Archive of SID

مجله دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
سال ۶۰، شماره ۳، صفحات ۲۱۵ تا ۲۲۶، (تابستان ۱۳۸۱)

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

مینا مهدوی (مربی)*، دکتر جعفر مسعود (استاد)*
* گروه انگل شناسی دانشکده بهداشت و انستیتونحقیقات 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 آلکالوئیدی MAOI's و Beta-carbolines خواص متعددی از جمله ضد میکروب، ضدقارچ و ضد انگل‌های روده‌ای تهفته میباشد. در این گزارش نتایج آزمایشات مربوط به تأثیردانه اسپند پروتواسکولکس‌های کیست) مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روشها: سوسپانسیون‌های عصاره‌های آبی، الکلی و آلکالوئیدهای تام دانه اسپند peganum harmala L. برروی پروتواسکولکسهای کیست هیداتید به طریق داخل لوله (In vitro) و سپس تزریق به داخل کیستهای کبدی 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 اثوزین و همچنین مشاهده زنش سلولهای شعله ای داخل لارو و بیحرکت شدن لاروها انجام گرفت.

یافته ها: درصد مرگ ومیر (Mortality) پروتواسکولکسها در داخل بن ماری 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، تاثیری ضعیف و ناچیز برروی پروتواسکولکسها داشته حتی در بن ماری 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 ومیر تا ۱۰۰ درصد شده است. پس از دستیابی به خاصیت اسکولکس کشی قابل توجه عصاره الکلی ، بررسی آلکالوئید های تام دانه اسپند ضروری به نظر می‌رسید. برای سنجش سمیت (Toxicity) سوسپانسیون الکالوئیدی، از غلظتی که در آزمایشات داخل لوله (In virto) 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 میلی گرم برای هر کیلو وزن بدن محاسبه گردید (۸٤ mg/kg). نتایج آنالیز آماری نشان می‌دهد که توان اسکولکس‌کشی آلکالوئید دانه اسپند صدها برابر عصاره الکلی بود (LC_{50}=3.66, Lc90=6.84, P=0.02 مقیاس‌های آماری برای آلکالوئید) در حالیکه مقیاس های آماری برای عصاره الکلی (LC_{50}= 2884.41, Lc90=3814.24, P=0.146) می‌باشد.

نتیجه گیری و توصیه ها: نتایج آزمایشات با آلکالوئیدهای 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 آلکالوئیدهای MAOI's را مسجل می‌نمایند.

www.SID.ir

Archive of SID

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 مدّماتی 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 (٤).

در این دانه‌ها به دلیل وجود مجموعه‌ای از مواد آلکالوئیدی Beta-carbolines و MAOI's خواص متعددی از جمله ضد میکروب، ضدقارچ و ضد انگل‌های روده‌ای نهفته است (۳) و عصاره الکلی و آلکالوئیدهای تام 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 جراحی های کیست هیداتید استفاده نمود همیشه در مد نظر پژوهشگران انگل شناس بوده زیرا می توان نام یک عصاره گیاهی را در فهرست اسکولکس‌کش‌ها که تاکنون اکثراً شیمیائی بوده اند جا داد. لذا در این گزارش نتایج آزمایشات مربوط به تأثیر عصاره های آبی، الکلی و آلکالوئیدهای تام 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 تاثیر 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 ومیر (Mortality) پروتواسکولکسها قبل و پس از مجاور نمودن آنها با عصاره‌ها و آلکالوئیدهای تام بوده که پس از رنگ آمیزی حیاتی تعیین می‌گردید.

مرحله اول:

الف- تهیه عصاره تام الکلی:

۱- دانه های پودر شده اسپند به کمک حلال آبی الکلی (متانول ۸۰ درجه) و با استفاده از دستگاه سوکسله به مدت ۱۲ ساعت عصاره‌گیری گردید.

۲- تقطیر عصاره تام: 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 ٤٠^{oc} به مدت ٤٨ ساعت جهت خارج کردن باقیمانده حلال آبی الکلی نگهداری گردید. از این عصاره تام جهت انجام آزمایشات استفاده شد.

ب- تهیه عصاره آبی:

۵۰۰ گرم دانه اسپند بصورت پودر تهیه و در ۱/۵ لیتر آب (به نسبت ۱و۳) 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 تام عصاره:

به منظور پیگیری اثرات آلکالوئیدهای تام گیاه که از ترکیبات فعال موجود در دانه‌ها می باشند 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 تام نوع اول تا سوم دانه‌ها بودند توسط دستگاه گردان (روتاری) تقطیر گردیدند.

٤- عصاره تقطیر شده با قرار دادن در محیط آزمایشگاه تغلیظ گردید.

۵- عصاره آلکالوئیدی تام خشک شده و پودری شکل با سائیدن در داخل هاون چینی به صورت پودر نرم تهیه و

www.SID.ir

Archive of SID

وزنهای متفاوتی (mg ١٠-١) از آن در داخل ml ٢ 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 برروی پروتواسکولکسها:

١- پروتواسکولکسهای موجود در کیستهای کبدی گوسفند، که از کشتارگاه‌های شهری و اسلامشهر جمع آوری گردیدند و حداکثر ٤-٣ ساعت از ذبح آنها گذشته بود ، بوسیله سرنگml ١٠ از کیست خارج شده و ٣ بار با سرم فیزیولوژی ٩ در هزار شستشو داده شد.

٢- توانائی زنده ماندن (Viability) پروتواسکولکسها بوسیله حرکت سلولهای شعله‌ای و رنگ‌پذیری آنها با ائوزین ١ درصد تعیین شده که این میزان (تعداد پروتواسکولکسهای زنده) هیچگاه کمتر از ٩٠ درصد نبود.

٣- حجم سرم فیزیولوژی حاوی پروتواسکولکس به حدی رسانده شد که پس از هم زدن سریع ، هر قطره از آن حاوی حدود ٥٠٠ پروتواسکولکس بود.

٤- به این مایع ، جنتامایسین (که به میزان ml ١ جنتامایسین در ml ٨ آب مقطر رقیق گردیده و ١٢ قطره از آن برای هر ml ٢٠ از مایع در نظر گرفته شد)، اضافه گردید تا مانع رشد میکروبها در آن گردد.

٥- از رقتهای مختلف (mg ٤٠٠٠- ٥٠) عصاره‌های آبی و آبی الکلی و همچنین شاهدها (الکل اتیلیک ٧٠ درصد ، ٥ درصد و٢ درصد ، ستریماید ١ درصد -٠/٥ درصد ، فرمل ١٠ درصد ، سدیم کلراید ٢٠ درصد ، سرم فیزیولوژی ٩ در هزار) به مقدار ml ٢ در داخل لوله‌های در پیچ دار استریل ریخته و یک قطره از مایع حاوی پروتواسکولکس که دارای ٥٠٠ پروتواسکولکس بود به آن اضافه شد و پس از بستن در لوله‌ها در داخل اتوو 37^{oc} قرار گرفت (برای جلوگیری از آلودگیهای ثانوی این عمل نزدیک شعله صورت گرفت) سپس در زمانهای متفاوت از ٣٠ دقیقه تا ٥ ساعت و در مواردی حتی ١٥-١٤ ساعت بعد نمونه ها مورد بررسی قرار گرفتند.

٦- برای بررسی تأثیر عصاره ها با غلظتهای متفاوت برروی پروتواسکولکسها، لوله‌ها را از اتوو خارج و مایع روی آنها را به آرامی با پی پت پاستور کشیده و به پروتواسکولکسهای رسوب نموده در ته لوله مقداری سرم فیزیولوژی اضافه شد. این شستشو سه بار تکرار می‌شد.

٧- از پروتواسکولکسهای شسته شده یک قطره روی لام قرار داده و به آن یک قطره محلول ائوزین ١ درصد اضافه نموده و پس از یک دقیقه در زیر میکروسکوپ مشاهده می‌گردید.

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

٩- کلیه این مراحل با غلظتهای مختلف عصاره‌های آبی، الکلی و آلکالوئیدهای تام دانه اسپند در داخل اتوو (دمای خشک) و بن‌ماری لرزانShaking bath (با دمای یکسان ٣٧oc) در زمانهای متفاوت انجام گرفته است.

١٠- برای ارزیابی اثرات سمی سوسپانسیون آلکالوئیدی دانه اسپند ٦٠ موش سفید کوچک آزمایشگاهی با میانگین وزن ٢٩/٨ گرم مورد آزمایش قرار گرفتند. گروه شاهد مرکب از ٢٠ موش با وزن و سن مشابه گروه (مورد) بوده است.

در این مرحله با تکرار کلیه آزمایشات مرحله اول در بن ماری لرزان، عصاره الکلی با غلظت mg ٤٠٠٠ پس از ٣٠ دقیقه سبب مرگ و میر پروتواسکولکسها تا ١٠٠ درصد شد ، درحالیکه عصاره آبی با غلظت و زمان مشابه بیش از ٣ درصد مرگ ومیر ایجاد نکرده است که با نتایج مرحله اول همخوانی دارد.

علاوه بر این تاثیر کنترلهای شیمیائی ضعیف تر بیش از مرحله قبل مشهود بوده و سدیم کلراید ٢٠ درصد و فرمل ١٠ درصد نیز پس از ٣٠ دقیقه سبب مرگ و میر پروتواسکولکسها تا ٩٠ درصد شدند در تزریق داخل کیستی عصاره الکلی با غلظت mg ٤٠٠٠ به کیستهای با ابعاد مشابه مرحله اول ، میزان مرگ و میر پس از ٣ ساعت به ١٠٠ درصد - ٩٥ درصد رسیده است.

www.SID.ir

Archive of SID

گروه	روش تلقیح	مقدار آلکالوئید 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 برروی گروههای مختلف آزمایش و نتایج حاصله از آن

یافته‌ها

مرحله اول- نتایج بررسی عصاره‌های آبی و الکلی دانه اسپند در دمای خشک ۳۷oc (اتوو):

با مجاور نمودن پروتواسکولکسهای آماده و غلظتهای متفاوت از عصاره آبی و الکلی (۴۰۰۰ mg-۵۰) در زمانهای مختلف (بین ۳۰ دقیقه تا ۵ ساعت)، عصاره آبی با غلظت ۴۰۰۰ mg پس از ۵ ساعت منجر به مرگ ومیر معادل ۸۰ درصد گردید در حالیکه عصاره الکلی با همین غلظت پس از ۳ ساعت تا ۹۸ درصد مرگ و میر ایجاد نمود. از کنترلهای شیمیائی نیزCetrimide ۰/۵ درصد و الکل اتیلیک ۷۰ درصد خاصیت اسکولکس‌کشی 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 اسکلوکس کش متداول و عصاره‌های آبی و الکلی و آلکالوئید دانه اسپند بوده است. بدلیل ضعیف بودن خاصیت اسکولکس کشی عصاره آبی ، فقط از عصاره الکلی با غلظت ۴۰۰۰ mg برای تزریق به داخل کیست‌های کبدی استفاده شد و در کیستهایی که ابعاد آنها۳cm-۲ 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

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 آلکالوئیدهای تام دانه اسپند در اتوو و بن ماری لرزان(Shaking bath)در ۳۷oc:

درصد مرگ و میر پروتواسکولکسها با استفاده از عصاره آلکالوئیدهای تام دانه اسپند با غلظت mg ۸-۷ پس از ۳۰ دقیقه دربن ماری لرزان۱۰۰ 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.

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

جدول ۲ - نتیجه آنالیز آماری مرحله سوم

در جدول مقایسه‌ای ۳ نیز توان اسکولکس کشی چشمگیر عصاره آلکالوئیدی دانه اسپند مشهود است که به ترتیب Lc50

www.SID.ir

Archive of SID

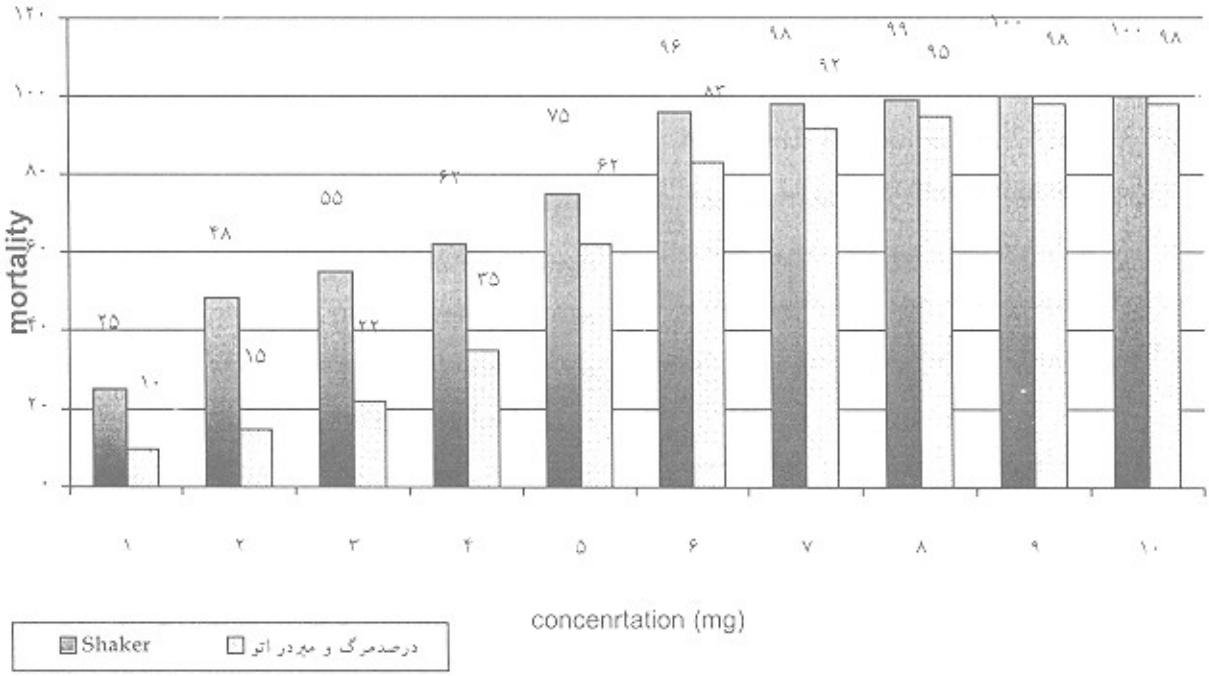
آلکالوئیدهای دانه اسپند ٥٥٧ برابر و Lc90 آن ٧٨٨ برابر عصاره الکلی دانه اسپند است.

در آزمایشات تزریق به کیست کبدی با سوسپانسیون آلکالوئیدی با غلظت ٢٠ mg پس از ٦٠ دقیقه درصد مرگ و میر پروتواسکولکس‌ها برابر ٨٠ درصد است (نمودار ٣).

برای سنجش Toxicity ، به چهار گروه مختلف موش سفید آزمایشگاهی با میانگین وزن ٢٩/٨ گرم مقادیر متفاوتی از سوسپانسیون آلکالوئیدی بطریق I..P. تلقیح گردید که گروهی که مقدار آلکالوئید دریافتی آنها برابر ٨٤mg/kg بوده است. بدون تلفات زنده ماندند (نمودار ٤).

جدول ٣- جدول مقایسه Lc50 و Lc90 عصاره الکلی و آلکالوئیدهای توتال اسپند در ٣٠ دقیقه

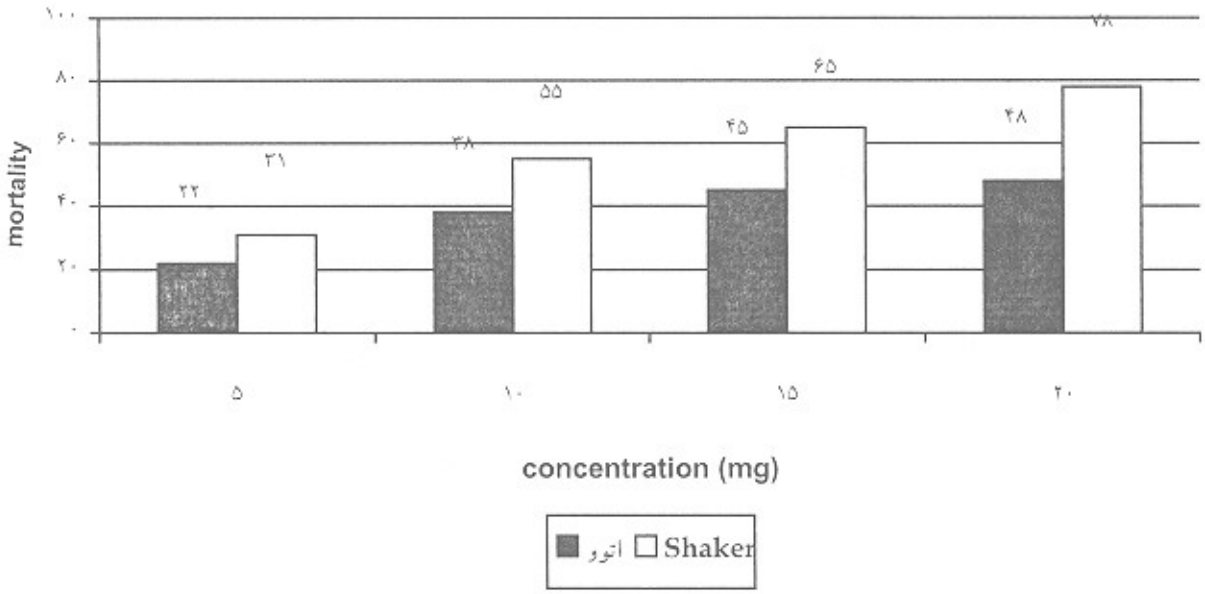
نوع سوسپانسیون	Lc50	Lc90	نسبت
عصاره الکلی دانه اسپند	2884.41	3814.24	$\frac{2884.41}{3.66} = 788$
آلکالوئیدهای توتال دانه اسپند	3.66	6.84	$\frac{3814.24}{6.84} = 557.6$



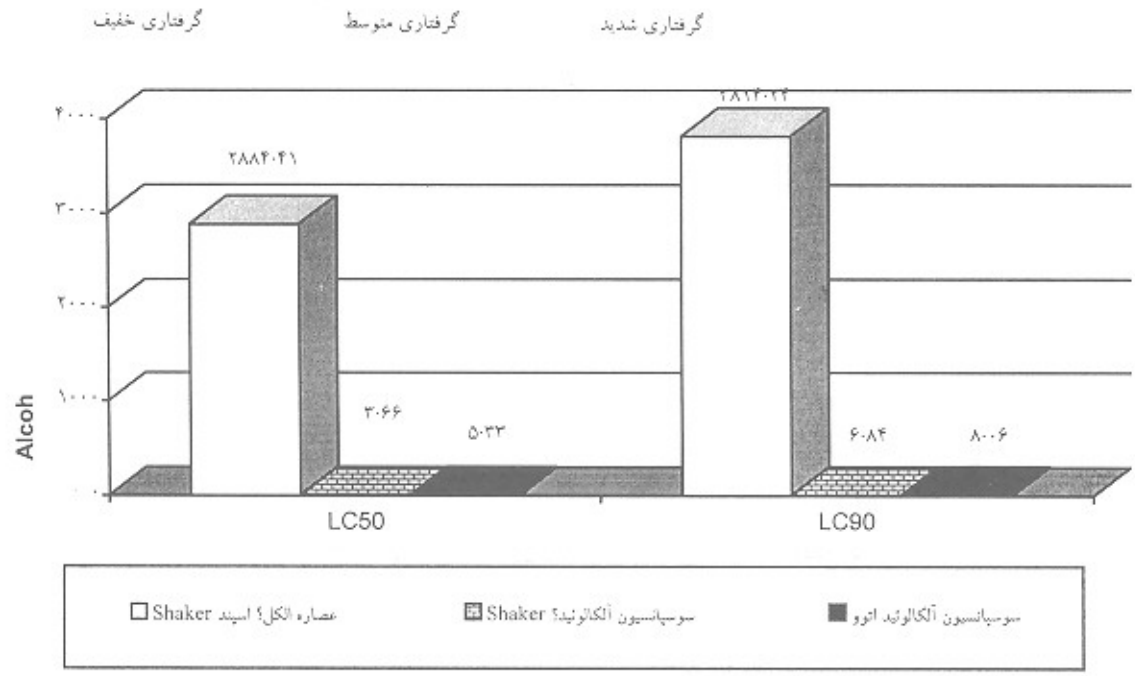
نمودار ١: مقایسه مرگ و میر پروتواسکولکسها پس از تاثیر غلظتهای متفاوت سوسپانسیون آلکالوئیدی اسپند در اتو و **Shaker** بعد از ٣٠ دقیقه **(Invitro)**

www.SID.ir

Archive of SID



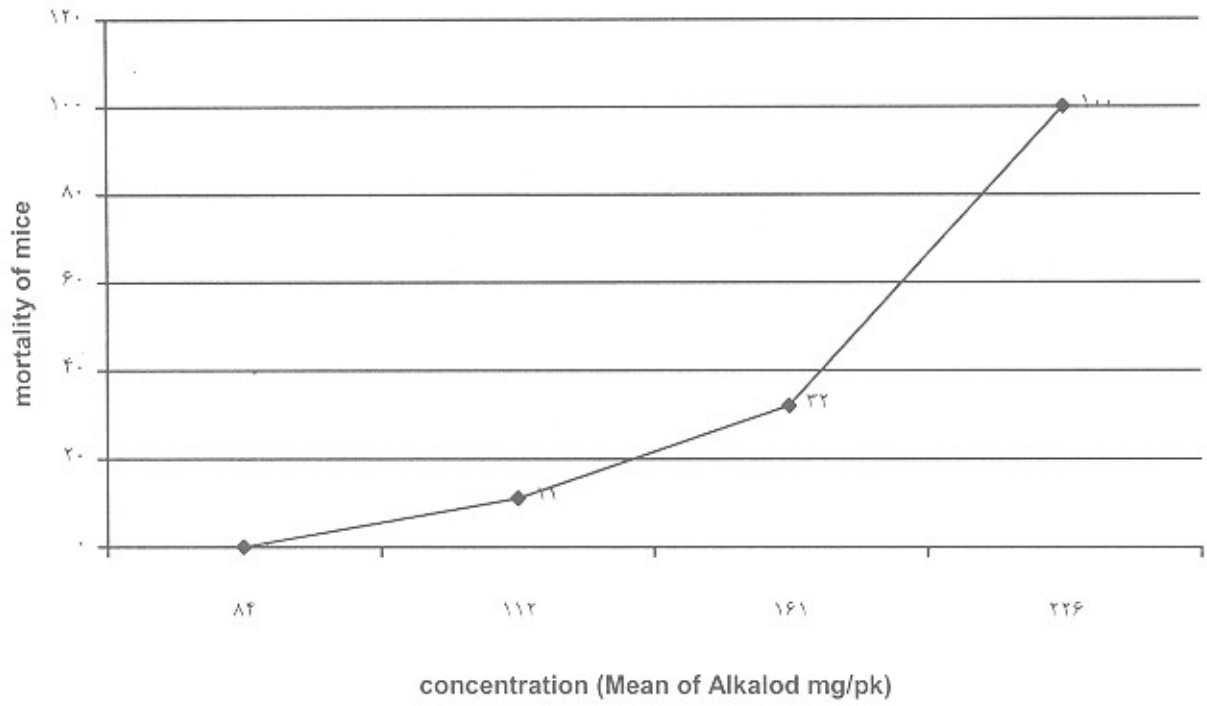
نمودار ۲: مقایسه نتایج آزمایشات تاثیر غلظتهای متفاوت سوسپانسیون آلکالوئیدی اسپند بر روی پروتواسکولکسهای داخل کیست در اتوو و **Shaker** بعد از ۶۰ دقیقه



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

www.SID.ir

Archive of SID



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

بحث

مشکل اساسی جراحان به هنگام برداشتن کیست هیداتید آسپیره کردن قسمتی از مایع داخل آن و جانشین سازی آن با مواد شیمیائی 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.

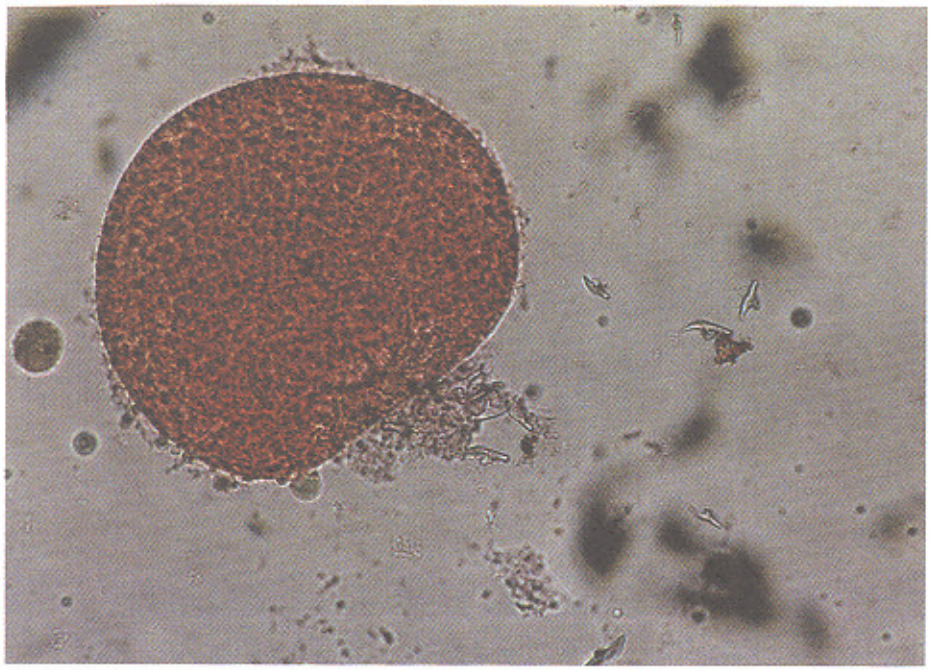
در دهه گذشته داروهای گیاهی که سالیان دراز به صورت سنتی مورد مصرف بوده اند پس از گذراندن مراحل تحقیقاتی و کلینیکی به اشکال صنعتی به بازار عرضه شده‌اند. دانه اسپند نیز که نام لاتین آن peganum harmala L. می باشد از زمانهای قدیم به عنوان انگل کش و گندزدا مورد استفاده قرار می‌گرفت.

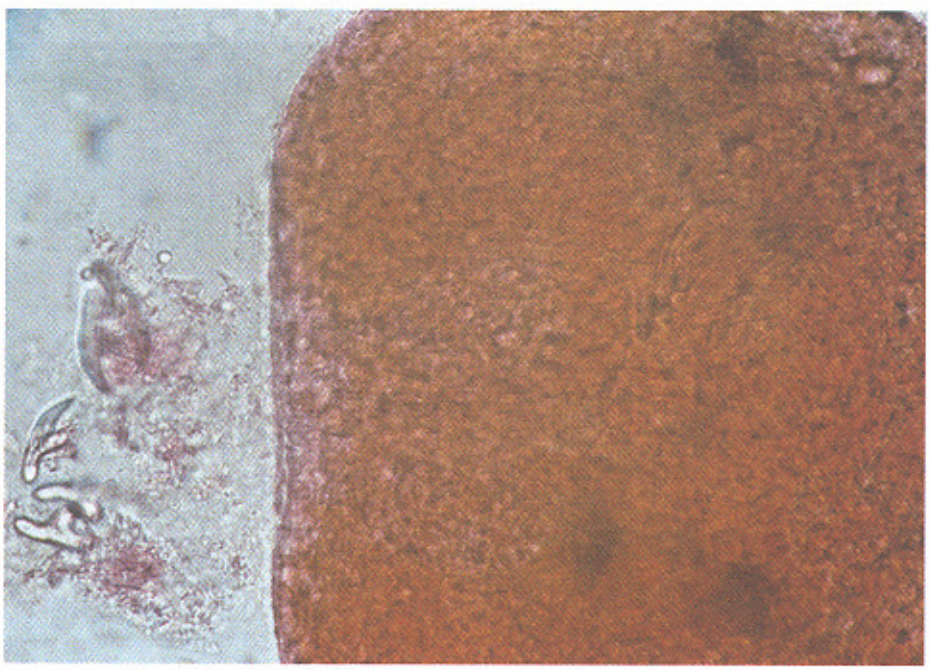
در ۱۹۸۰ از عصاره آلکالوئیدی اسپند برای درمان بعضی از انواع درماتوزها استفاده شد که نتایج اثرات ضد باکتریایی ، ضد قارچی و احتمالاً ضد تک‌یاخته‌ای آن گزارش شد (۳).

در ۱۹۹٤ محققین چینی با به کاربردن ۱۰ گیاه سنتی مختلف روی پروتواسکولکسهای موجود در کیست هیداتید 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 ومیر پروتواسکولکسها پس از ٤٨ ساعت به ۹۰ درصد می‌رسد و به احتمال قریب به یقین 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).

www.SID.ir

Archive of SID

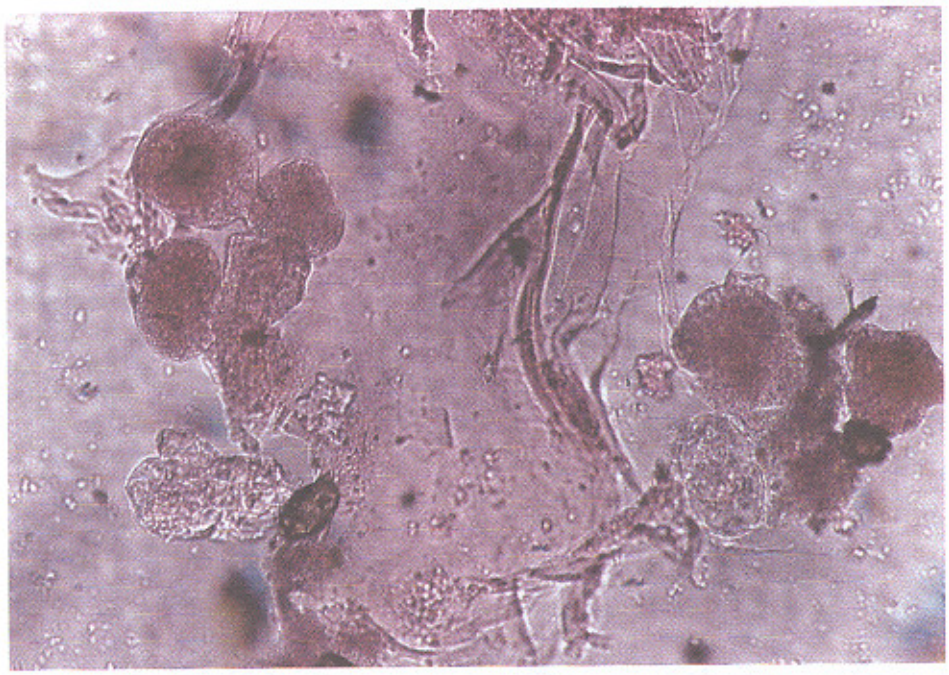


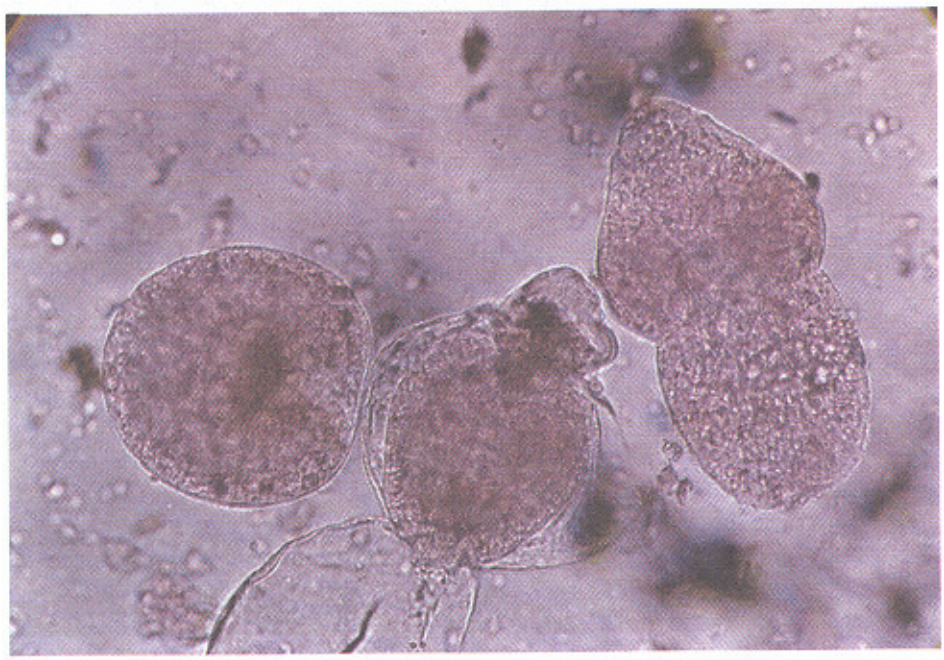


شکل شماره ۱ و ۲- آغاز تأثیر مرگ زای عصاره الکلی و آلکالوئیدهای توتال اسپند بر روی پروتواسکولکسهای کیست هیداتید و تغییر رنگ طبیعی و ریزش قلابهای آنها پس از رنگ‌آمیزی حیاتی با اثوزین

www.SID.ir

Archive of SID





شکل شماره ۳ و ۴- ادامه تأثیر مرگ زای عصاره الکلی و آلکالوئیدهای توتال اسپند بر روی پروتواسکولکسهای کیست هیدائید و تغییر رنگ طبیعی و ریزش قلابهای آنها پس از رنگ‌آمیزی حیاتی با ائوزین

www.SID.ir

Archive of SID

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 A.Golan - Goldrish و همکارانش اثبات گردید(۹). اثرات مثبت عصاره اسپند مربوط به مجموعه آلکالوئیدهای MAOI's (Mono Amino Oxidaze 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) هارمالین به ویژه نوعی MAOI بسیار قوی می‌باشد که در جانوران با مقادیر بالا نوروتوکسیک می باشد و سبب دژنره شدن سلولهای Purkinje در مغز می گردد (۷، ٤).

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 هپاتیت ، لوکمیا ، فلج ، رماتیسم و بیماریهای روحی و دماغی مانند افسردگی ، صرع مؤثر واقع می‌شود بکار می‌رود (٤). 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) , Hallucinogenic و Anticholinergic می باشد 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 استفاده قرار گرفت. زیرا حلالهای شیمیائی مانند الکل اتیلیک با غلظت ۷۰ درصد و بیشتر و یا DMSO (دی‌متیل سولفوکساید) و کلروفروم 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 می شوند و از طرف دیگر آنچه در اولویت قرار دارد اثبات خاصیت اسکولکس‌کشی عصاره و یا آلکالوئید های تام اسپند به تنهائی و بدون دخالت حلالهای شیمیائی 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 قرارگرفت (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 کبدی 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 نمی پذیرد. 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 (٤).

در عوض عصاره الکلی اسپند در اتوو و در بن ماری لرزان مرگ و میر در حد بالا بجا می گذارد. 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. یافته های آزمایشات تزریق عصاره به داخل کیست های کبدی 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 کبدی است و طبعاً بدون عکس‌برداری ابعاد این کیستها بصورت دقیق در

www.SID.ir

Archive of SID

دسترس نخواهد بود و بدلیل این ابهام تعیین مقادیر معینی از عصاره که با تلقیح 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 می نماید ولی در کبدهائی که دارای کیست‌های کوچک و جدا از هم بودنددرصد 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 تست ها در داخل کیست‌های کبدی 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 زیر که در این انگل تگومنت از اهمیت فیزیولوژیکی خاصی برخوردار است و وظایف چندگانه ای به 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 آنتی هلمنتها 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 پاره ای 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 مجیعلی استاد دانشکده بهداشت جهت راهنمائی های مفیدشان و سرکار خانم شهره فرنیا و بخش تغذیه دانشکده بهداشت جهت همکاری در اجرای تحقیق.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1. Kang Jingfeng et al. Invitro cidal effect of 10 chinese Traditional herbs against E.granulous protoscolices, (In chineese). 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 cattlle. Trop. Anim. Health Prod.(1997) 29 (4suppl)77s-83s.:773-835.

3. EL. Saad EI- 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. Chemothrapy .(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: ٤٥٠-٤٤٨.

۱۱-امین غلامرضا، گیاهان دارویی سنتی، جلد اول محل انتشار دانشگاه تهران خرداد ۱۳۷۰ :۸۵.

www.SID.ir