

## A comparative study on the scolical effect of amino-bromophenylcoumarin and amino-hydroxyphenylcoumarin on hydatid cyst protoscolexes in vitro

Yousef Panahi <sup>1\*</sup>, Roghayeh Norouzi <sup>2</sup>, Reza Teimuri Mofrad <sup>3</sup>, Shabnam Soleimani <sup>1</sup>,  
Vahid Mahmoodi <sup>1</sup>, Shabnam Tahmasebi <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Dept of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>Dept of Organic Chemistry and Biochemistry, Faculty of Chemistry, University of Tabriz, Tabriz, Iran

### Article Info

#### Article type:

Research article

#### Article History:

Received: 07 May 2022

Revised: 04 July 2023

Accepted: 20 September 2023

Published Online: 29 October 2023

#### \* Correspondence to:

Yousef Panahi  
Dept of Basic Sciences,  
Faculty of Veterinary  
Medicine, University of  
Tabriz, Tabriz, Iran  
Email:  
y.panahi@tabrizu.ac.ir

### ABSTRACT

**Introduction:** Echinococcus granulosus is the causative agent of hydatid cysts, which are distributed worldwide. Nowadays, much research is being done to inactivate hydatid cyst protoscolexes. This study was conducted with the aim to compare the scolical effect of two chemical compounds 12 and 2 on hydatid cyst protoscolexes in vitro.

**Material & Methods:** The scolical activity of two amini-hydrox-phenylcoumarin and amini-bromo-phenylcoumarin at concentrations of 1.2, 1.5, 1.10 and 1.100 after 15, 30 and 60 minutes of incubation was tested separately and each of the experiments was repeated three times. The viability of protoscolexes was checked with 0.1% eosin dye under a light microscope. Subsequently data were analyzed using GraphPad version 5 software and two-way repeated measures ANOVA and values ( $P > 0.05$ ) was considered a significant level.

**Findings:** The results of this study showed that the chemical compound amini-bromophenylcoumarin at a concentration of 1.10 destroyed 100% of protoscolexes after 60 minutes of exposure compared to the control group, but amini-hydroxyphenylcoumarin, at a concentration of 1.100 could destroy 98% of protoscolexes after 60 minutes of exposure.

**Discussion & Conclusion:** The results of the present study showed that amini-bromophenylcoumarin had stronger protoscolicidal effects than amini-hydroxyphenylcoumarin. However, further studies and in vivo studies are needed to evaluate the efficacy of these chemical compounds.

**Keywords:** Coumarin Derivatives, Hydatid cyst, In vitro, Protoscolicidal

### How to cite this paper

Panahi Y, Norouzi R, Teimuri Mofrad R, Soleimani SH, Mahmoodi V, Tahmasebi SH. A comparative study on the scolical effect of amino-bromophenylcoumarin and amino-hydroxyphenylcoumarin on hydatid cyst protoscolexes in vitro. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2023;31(4): 97-105.

## بررسی مقایسه‌ای اثر اسکولکس کشی آمینو-برومو فنیل کومارین و آمینو-هیدروکسی فنیل کومارین بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در شرایط برون‌تنی

یوسف پناهی<sup>۱\*</sup>، رقیه نوروژی<sup>۲</sup>، رضا تیموری مفرد<sup>۳</sup>، شبنم سلیمانی<sup>۱</sup>، وحید محمودی<sup>۱</sup>، شبنم طهماسبی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

<sup>۲</sup> گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

<sup>۳</sup> گروه شیمی آلی و بیوشیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

#### نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۷

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۸/۰۷

#### نویسندگان مسئول:

یوسف پناهی

گروه علوم پایه، دانشکده

دامپزشکی، دانشگاه تبریز،

تبریز، ایران

Email:  
y.panahi@tabrizu.ac.ir

**مقدمه:** اکتینوکوکوس گرانولوزوس عامل ایجاد کیست هیداتیک است که توزیع جهانی دارد. امروزه، تحقیقات بسیاری برای غیرفعال کردن پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک انجام شده است. این مطالعه با هدف مقایسه اثر اسکولکس کشی آمینو-برومو فنیل کومارین و آمینو-هیدروکسی فنیل کومارین بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در شرایط برون‌تنی صورت گرفت.

**مواد و روش‌ها:** فعالیت اسکولکس کشی آمینو-برومو فنیل کومارین و آمینو-هیدروکسی فنیل کومارین در غلظت‌های ۱/۲، ۱/۵، ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰، پس از ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه انکوباسیون، به صورت جداگانه آزمایش گردید و هر کدام از آزمایش‌ها سه بار تکرار شد. زنده بودن پروتواسکولکس‌ها با رنگ اتوزین ۰/۱ درصد زیر میکروسکوپ نوری بررسی و سپس داده‌ها با نرم‌افزار GraphPad vol.5 و آزمون آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way repeated measures ANOVA) تجزیه و تحلیل گردید و مقادیر  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌های پژوهش:** نتایج این مطالعه نشان داد که آمینو-برومو فنیل کومارین در غلظت ۱/۱۰، پس از ۶۰ دقیقه مواجهه، ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها را در مقایسه با گروه کنترل از بین می‌برد؛ اما ۲ آمینو-هیدروکسی فنیل کومارین در غلظت ۱/۱۰۰، پس از ۶۰ دقیقه مواجهه، ۹۸ درصد پروتواسکولکس‌ها را از بین می‌برد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ۲ آمینو-برومو فنیل کومارین آثار پروتواسکولکس کشی قوی‌تری نسبت به ۲ آمینو-هیدروکسی فنیل کومارین دارد. با این حال، برای ارزیابی کارایی این ترکیبات شیمیایی، نیاز به مطالعات بیشتر و تحقیقات درون‌تنی است.

**واژه‌های کلیدی:** کیست هیداتیک، پروتواسکولکس کشی، برون‌تنی، مشتقات کومارینی

**استناد:** پناهی، یوسف؛ نوروژی، رقیه؛ تیموری مفرد، رضا؛ سلیمانی، شبنم؛ محمودی، وحید؛ طهماسبی، شبنم. بررسی مقایسه‌ای اثر اسکولکس کشی آمینو-برومو فنیل کومارین و آمینو-هیدروکسی فنیل کومارین بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در شرایط برون‌تنی. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، مهر ۱۴۰۲؛ ۳۱(۴): ۹۷-۱۰۵.



حق مؤلف © نویسندگان

ناشر: دانشگاه علوم پزشکی ایلام

اسکولتین، فراکستین، دافتین و سایر مشتقات کومارین مرتبط نه تنها به عنوان بازدارنده دستگاه های آنزیمی لیپوکسیژناز و سیکلوکسیژناز، بلکه برای تولید آنیون سوپراکسید وابسته به نوتروفیل نیز شناخته می شوند. با توجه به اهمیت بی تردید مشتقات کومارین، تلاش های چشمگیری توسط چندین محقق برای تهیه ترکیبات جدید حاوی جایگزین های منفرد یا سامانه های پیچیده تر، از جمله حلقه های هتروسیکلیک عمدتاً در موقعیت های ۳، ۴ و یا ۷ صورت گرفته است (۷).

مشتقات دی هیدروپیرانو [۲ و ۳-۲] کومارین از جمله این ترکیبات هستند که به سبب طیف گسترده ای از فعالیت های بیولوژیکی از جمله خواص ضد دردی (۸)، ضد انعقادی (۹)، ضد سرطانی (۱۰)، ضد توموری (۱۱)، سیتوتوکسیک (۱۲)، ضد میکروبی و ضد سل (۱۳) توجه فراوانی را به خود جلب کرده اند. آن ها همچنین به عنوان تقویت کننده های شناختی برای درمان بیماری های عصبی مانند بیماری آلزایمر، اسکروز، بیماری پارکینسون، بیماری هانتینگتون، زوال عقل مرتبط با ایدز، سندرم داون و اسکیزوفرنی استفاده می شوند (۱۴)؛ بنابراین، این مطالعه با هدف مقایسه اثر پروتواسکولکس کشی ۲-آمینو-۴-۳-بروموفیل (۵-اکسو-هیدرو-۵ هیدرو-پیرانو (۳ و ۲-۲) کومارین-۳-کربونیتیل (ترکیب ۱۲ و ۲-آمینو-۴-۴-هیدروکسی فیل) (۵-اکسو-هیدرو-۴ و ۵ هیدرو-پیرانو (۳ و ۲-۲) کومارین-۳-کربونیتیل (ترکیب ۲) بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک، در شرایط پروتینی صورت گرفت.

### مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، در زمستان سال ۱۴۰۰، از طریق درخواست کتبی از سوی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تعداد ۳۰ عدد کبد و ریه گوسفند از کشتارگاه صنعتی شهر تبریز جمع آوری و به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی منتقل شد. سطح کیست ها با الکل ۷۰ درصد ضد عفونی و مایع کیست توسط سرنگ استریل آسپیره گردید و به داخل استوانه شیشه ای انتقال داده شد و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه باقی ماند تا پروتواسکولکس ها ته نشین گردند.

مرحله نوزادی کرم اکینو کوکوس گرانولوزوس باعث آلوده شدن بافت ها و ایجاد بیماری کیست هیداتیک می شود. این بیماری یکی از مهم ترین بیماری های عفونی- انگلی در انسان، حیوانات اهلی و وحشی است. کیست هیداتیک در اندام های مختلف میزبان مانند کبد، ریه، قلب، مغز، استخوان، طحال و کلیه ها عارضه ایجاد می کند و حتی ممکن است منجر به مرگ شود (۱). در حال حاضر، برای درمان هیداتیدوز از جراحی و داروهای شیمیایی مانند بنزیمیدازول ها استفاده می گردد (۲). اخیراً، استفاده از بنزیمیدازول ها مانند آلبندازول و مبندازول به علت افزایش مقاومت پروتواسکولکس ها و عوارض جانبی مانند ناهنجاری در عملکرد کبد، درد شکم، اسهال، تهوع، سرگیجه و سردرد محدود شده است (۳، ۴). از سوی دیگر، استفاده از آلبندازول در موش ها عوارض تراژیک را نشان داده است (۵).

عوامل اسکولکس کش که در جراحی کیست هیداتیک استفاده می شوند، باید بتوانند در غلظت کم و زمان کوتاه، اسکولکس های فراوانی را بکشند و پس از رقیق شدن با مایع کیست، اثرشان نباید کم شود و برای بافت های میزبان غیر سمی و ایمن و در ضمن ارزان و در دسترس باشند (۶). تاکنون در ایران و سراسر جهان، از مواد شیمیایی و اسکولکس کش های بسیاری برای غیر فعال کردن پروتواسکولکس های درون کیست هیداتیک استفاده شده است و به عنوان گزینه جایگزین، محققان گرایش فراوانی به ارزیابی و ارائه ترکیبات جدید دارند.

گزارش شده است که چندین محصول طبیعی با یک نیمه کومارینی دارای فعالیت های بیولوژیکی متعددی هستند. انتظار می رود که کومارین ها مانند فلاونوئید های ایزومر، بر تشکیل و جمع آوری گونه های فعال اکسیژن تأثیر بگذارند و فرایندهای مربوط به آسیب ناشی از رادیکال های آزاد را تحت تأثیر قرار دهند. کومارین می تواند ادم و التهاب بافت را کاهش دهد. علاوه بر این، کومارین و مشتق ۷ هیدروکسی آن بیوستتر پروستاگلاندین را مهار می کند که شامل هیدروپروکسی واسطه های اسید چرب است. محصولات طبیعی مانند

پس از سپری شدن ۱۰ دقیقه، مایع رویی دور ریخته و پروتواسکولکس‌ها سه بار با نمک فسفت بافر (PBS) شستشو داده شدند و برای ارزیابی زنده بودن، پروتواسکولکس‌ها با انوزین ۰/۱ درصد رنگ گردیدند.

ترکیب شماره ۱۲ و ترکیب شماره ۲ از مشتقات دی هیدروپیرانو [۲ و ۳-c] کومارین هستند که در گروه شیمی آلی و بیوشیمی دانشکده شیمی دانشگاه تبریز ساخته شدند. در این تجربه، یک مخلوط شامل یک میلی‌مول آلدهید، یک میلی‌مول ۴-هیدروکسی کومارین و ۱/۲ میلی‌مول مالونونیتیل تحت شرایط بدون حلال با حضور کاتالیست  $\{Fe_3O_4@SiO_2(CH_2)_3-Im-bisEtylFc[HCO_3]\}$

استفاده گردید. پس از تکمیل واکنش از طریق پیگیری با کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، کاتالیست توسط یک آهنربای خارجی و با حلال اتانول شسته شد تا در واکنش‌های بعدی استفاده شود. در ادامه، محصولات که به صورت رسوب بودند، با حلال اتانول نوبلور گردیدند که برای ارزیابی اثر اسکولکس‌کشی آن‌ها، غلظت‌های ۱/۲، ۱/۵، ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰ از آن‌ها در دی‌متیل سولفوکساید (DMSO)، به صورت جداگانه تهیه شد. نیم میلی‌لیتر از عصاره‌ها به میکروتیوب‌ها اضافه گردید و یک قطره رسوب غنی از پروتواسکولکس (حاوی ۲۰۰۰ پروتواسکولکس) به آن افزوده گشت. محتویات لوله‌ها به آرامی مخلوط شدند و لوله‌ها به مدت ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، فاز فوقانی با دقت برداشته شد؛ سپس یک قطره انوزین ۰/۱ درصد به رسوب باقی‌مانده اضافه و به آرامی مخلوط گردید. یک قطره از پروتون‌ها روی لام قرار داده شد و روی آن لامی قرار گرفت و به کمک میکروسکوپ نوری، پروتواسکولکس‌های مرده و زنده شمرده شدند. اثر اسکولکس‌کشی ترکیب ۱۲ و ترکیب ۲ در غلظت‌های ذکر شده، با داروی آلبندازول (۲۰۰ میلی گرم، شرکت داروسازی سپا، ایران) به عنوان کنترل مثبت و دی‌متیل سولفوکساید به عنوان کنترل منفی در دوزهای مشابه بررسی و مقایسه گردید. این آزمایش‌ها برای هر کدام از غلظت‌ها سه بار تکرار شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار GraphPad vol.5 و با آزمون آنالیز واریانس دوطرفه (Two way-ANOVA) تجزیه و تحلیل گردیدند و سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌های پژوهش

نتایج این بررسی تجربی نشان داد که ترکیب ۱۲ و ۲ در همه غلظت‌های استفاده شده در این مطالعه، فعالیت اسکولیسیدال دارد. با این حال، ترکیب شماره ۱۲، در همه غلظت‌ها و زمان‌ها، اثر اسکولکس‌کشی بالایی نسبت به ترکیب شماره ۲ داشت و از سویی، نتایج نشان داد که ترکیب ۱۲ در غلظت ۱/۱۰ پس از ۶۰ دقیقه و غلظت ۱/۱۰۰ در همه زمان‌های مواجهه، ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها را در مقایسه با گروه کنترل از بین برد؛ اما ترکیب ۲ در غلظت ۱/۱۰۰ پس از ۶۰ دقیقه مواجهه، توانست ۹۸ درصد پروتواسکولکس‌ها را از بین ببرد. در هر دو عصاره، فعالیت پروتواسکولکس‌کشی با افزایش غلظت افزایش یافت.

در جدول و نمودار شماره ۱، فعالیت پروتواسکولکس‌کشی ترکیب ۱۲ و ۲ در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف مواجهه باهم مقایسه شدند و همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، کمترین اثر اسکولکس‌کشی هر دو ترکیب، در غلظت ۱/۲ پس از ۱۵ دقیقه مواجهه با پروتواسکولکس‌ها، به ترتیب ۹۸ و ۸۳ درصد بود و ترکیب شماره ۱۲ در همه غلظت‌ها و زمان‌ها، اثر اسکولکس‌کشی بالایی نسبت به ترکیب ۲ داشت. نتایج این بررسی اختلاف معنادار آثار اسکولیسیدال ترکیب ۱۲ را در همه غلظت‌ها، نسبت به گروه کنترل منفی نشان داد ( $P < 0.05$ )؛ همچنین آثار اسکولیسیدال ترکیب شماره ۲ در همه غلظت‌ها، به جز غلظت ۱/۲ به مدت ۱۵ دقیقه، در همه گروه‌های دریافت‌کننده نسبت به کنترل منفی معنادار بود ( $P < 0.05$ ). در مورد هر دو ترکیب، آثار اسکولکس‌کشی معنی‌دار وابسته به دوز و زمان مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

در جدول شماره ۱ و نمودار شماره ۱، فعالیت پروتواسکولکس‌کشی ترکیب ۱۲ و ۲ بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در غلظت‌ها و

زمان‌های مختلف مواجهه مقایسه گردید.

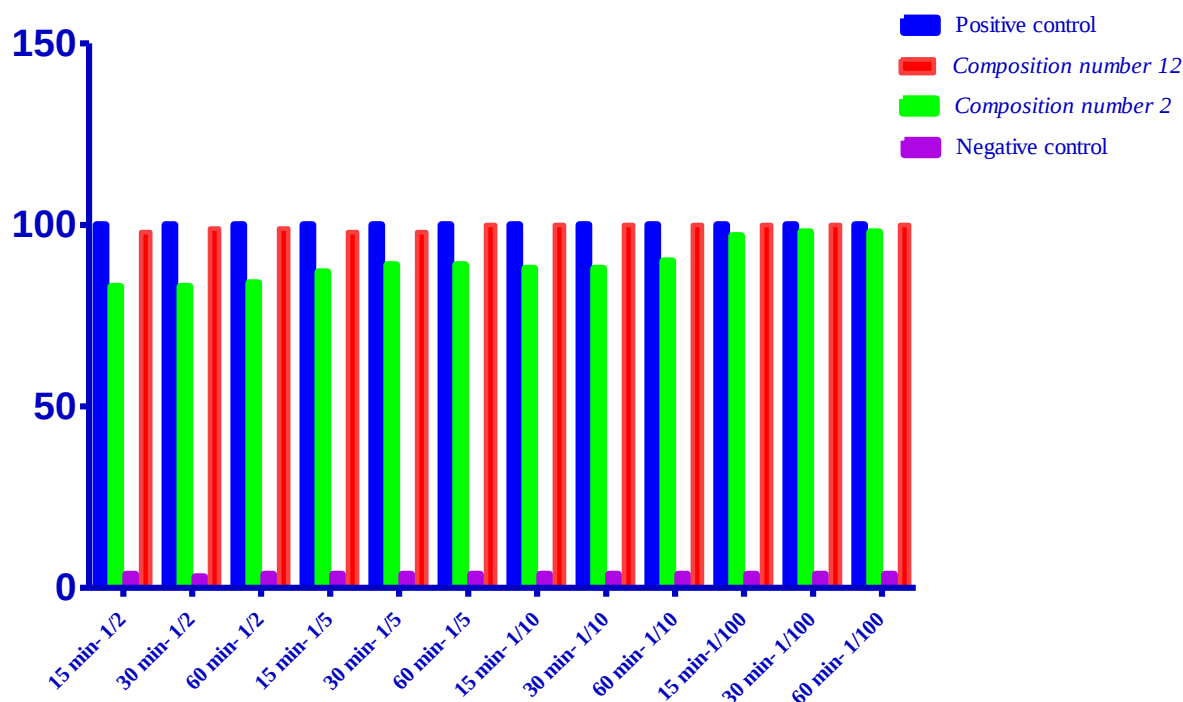
**جدول شماره ۱.** مقایسه فعالیت پروتواسکولکس‌کشی ترکیب ۱۲ و ۲ (درصد) بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در غلظت‌ها و زمان‌های

مختلف مواجهه

| رقت عصاره | زمان مواجهه | ترکیب شماره ۱۲ | ترکیب شماره ۲ | کنترل مثبت     | کنترل منفی      |
|-----------|-------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|
| ۱/۲       | ۱۵ دقیقه    | $98 \pm 1/15$  | $83 \pm 1/15$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
|           | ۳۰ دقیقه    | $99 \pm 1/00$  | $83 \pm 1/00$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
|           | ۶۰ دقیقه    | $99 \pm 2/08$  | $84 \pm 2/08$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
| ۱/۵       | ۱۵ دقیقه    | $98 \pm 2/00$  | $87 \pm 2/00$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
|           | ۳۰ دقیقه    | $98 \pm 2/00$  | $89 \pm 2/00$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
|           | ۶۰ دقیقه    | $100 \pm 2/51$ | $89 \pm 2/51$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
| ۱/۱۰      | ۱۵ دقیقه    | $100 \pm 2/08$ | $88 \pm 1/08$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
|           | ۳۰ دقیقه    | $100 \pm 2/00$ | $88 \pm 3/05$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
|           | ۶۰ دقیقه    | $100 \pm 1/05$ | $90 \pm 0/57$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
| ۱/۱۰۰     | ۱۵ دقیقه    | $100 \pm 1/00$ | $97 \pm 1/15$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
|           | ۳۰ دقیقه    | $100 \pm 1/50$ | $98 \pm 1/50$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |
|           | ۶۰ دقیقه    | $100 \pm 0/57$ | $98 \pm 0/57$ | $100 \pm 0/00$ | $3/66 \pm 0/00$ |

**جدول شماره ۲.** توزیع فراوانی انواع عوارض بدو تولد در نوزادان بستری شده در بخش NICU بیمارستان آیت‌الله طالقانی شهر ایلام

| عوارض بدو تولد     | فراوانی (N) | درصد فراوانی (%) |
|--------------------|-------------|------------------|
| هیپر گلیسمی        | ۳           | ۱۰/۷             |
| هیپوترمی           | ۵           | ۹/۷              |
| خون‌ریزی داخل بطنی | ۹           | ۲۱/۱             |
| آسیفکسی            | ۱۰          | ۳۵/۷             |
| تشنج               | ۶           | ۱۱/۴             |
| NEC                | ۶           | ۱۱/۴             |
| جمع                | ۳۹          | ۱۰۰              |



نمودار شماره ۱. نمودار مقایسه فعالیت پروتواسکولکس کشی ترکیب ۱۲ و ۲ (درصد) در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف مواجهه

## بحث و نتیجه‌گیری

امروزه، جراحی یک روش انتخابی برای درمان کیست هیداتیک است. با این حال، موفقیت این روش تحت تأثیر تشکیل کیست‌های جدید، عود بیماری یا انتشار ثانویه کیست‌های هیداتیک قرار دارد و در ضمن ممکن است در حین جراحی، نشت محتوای کیست منجر به مرگ شود (۱۵). در واقع، غیرفعال‌سازی پروتواسکولکس‌ها با عوامل اسکولکس کش همراه با حداقل عوارض جانبی و کارایی بالا به جای باز کردن یا برداشتن کیست، در حد فراوانی، بسیار توصیه می‌گردد (۱۶). تا به امروز، برای غیرفعال کردن پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک، از بسیاری از عوامل پروتواسکولکس کش مانند سالین هایپرتونیک، مانیتول، گلوکونات کلرگزیدین، عصاره‌های گیاهی، نانوذرات و... استفاده شده است؛ اما بسیاری از این عوامل عوارض نامطلوبی ایجاد می‌کنند که استفاده از آن‌ها را محدود می‌سازد (۱۷). این مطالعه با هدف مقایسه اثر اسکولکس کشی ترکیب ۱۲ و ۲ بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در شرایط برون‌تنی انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد که این دو ترکیب در همه غلظت‌ها فعالیت اسکولیسیدال دارند؛ اما

ترکیب ۱۲ در غلظت ۱/۱۰ پس از ۶۰ دقیقه و غلظت ۱/۱۰۰ در همه زمان‌های مواجهه، ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها را در مقایسه با گروه کنترل از بین می‌برد. در میان عوامل مختلف اسکولکس کش، فرمالین (۱۸) و اتیل الکل اولین و بیشترین موادی بودند که استفاده گردیدند؛ اما علی‌رغم اثربخشی آن‌ها، به سبب سمیت و سوزاننده بودن، استفاده از آن‌ها محدود شد. پس از آن، پراکسید هیدروژن به عنوان ماده اسکولکس کش استفاده گردید؛ اما به علت اثربخشی اندک و عوارض بالا، کاربرد چندانی نداشت. سالین هایپرتونیک یکی از اسکولکس کش‌های انتخابی است که در سال‌های گذشته استفاده شده است؛ اما سالین ۵ درصد هیچ تأثیری بر پروتواسکولکس‌ها ندارد. در واقع، غلظت کمتر از ۱۰ درصد سالین هیچ تأثیری بر پروتواسکولکس‌ها ندارد و از سویی، غلظت ۲۰ درصد سالین در بیماران کلاثریت اسکروزان ایجاد می‌کند (۱۹). Cetrimide (ستریماید) یک ماده ضد عفونی‌کننده قوی و عامل اسکولکس کش مؤثر است و غلظت‌های پایین ستریماید (۰/۵-۰/۱ درصد) از سوی بسیاری از جراحان استفاده شده است. ستریماید در غلظت‌های بسیار

به کاررفته، غلظت ۰/۰۴ درصد سمیت اندک و اثربخشی بالا در مدت زمان کوتاه را داشت؛ بنابراین می توان در درمان هیداتیدوز داخل صفاقی استفاده کرد (۲۲). به نظر می رسد که تفاوت در نتیجه مطالعات مختلف به علت تفاوت در نوع مواد، غلظت و زمان مواجهه و نیز تفاوت در واحدهای اندازه گیری غلظت ها باشد. در این تحقیق، تعدادی محدودیت و ضعف وجود داشت که تأثیر مستقیمی بر تحقیقات دارند و باید به عنوان موارد مهم در نظر گرفته شوند. یکی از اصلی ترین محدودیت ها تعداد محدود نمونه های کبد آلوده به کیست هیداتیک تهیه شده از کشتارگاه است. این ممکن است به عدم قابلیت عمومی سازی نتایج تحقیقات منجر گردد؛ همچنین مسائل مرتبط با نگهداری نمونه ها از کشتارگاه به عنوان یک محدودیت مطرح شده اند. شرایط نگهداری مناسب نمونه ها تا زمان انجام آزمایش ها و تحلیل ها بسیار اهمیت دارد. تضمین کیفیت نمونه ها و روش های تهیه آنها نیز از اهمیت بالایی برخوردار است و می بایست با دقت اجرا گردد. در ضمن، مسائل اخلاقی مرتبط با تهیه نمونه ها از کشتارگاه و حقوق حیوانات نیز باید به دقت مدنظر قرار گیرند و رعایت شوند. همه این محدودیت ها و ضعف ها تأثیر مستقیمی بر تحلیل و آنالیز داده های تحقیق دارند و نیاز به توجه دقیق به آنها وجود دارد. به طور کلی، یافته های این مطالعه نشان دهنده فعالیت پروتواسکولکس کشی بالای ترکیب ۱۲ است، به طوری که در غلظت ۱/۱۰ پس از ۶۰ دقیقه و غلظت ۱/۱۰۰ در همه زمان های مواجهه، ۱۰۰ درصد آنها را از بین می برد که پتانسیل بالقوه این ماده سنتتیک را به عنوان یک عامل پروتواسکولکس کش برای استفاده در جراحی کیست هیداتیک مطرح می سازد. این مطالعه در شرایط برون تنی و در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است؛ از این رو، ضروری است که در شرایط درون تنی نیز صورت گیرد تا ضمن تعیین دقیق غلظت مؤثر این مواد، عوارض ناخواسته احتمالی آن بر ارگان های داخلی بدن نیز بررسی شود تا نتایج به دست آمده به لحاظ کاربردی بیشتر قابل تأمل باشد.

### سپاس گذاری

از رئیس کشتارگاه صنعتی تبریز به سبب

کم مؤثر است؛ اما عاری از عوارض نیست (۲۰). کاگلار و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر محلول های ۲۰ درصد سالین هایپرتونیک، نیترا نقره ۲۰ درصد، آلندازول ۲۰ میلی گرم بر سانتی متر مکعب، دکستروز ۵۰ درصد (گلوکز هایپرتونیک) و محلول های ۲۰ درصد مانیتول و آمینو میکس-۱ را بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که همه پروتواسکولکس ها پس از تیمار با نیترا نقره در ۲۰ دقیقه، دکستروز و محلول آمینو میکس-۱ در ۳۰ دقیقه و سالین هایپرتونیک و مانیتول در ۴۵ دقیقه از بین می روند (۲۰). مقایسه مطالعه کاگلار و مطالعه حاضر نشان می دهد که ترکیب ۱۲ در غلظت ۱/۱۰۰ و ۱۵ دقیقه تیمار، ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس ها را از بین می برد و چون عوامل اسکولکس کش که در جراحی کیست هیداتیک استفاده می شوند، باید بتوانند در غلظت کم و زمان کوتاه، اسکولکس های فراوانی را از بین ببرند؛ بنابراین، ترکیب ۱۲ پتانسیل استفاده به عنوان یک عامل پروتواسکولکس کش قوی در جراحی کیست هیداتیک را دارد.

بورازان و همکاران (۲۰۱۹) اثر اسکولکس کشی نمک طعام ۱۵ درصد، بتادین، ساولون و کریستالین ۱۰ درصد و کلرهگزیدین گلوکونات ۰/۴ درصد را بررسی کردند. تفاوت معنی داری میان کلرهگزیدین گلوکونات و سایر مواد در دقیقه دوم وجود داشت و ۹۹ درصد از پروتواسکولکس ها در دقیقه ۵ از بین رفتند. ساولون و بتادین ۱۰ درصد پس از ۱۰ دقیقه اثربخشی کامل را نشان دادند و کریستالین و نمک طعام ۱۵ درصد در ۲۰ دقیقه توانستند کارایی کاملی از خود نشان دهند (۲۱).

پوریان و همکاران (۲۰۰۵) اثر کلرهگزیدین گلوکونات را در درمان هیداتیدوز آزمایشگاهی داخل صفاقی در موش صحرایی نژاد ویستار بررسی کردند و سه غلظت ۴ درصد، ۰/۴ درصد و ۰/۰۴ درصد کلرهگزیدین گلوکونات را به محوطه صفاقی موش ها تزریق نمودند. طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که غلظت ۴ درصد سمی تر است و باعث مرگ و میر بالایی می شود. از میان همه غلظت های

اشتراک گذاری نمونه های کبد مرتبط با آلودگی به کیست هیداتیک تقدیر و تشکر می شود.

### تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

### حمایت مالی

هزینه های مربوط به انجام این طرح پژوهشی از محل

گرنه شخصی پرداخت شده است.

### سهم نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش ها ی پژوهش حاضر، مشارکت داشته اند. تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش ها ی پژوهش حاضر، مشارکت داشته اند.

### References

- Norouzi R, Ataei A, Hejazy M, Noreddin A, El Zowalaty ME. Scolicidal effects of nanoparticles against hydatid cyst protoscolices in vitro. *Int J Nanomedicine* 2020; 15:1095-100. doi: 10.2147/IJN.S228538. eCollection 2020.
- Ahmadpour E, Godrati-Azar Z, Spotin A, Norouzi R, Hamishehkar H, Nami S, et al. Nanostructured lipid carriers of ivermectin as a novel drug delivery system in hydatidosis. *Parasit Vectors* 2019; 12:469. doi: 10.1186/s13071-019-3719-x.
- Naseri M, Akbarzadeh A, Spotin A, Akbari NAR, Mahami-Oskouei M, Ahmadpour E. Scolicidal and apoptotic activities of albendazole sulfoxide and albendazole sulfoxide-loaded PLGA-PEG as a novel nanopolymeric particle against *Echinococcus granulosus* protoscolices. *Parasitol Res* 2016; 115:4595-603. doi: 10.1007/s00436-016-5250-8.
- Walker M, Rossignol JF, Torgerson P, Hemphill A. In vitro effects of nitazoxanide on *Echinococcus granulosus* protoscolices and metacestodes. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54:609-16. doi: 10.1093/jac/dkh386.
- Maggiore MA, Albanese AA, Gende LB, Eguaras MJ, Denegri GM, Elissondo MC. Anthelmintic effect of *Mentha* spp. essential oils on *Echinococcus granulosus* protoscolices and metacestodes. *Parasitol Res* 2012; 110:1103-12. doi: 10.1007/s00436-011-2595-x.
- Anthony J-P, Fyfe L, Smith H. Plant active components—a resource for antiparasitic agents? *Trends Parasitol* 2005; 21:462-8. doi: 10.1016/j.pt.2005.08.004.
- Fylaktakidou KC, Hadjipavlou-Litina DJ, Litinas KE, Nicolaides DN. Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/antioxidant activities. *Curr Pharm Des* 2004; 10:3813-33. doi: 10.2174/1381612043382710.
- Bonsignore L, Loy G, Secci D, Calignano A. Synthesis and pharmacological activity of 2-oxo-(2H) 1-benzopyran-3-carboxamide derivatives. *Eur J Med Chem* 1993; 28:517-20. doi:10.1016/0223-5234(93)90020-F.
- Cingolani G, Gualtieri F, Pignini M. Researches in the field of antiviral compounds. Mannich bases of 3-hydroxycoumarin. *J Med Chem* 1969; 12:531-2. doi:10.1021/jm00303a616.
- Wu JY, Fong WF, Zhang JX, Leung CH, Kwong HL, Yang MS, et al. Reversal of multidrug resistance in cancer cells by pyranocoumarins isolated from *Radix Peucedani*. *Eur J Pharmacol* 2003; 473:9-17. doi: 10.1016/s0014-2999(03)01946-0.
- Perrella FW, Chen SF, Behrens DL, Kaltenbach RF 3rd, Seitz SP. Phospholipase C inhibitors: a new class of cytotoxic agents. *J Med Chem* 1994; 37:2232-7. doi: 10.1021/jm00040a016.
- Emmadi NR, Atmakur K, Chityal GK, Pombala S, Nanubolu JB. Synthesis and cytotoxicity evaluation of highly functionalized pyranochromenes and pyranopyrans. *Bioorg Med Chem Lett* 2012; 22:7261-4. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.09.018.
- Mungra DC, Patel MP, Rajani DP, Patel RG. Synthesis and identification of  $\beta$ -aryloxyquinolines and their pyrano [3, 2-c] chromene derivatives as a new class of antimicrobial and antituberculosis agents. *Eur J Med Chem* 2011; 46:4192-200. doi: 10.1016/j.ejmech.2011.06.022.
- Teimuri-Mofrad R, Esmati S, Tahmasebi S, Gholamhosseini-Nazari M. Bisferrocene-containing ionic liquid supported on silica coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>: A novel nanomagnetic catalyst for the synthesis of dihydropyrano [2, 3-c] coumarin derivatives. *J Organomet Chem* 2018; 870:38-50. doi: 10.1016/j.jorganchem.2018.06.007.
- Rouhani S, Parvizi P, Spotin A. Using specific synthetic peptide (p176) derived AgB 8/1-kDa accompanied by modified patient's sera: a novel hypothesis to follow-up of Cystic echinococcosis after surgery. *Med Hypotheses* 2013; 81:557-60. doi: 10.1016/j.mehy.2013.07.003.
- Fakhar M, Chabra A, Rahimi-Esboei B, Rezaei F. In vitro protoscolicidal effects of fungal chitosan isolated from *Penicillium waksmanii* and *Penicillium citrinum*. *J Parasit*

- Dis 2015; 39:162-7. doi: 10.1007/s12639-013-0300-y.
17. 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 Trop* 2017; 176:385-94. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.09.013.
  18. Williams RJ. Determination of the Value of Formalin and Boiling Water as Taeniid Ovicides. *Res Vet Sci* 1963; 4:550-5. doi:10.1016/S0034-5288(18)34841-0.
  19. Besim H, Karayalcin K, Hamamci O, Güngör C, Korkmaz A. Scolicidal agents in hydatid cyst surgery. *HPB Surg* 1998; 10:347-51. doi: 10.1155/1998/78170.
  20. Caglar R, Yuzbasioglu MF, Bulbuloglu E, Gul M, Ezberci F, Kale IT. In vitro effectiveness of different chemical agents on scolices of hydatid cyst. *J Investig Surg* 2008; 21:71-5. doi: 10.1080/08941930701883640.
  21. Borazan E, Gökalp MA, Zer Y, Aksoy N, Aytekin A, Yılmaz L. Time-related comparison of scolicidal activity of the different substances used in hydatid cyst. *East J Med* 2019; 24:457-62. doi: 10.5505/ejm.2019.04706.
  22. Puryan K, Karadayi K, Topcu O, Canbay E, Sumer Z, Turan M, et al. Chlorhexidine gluconate: an ideal scolicidal agent in the treatment of intraperitoneal hydatidosis? *World J Surg* 2005; 29:227-30. doi: 10.1007/s00268-004-7587-x.