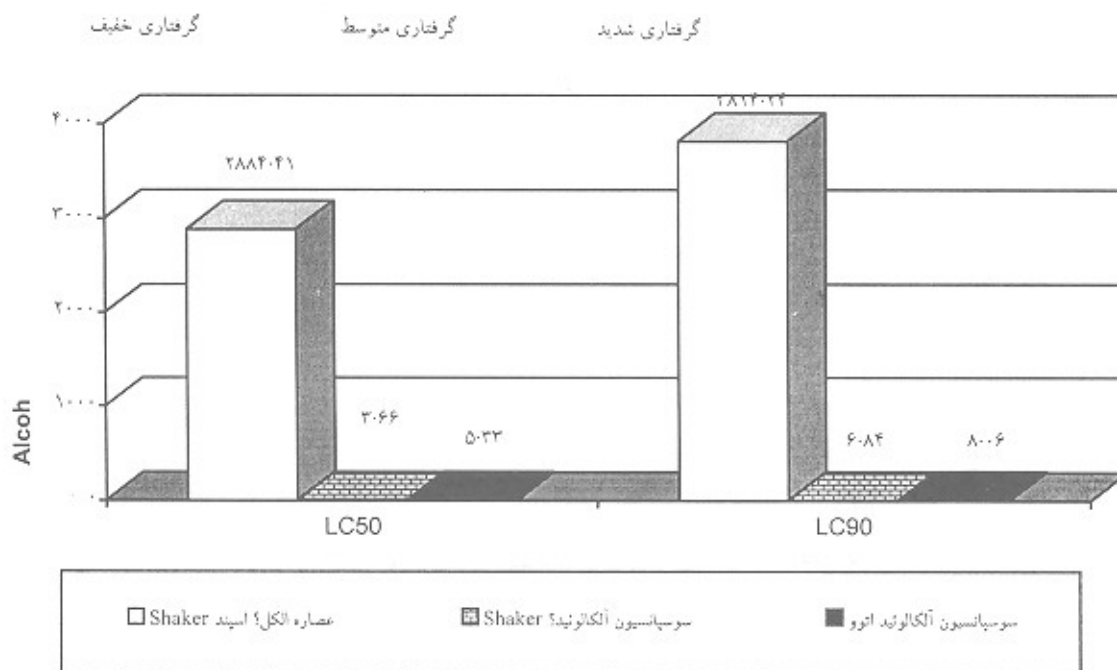
نسبت	Lc90	Lc50	نوع سوسپانسیون
$2884.41 = 788$ 3.66	3814.24	2884.41	عصاره الکلی دانه اسپند
$3814.24 = 557.6$ 6.84	6.84	3.66	آکالوئیدهای توتال دانه اسپند



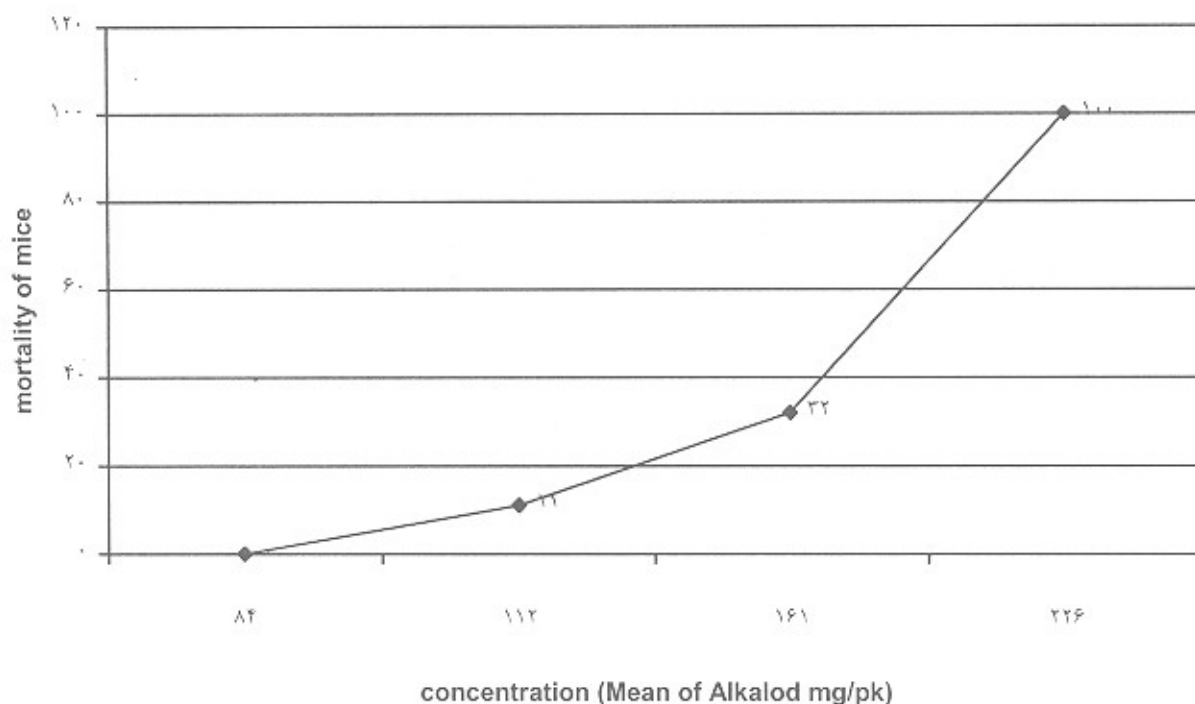
نمودار ۱: مقایسه مرگ و میر پروتواسکولکسها پس از تاثیر غلظتهای متفاوت سوسپانسیون آکالوئیدی اسپند در اتو و Shaker بعد از ۳۰ دقیقه (Invitro)



نمودار ۲: مقایسه نتایج آزمایشات تاثیر غلظتهای متفاوت سوسپانسیون آلکالوئیدی اسپند بر روی پروتواسکولکسهای داخل کیست در اتوو و Shaker بعد از ۶۰ دقیقه



نمودار ۳: مقایسه LC50 و LC90 در آزمایشات مربوط به عصاره الکلی و سوسپانسیون آلکالوئیدی *Peganum harmala L.* (اسپند) بعد از ۳۰ دقیقه در Shaker و اتوو (Invitro)



فردار ۴ - درصد مرگ و میر موش سفید آزمایشگاه با دزهای متفاوت از غلظت 10 mg سوسپانسیون آلکالوئیدی اسپند *Peganum harmala* L.

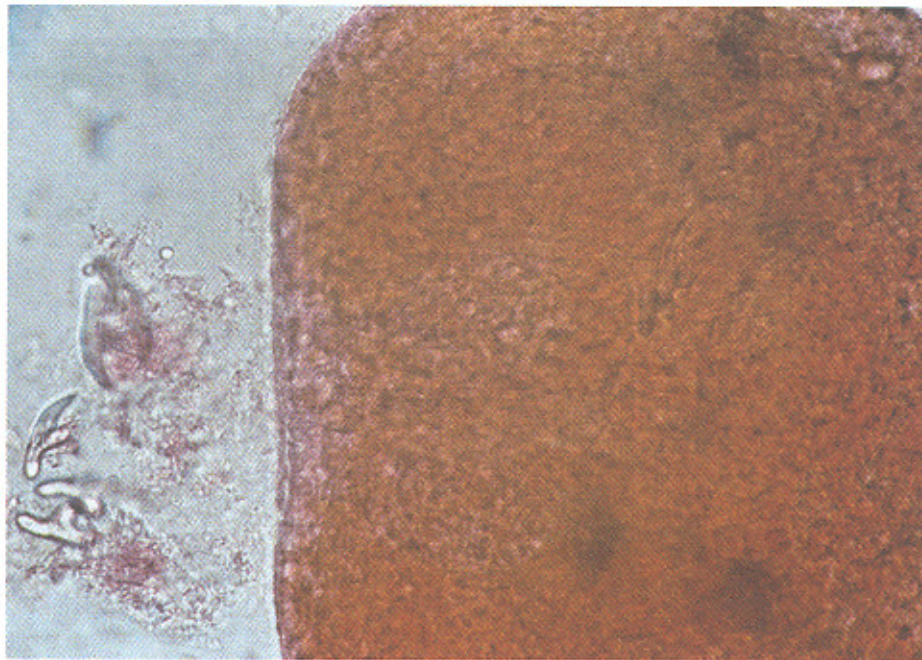
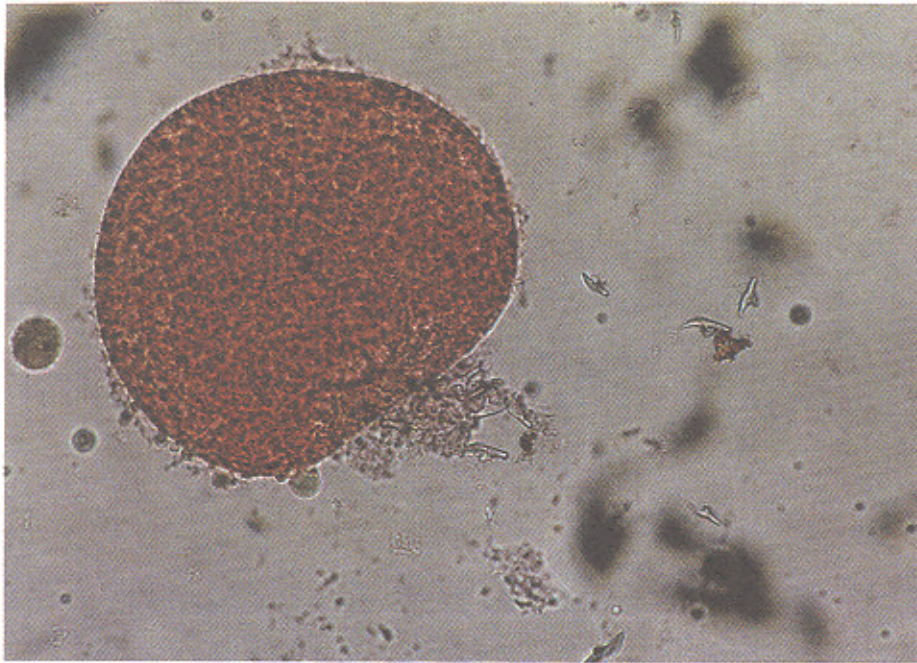
که نام لاتین آن *Peganum harmala* L. می باشد از زمانهای قدیم به عنوان انگل کش و گندزدا مورد استفاده قرار می گرفت. در ۱۹۸۰ از عصاره آلکالوئیدی اسپند برای درمان بعضی از انواع درماتوزها استفاده شد که نتایج اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و احتمالاً ضد تک یاخته‌ای آن گزارش شد (۳).

در ۱۹۹۴ محققین چینی با به کار بردن ۱۰ گیاه سنتی مختلف روی پروتواسکولکسهای موجود در کیست هیدانتید به طریق *In vitro* اعلام داشتند که *Peganum harmala* L. از میان دیگر گیاهان سنتی دارای قویترین اثر اسکولکس کشی بوده به نحوی که با رقت ۰/۲ درصد آن میزان مرگ و میر پروتواسکولکسها پس از ۴۸ ساعت به ۹۰ درصد می رسد و به احتمال قریب به بقین آلکالوئیدهای موجود در آن پس از نفوذ از دیواره کیست داخل مایع کیست شده و سبب تأثیر بر روی ساختمان تگومنت و غشاء پروتواسکولکسها می گردد که با میکروسکوپ الکترونیک قابل رؤیت است (۱).

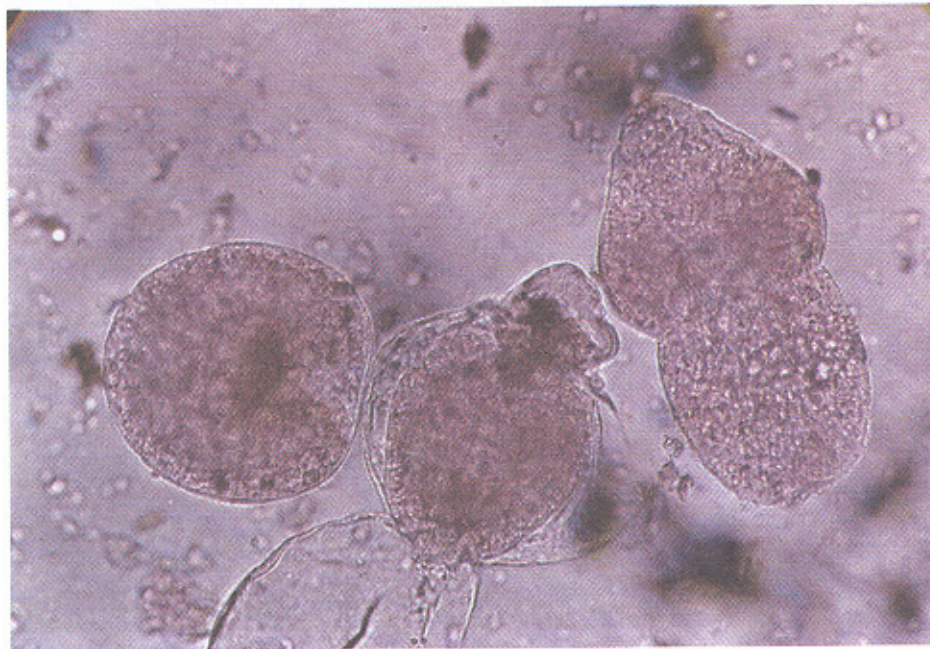
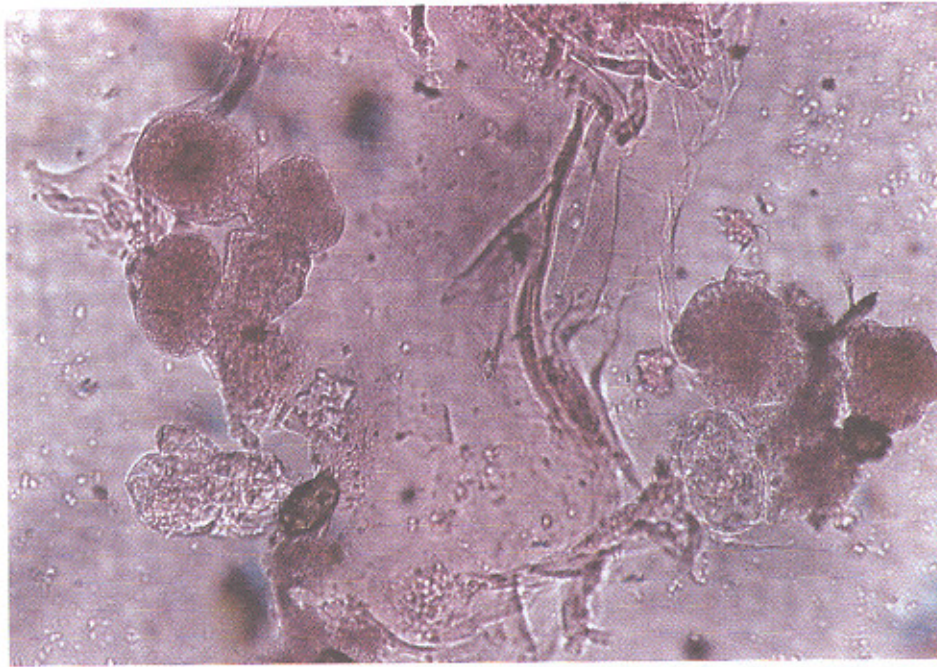
بحث

مشکل اساسی جراحان به هنگام برداشتن کیست هیدانتید آسیبیره کردن قسمتی از مایع داخل آن و جانشین سازی آن با مواد شیمیایی اسکولکس کش است. تجربیات طولانی در این زمینه حاکی از آنست که درپاره ای از موارد استعمال بیش از اندازه این مواد سبب مرگ بیمار شده و یا کم شدن در آن سبب برگشت بیماری خواهد شد.

در دهه گذشته داروهای گیاهی که سالیان دراز به صورت سنتی مورد مصرف بوده اند پس از گذراندن مراحل تحقیقاتی و کلینیکی به اشکال صنعتی به بازار عرضه شده‌اند. دانه اسپند نیز



شکل شماره ۱ و ۲- آغاز تأثیر مرگ زای عصاره الکلی و آکالونیدهای توتال اسپند بر روی پروتواسکولکسهای کیست هیداتید و تغییر رنگ طبیعی و ریزش فلاهای آنها پس از رنگ آمیزی حیاتی با اتوزین



شکل شماره ۳ و ۴- ادامه تأثیر مرگ زای عصاره الکلی و آلکالوئیدهای توتال اسپند بر روی پروتواسکولکسهای کیست هیدانتید و تغییر رنگ طبیعی و ریزش قلاهای آنها پس از رنگ آمیزی حیاتی با اتوزین

استفاده قرار گرفت. زیرا حلالهای شیمیایی مانند الکل اتیلیک با غلظت ۷۰ درصد و بیشتر و یا DMSO (دی‌متیل سولفوکساید) و کلروفرم غلیظ که حلالهای مناسبی برای عصاره آلکالوئیدی اسپند می‌باشند خود تأثیرات سمی بر روی پروتواسکولکسها داشته و هنگامی که به عنوان کنترل بکار می‌روند سبب مرگ و میر در حد بالا می‌شوند و از طرف دیگر آنچه در اولویت قرار دارد اثبات خاصیت اسکولکس کشی عصاره و یا آلکالوئید های تام اسپند به تنهایی و بدون دخالت حلالهای شیمیایی است تا این خاصیت به آن حلال‌ها منتسب نگردد.

استفاده از بن‌ماری لرزان Shaking bath به جهت مواجهه بیشتر سطوح پروتواسکولکسها با ذرات معلق و حل نشده سوسپانسیون است که در ۱۹۸۱ نیز توسط G. FRAYHA و همکاران مورد استفاده قرار گرفت (۵).

در هر دو مرحله اول و دوم این بررسی، آزمایشات مربوط به تأثیر سوسپانسیون عصاره الکلی و آبی بر روی پروتواسکولکسها بصورت *In vitro* (پروتواسکولکس‌های شستشوداده شده با سرم فیزیولوژی داخل لوله آزمایش) و سپس پروتواسکولکسهای دست نخورده داخل کیست‌های کبیدی انجام گرفت که مرحله اول در اتوو و مرحله دوم در بن‌ماری لرزان بوده است. عصاره آبی در این مراحل جز در زمانهای طولانی، تأثیر ضعیف و غیر قابل توجهی بر روی پروتواسکولکسها داشته است و بیشتر جهت مقایسه مورد استفاده قرار گرفت زیرا با جوشاندن و دم کردن پودر دانه اسپند استخراج آلکالوئیدها به نحو کامل انجام نمی‌پذیرد. اگرچه در منابع مختلفی که مطالبی در مورد تهیه این نوع عصاره و استفاده از آن وجود دارد استفاده از سرکه و یا اسیدی نمودن محیط با اسید اسکوربیک و حتی قرص ویتامین C یاد شده است (۴).

در عوض عصاره الکلی اسپند در اتوو و در بن‌ماری لرزان مرگ و میر در حد بالا بجا می‌گذارد. دو متغیر زمان و غلظت نقش عمده‌ای داشته به نحوی که با پائین آمدن یکی از این دو، دیگری به ناچار بالا می‌رود تا مرگ و میر در حد ۱۰۰ درصد ایجاد نماید. یافته‌های آزمایشات تزریق عصاره به داخل کیست های کبیدی دست نخورده (Intact) تأکیدی است بر نتایج آزمایشات *In vitro*. گرچه روند آن کندتر و درصد مرگ و میر کمتر می‌باشد. مشکل اصلی در این مورد عدم تخمین دقیق ابعاد کیستها به دلیل ارتباط انشعابات آنها در داخل بافت کبیدی است و طبعاً بدون عکس‌برداری ابعاد این کیستها بصورت دقیق در

در ۱۹۹۷ تأثیر آلکالوئیدهای تام P.harmala در درمان آلودگی تجربی haemosporidian در گاو گزارش شد (۲). در ۱۹۹۹ اثر قابل توجه متوقف کننده رشد پلاسمودیوم فالسیپاروم (بیش از ۹۶ درصد) بوسیله عصاره آبی اسپند توسط Goldrish A.Golan - و همکارانش اثبات گردید (۹). اثرات مثبت عصاره اسپند مربوط به مجموعه آلکالوئیدهای MAOI's (Mono Amino Oxidase Inhibitors) است که شامل آلکالوئیدهای Tetrahydro harmine, Harmaline, Harmin و Peganine ... می‌باشد که بطور جمعی و چند جانبه با چند مکانیسم مختلف اثر نموده و ضایعات شدیدی ایجاد می‌نماید.

این آنزیم‌ها در کار آنزیم های محافظ MAOI دخالت نموده و سبب می‌گردند که یک ماده معمولی که ممکن است بصورتی بی ضرر یا کم ضرر سریعاً متابولیزه گردد، در حضور آنها بصورت خطرناکی فعال گردد. (به عنوان مثال تیرامین Tyramine) هارمالمین به ویژه نوعی MAOI بسیار قوی می‌باشد که در جانوران با مقادیر بالا نوروتوکسیک می‌باشد و سبب دژنره شدن سلولهای Purkinje در مغز می‌گردد (۷، ۴).

در مورد مصارف انسانی هنوز در بین مردم بومی بسیاری از مناطق در کشورهای مختلف نوعی از فراورده‌های دانه اسپند با این باور که برای بهبود بیماری‌های جسمی مزمن مانند هیپاتیت، لوکمیا، فلج، رماتیسم و بیماریهای روحی و دماغی مانند افسردگی، صرع مؤثر واقع می‌شود بکار می‌رود (۴). در منطقه آمازون نیز ترکیبی از جوشانده دانه اسپند به عنوان تصفیه‌کننده معده روده‌ای از انگلها و باکتریها مورد استفاده قرار می‌گیرد. نوعی مصرف مدرن این دانه به عنوان تشدید کننده اثر داروهای ضد افسردگی و اعصاب (Antidepressant) و Hallucinogenic و Anticholinergic می‌باشد ولی به جهت اینکه به گروه Reversible MAOI'S تعلق دارند اثرشان برای مدت کوتاه باقی می‌ماند (۷).

در این پژوهش نیز پس از آزمایشات مقدماتی و ارزیابی اثرات مثبت اسکولکس کشی دانه اسپند عصاره الکلی و آبی و در نهایت آلکالوئیدهای تام آن جهت بررسی انتخاب شدند.

در کلیه مراحل این بررسی بدلیل کاملاً محلول نبودن عصاره‌ها و پودر آلکالوئید در سرم فیزیولوژی سوسپانسیون آنها مورد

عهده دارد. از طرف دیگر اساساً موادی که فعالیت آنزیمها و یا پروسه خاصی را که برای انگل حیاتی به شمار می‌رود متوقف نمایند می‌توانند سبب مرگ آن گردند. مکانیسم این عمل دقیقاً مشخص نیست و احتمالاً می‌تواند، فعال یا غیر فعال نمودن ترکیبات اساسی داخل سلولها، دخالت در عمل تنفس که منجر به تنفس سلولی ناقص می‌گردد (مانند بعضی از آنتی‌هلمنتها که با دخالت در Oxidative Phosphorilation سبب مرگ انگل می‌گردند) و بالاخره متوقف نمودن یک پروسه متابولیکی لازم و حیاتی برای انگل باشد (۶).

نتایج بدست آمده از این تحقیق اعتقاد ما را به ادامه پژوهش درباره یافتن مؤثرترین نوع آلکالوئید موجود در مجموعه آلکالوئیدهای تام دانه اسپند و خالص‌سازی آن و رفع پاره‌ای از نقایص و گذراندن مراحل تکمیلی آن برای استفاده در پیشگیری و درمان کیست هیداتید تقویت می‌نماید.

سپاسگزاری

با تشکر از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران و معاونت پژوهشی دانشکده بهداشت جهت تأمین بودجه طرح، جناب آقای دکتر غلامرضا امین استاد دانشکده داروسازی جهت تهیه آلکالوئید و عصاره‌های دانه اسپند، جناب آقای دکتر لدنی استاد دانشکده بهداشت جهت آنالیز آماری نتایج، جناب آقای دکتر محبعلی استاد دانشکده بهداشت جهت راهنمایی‌های مفیدشان و سرکار خانم شهره فرنیبا و بخش تغذیه دانشکده بهداشت جهت همکاری در اجرای تحقیق.

دسترس نخواهد بود و بدلیل این ابهام تعیین مقادیر معینی از عصاره که با تلفیح بداخل کیست بتواند بر روی میلیونها پروتواسکولکس در سطح لایه زاینده اثر بگذارد بطور دقیق امکان‌پذیر نبوده و با امکانات موجود در دسترس در این تحقیق مشکل می‌نماید ولی در کیدهائی که دارای کیست‌های کوچک و جدا از هم بودند درصد مرگ و میر پروتواسکولکسهای داخل کیست حتی به ۱۰۰ درصد نیز رسیده است.

پس از قطعیت یافتن خاصیت اسکولکس کشی عصاره الکلی، استفاده از آلکالوئیدهای تام عصاره که در واقع مجموعه مواد مؤثر آن به شمار می‌روند مورد توجه قرار گرفت. نتایج آزمایشات *In vitro* و سپس انجام تست‌ها در داخل کیست‌های کبیدی با سوسپانسیون آلکالوئیدی اسپند حاکی از آن است که این مجموعه آلکالوئیدی تاچه حد قویتر از عصاره الکلی بوده و خاصیت اسکولکس کشی آن در کوتاهترین زمان به کار رفته در تحقیق به چند صد برابر عصاره الکلی می‌رسد و مقایسه *Lc50* و *Lc90* در دو مرحله آزمایش با عصاره الکلی و آلکالوئیدهای تام و نسبت این دو خود دلیل قطعی برای اثبات این موضوع است (جدول ۱).

آلکالوئیدهای اسپند قادرند که با عبور از غشاء پروتواسکولکسها و تخریب آنها و همچنین ریزش قلابها سبب مرگ آنها گردند زیرا که در این انگل تگومنت از اهمیت فیزیولوژیکی خاصی برخوردار است و وظایف چندگانه‌ای به

منابع

1. Kang Jingfeng et al. Invitro cidal effect of 10 chinese Traditional herbs against E.granulosis protoscolices, (In chinese). Endemic Disease Bulletin (1994)9(3) 22-24 ch,en, 9 xinjiang Medical college urumqui 830054, china. Hel.Abs. 1997, Vo.60, No.I: 22-24.
 2. Fan B. Lian j, et al. Effect of total alkaloid of peganum harmala L. in the Treatment of experimental haemosporidian infection in cattle. Trop. Anim. Health Prod.(1997) 29 (4suppl)77s-83s.:773-835.
 3. EL. Saad El- Rifaie M. Peganum harmala: it is use in certain dermatoses . Int J dermatol. (1980) 19(4): 221-2.
 4. Peter stafford . Psychedelics Encyclopedia. (1992) chapter 7 of Third edition, copyright © 2000 the, D,F,Book company: 234-237.
 5. G.J.Faryha, et al. Treatment of Hydatid cysts (Echinococcus granulosus) by cetrimide ®. Trans. Roy.Soc.Trop.Med. and Hyg. (1981) V.75 , No.3:447-450.
 6. G.J.Faryha , et al. Systematic search for a systemic Hydatid scolicide. Chemotherapy .(1971) V.16 , No. 6 (pp.371-379).
 7. Da, prada M, Zurcher G, Wuthrich I et al. On Tyramine, food-beverages and the reversible MAOI moclobemide. J Neural-Transm. (1988) 26 (suppl) :31-56.
 8. O'Hearn, E. and Molliver, M.E.. Degeneration of purkings cells in parasagittal zones of the cerebellar vermis after treatment with ibogaine or harmaline. Neuroscience. (1993) 55: 303-10.
 9. A-Golan- Goldrish, H. Lugasi-Evgi, et al. Screening for Cytotoxic and Antimalarial Activities in Desert Plants of the Negev and Bedouin Market Plant Products. Pharmaceutical Biology. (1999) Vol.37, No .3, pp. 188-95.
- ۱۰- زرگر علی ، گیاهان دارویی، جلد پنجم محل انتشار دانشگاه تهران آذر ۱۳۶۷: ۴۴۸-۴۵۰.
- ۱۱- امین غلامرضا، گیاهان دارویی سنتی، جلد اول محل انتشار دانشگاه تهران خرداد ۱۳۷۰: ۸۵.