

## بررسی اثرات اسانس‌ها و عصاره‌های ۵۰ گیاه دارویی ایران روی سوبهای استاندارد کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی

علیرضا نائینی<sup>۱\*</sup>، محسن ناصری<sup>۲</sup>، محمد کمال نژاد<sup>۳</sup>، فریبا خوش‌زبان<sup>۱</sup>، طیبه رجبیان<sup>۴</sup>،  
حسین اسماعیل‌زاده‌نامی<sup>۵</sup>، صادق منصوری<sup>۶</sup>، داوود زاویه<sup>۷</sup>

۱- استادیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی و عضو مرکز تحقیقات طب سنتی ایران، دانشگاه شاهد، تهران

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات طب سنتی ایران، دانشگاه شاهد، تهران

۳- پژوهشگر، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۴- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران

۵- کارشناس گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران

۶- کارشناس، گروه طب سنتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران

۷- کارشناس، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران

\* آدرس مکاتبه: تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدالزاده، پلاک ۳۱، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، صندوق پستی: ۷۴۳۵ - ۱۴۱۵۵

تلفن: ۸۸۹۶۴۷۹۲ (۰۲۱)، نمبر: ۸۸۹۶۶۳۱۰ (۰۲۱)

پست الکترونیک: aemamh@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸/۲۱/۱۴۰۶

تاریخ دریافت: ۱۰/۱۲/۸۷

### چکیده

مقدمه: در دهه‌های اخیر عفونت‌های ناشی از اثر قارچ فرست طلب کاندیدا که توسط گونه‌های مختلف آن نظیر کاندیدا آلبیکنس ایجاد می‌شود سبب افزایش چشمگیری در میزان بروز بیماری بوده است.

هدف: وجود محدودیت‌هایی در درمان بیماری‌های قارچی از قبیل کمبود و گرانی داروهای ضدقارچی، عوارض جانبی آنها و نیز مقاومت داروها و یا کاهش حساسیت قارچ‌ها به این نوع داروها موجب شده تا توجه پژوهشگران به جستجوی داروهای ضدقارچی جدید خصوصاً داروهای گیاهی معطوف شود.

روش بررسی: ۱۷ اسانس و ۱۷۲ عصاره از ۵۰ گیاه دارویی مورد استفاده در طب سنتی ایران جهت بررسی اثرات ضدکاندیدایی مورد آزمایش فرار گرفت. بر اساس آزمایش روی سوبهای استاندارد PTCC۰۲۷ (ATCC ۱۰۳۱) مخمر کاندیدا آلبیکنس با استفاده از روش دیسک گذاری و انتشار در آگار نشان داد که اسانس و عصاره ۱۶ گیاه دارای اثرات ضدکاندیدایی هستند. افزون بر این داروهای نیستاتین، آمفوتربیسین B و کتوکونازول نیز به عنوان سه داروی موثر بر سوبه استاندارد کاندیدا آلبیکنس به عنوان مقایسه و کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج: ۱۶ گیاه (۳۲ درصد) از ۵۰ گیاه مورد مطالعه دارای فعالیت ضدکاندیدایی بودند. نتایج نشان داد که اسانس گیاهان آویشن کوهی، آویشن شیرازی، اسطوخودوس، درمنه، زیره سیز، مرزه و نعناع دارای اثرات ضدکاندیدایی بسیار قوی و اسانس گیاهان اکلیل کوهی، سیاه دانه و مورد دارای اثرات قوی بودند. در حالی که اسانس گیاهان اکالیپتوس، آنیسون، رازیانه، گلپر اثرات ضدکاندیدایی متوسطی از خود نشان دادند.

نتیجه‌گیری: با توجه به مشکلات روزافزون بیماری‌های قارچی یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد که با تحقیقات بیشتر بر روی گیاهان مورد آزمایش که اثرات ضدکاندیدایی خوبی از خود نشان داده‌اند می‌توان امیدوار بود که در آینده بتوان به داروهای گیاهی و احتمالاً به ترکیباتی جدیدی جهت درمان عفونت‌های کاندیدایی دست یافت.

گل واژگان: گیاهان دارویی، اسانس و عصاره، اثرات ضدکاندیدایی، کاندیدا آلبیکنس



## مقدمه

شایان ذکر است که استفاده از داروهای گیاهی در درمان بیماری‌ها از گذشته دور در کشور ما متدالوی بوده و دارای سابقه چند هزار ساله می‌باشد و امروزه استفاده از داروهای گیاهی در درمان یک سری از بیماری‌های عفونی، افقی را پیش روی ما گشوده است و هم‌اکنون تحقیقات گستره‌ای در جهان بر روی گیاهان دارویی در حال انجام می‌باشند. بر این اساس تحقیق حاضر انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

### سوش استاندارد قارچ

قارچ مخمری کاندیدا آلبیکنس سویه ۵۰۲۷ PTCC ۱۰۲۳۱ (ATCC) از مرکز کلکسیون باکتری و قارچ‌های بیماری‌زا سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد.

#### نحوه جمع‌آوری گیاهان

در تحقیق حاضر با استفاده از متون گیاهان دارویی و کتب طب سنتی نظریه مخزن‌الادویه، معارف گیاهی، قانون، راهنمای گیاه درمانی و ... به بررسی گیاهانی که احتمالاً دارای اثرات ضدمیکروبی خوبی باشند، پرداخته شد. در ابتدا با مشورت اساتید فن، گیاهانی که احتمال داده می‌شد دارای اثرات ضدقارچی، ضدبacterیایی، ضدپیروسی، ضدالتاپ، قاعده‌آور و التیام‌دهنده زخم‌ها باشند، از متون ذکر شده استخراج و لیستی از آنها تهیه شد.

از این تعداد ۵۰ گیاه بر اساس اثرات ضدمیکروبی احتمالی، بومی بودن و در دسترس بودن انتخاب شدند. با استفاده از روش‌های عصاره‌گیری و اسانس‌گیری مبادرت به تهیه اسانس و عصاره‌های الکلی، آبی و استونی نموده و سپس با استفاده از آزمایش دیسک‌گذاری و انتشار در آگار بر روی گونه استاندارد کاندیدا آلبیکنس (سوش PTCC ۵۰۲۷) که برای انسان بیماریزا می‌باشد) اثر ضدقارچی آن گیاهان تعیین شد. همچنین سه داروی آمفوتیریسین B و کتوکونازول و نیستانین جهت مقایسه کیفی و به عنوان شاهد مثبت در آزمایش انتخاب شدند.

عفونت‌های قارچی اگرچه در گذشته شیوع کمتری نسبت به عفونت‌های باکتریایی و ویروسی داشته‌اند، ولی در چند دهه اخیر مسؤول افزایش چشمگیری در میزان بروز بیماری بوده‌اند. در بررسی انجام شده مابین سال‌های ۱۹۷۹ الی ۲۰۰۰ در آمریکا بروز عفونت‌های قارچی ۲۰۷ درصد افزایش داشته است [۱].

در یک بررسی دیگر انجام شده در آمریکا مابین سال‌های ۱۹۸۰ تا ۱۹۹۷ نشان داده شده که میزان مرگ و میر ناشی از عفونت‌های قارچی افزایش یافته و به عنوان یکی از متدالوی‌ترین علل مرگ و میر<sup>۱</sup> از رتبه دهم به رتبه هفتم ارتقاء یافته است [۲].

عوامل مستعدکننده‌ای مانند استفاده وسیع و طولانی‌مدت از آنتی‌بیوتیک‌ها، کورتون‌ها، داروهای سرکوب‌گر ایمنی و بیماری‌های زمینه‌یی همچون دیابت، ایدز و بدخیمی‌ها و ... سبب شده‌اند که بیماری‌های قارچی خصوصاً کاندیدیازیس نسبت به گذشته رو به افزایش باشند. در طی یک تحقیق گونه‌های کاندیدا به عنوان چهارمین عامل از عوامل مرگ و میر ناشی از عفونت‌های گردش خون<sup>۲</sup> به حساب آمده و درصد از موارد عفونت‌های خونی منجر به مرگ را، شامل شده‌اند [۲،۳].

عامل بیماری قارچی فرصت‌طلب از جنس کاندیدا می‌باشد که به صورت همزیست در دستگاه گوارش، مخاطات، پوست انسان و سایر حیوانات بوده و حتی در محیط نیز یافته می‌شود. این عامل در شرایطی که مقاومت می‌بازان به صورت موضعی یا سیستمیک به صورت اولیه و یا ثانویه در اثر عوامل مستعدکننده بیماری کاهش یابد، قادر به ایجاد بیماری در هر ناحیه از بدن خواهد بود. وجود محدودیت‌هایی همچون تعداد کم داروهای ضدقارچی، سمی بودن آنها برای سلول‌های بدن یا کاهش حساسیت یک سری از گونه‌های کاندیدا به این داروها، همواره به عنوان معضلات اساسی در درمان بیماری مطرح بوده‌اند [۴].

<sup>1</sup> Most common cause of death

<sup>2</sup> Most common cause of Blood stream infection

اسانس بود. پس از جمع‌آوری گیاهان (که عمدتاً در فصل بهار صورت پذیرفت) و خشک کردن آنها، شناسایی گیاهان زیر نظر کارشناس هباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه شهیدبهشتی صورت پذیرفت.

جدول شماره ۱ لیست گیاهان انتخاب شده و نوع بافت مورد استفاده در آزمایش را نشان می‌دهد. جمع‌آوری گیاهان موردنظر از منطقه طالقان، منطقه الموت و مرکز پرورش گیاهان دارویی دانشگاه شاهد، عطاری‌های معتر و شرکت باریج

جدول شماره ۱ - لیست گیاهان انتخاب شده جهت انجام آزمایش

نام گیاه	نام علمی	نوع بافت
ابوخلسae	<i>Arnebia euchroma</i>	ریشه
آنغوزه	<i>Ferula assa-foetida</i>	صمغ
اکلیل کوهی	<i>Rosmarinus officinalis</i>	اندام هوایی
اسفرزه	<i>Plantago ovata</i>	بذر
اکالیپتوس	<i>Eucalyptus globulus</i>	برگ
اسطوخودوس	<i>Lavandula angustifolia</i>	اندام هوایی
انیسون	<i>Pimpinella anisum</i>	بذر
آویشن شیرازی	<i>Zataria multiflora</i>	اندام هوایی
آویشن کوهی	<i>Thymus kotschanus</i>	اندام هوایی
بابا آدم	<i>Arctium lappa</i>	اندام هوایی
بارهنهگ	<i>Plantago major</i>	اندام هوایی
بابونه	<i>Matricaria chamomilla</i>	اندام هوایی
بادرنجبویه	<i>Melissa officinalis</i>	اندام هوایی
بومادران	<i>Achillea millefolium</i>	اندام هوایی
پای خر	<i>Tussilago farfara</i>	اندام هوایی
پنیرک	<i>Malva sylvestris</i>	اندام هوایی
تمشک	<i>Rubus caesius</i>	میوه
ترتیزک و حشی	<i>Lepidium latifolium</i>	اندام هوایی
خارخاسک	<i>Tribulus terrestris</i>	اندام هوایی
خارمقدس	<i>Cnicus benedictus</i>	اندام هوایی
خاکشی	<i>Descurainia sophia</i>	اندام هوایی
خلر	<i>Lathyrus vernus</i>	بذر
ختمنی	<i>Althaea officinalis</i>	گل
چای کوهی	<i>Stachy lavandulifolia</i>	اندام هوایی
رازیانه	<i>Foeniculum vulgare</i>	بذر
زرشک و حشی	<i>Berberis vulgaris</i>	گل و میوه
زیره سبز	<i>Cuminum cyminum</i>	بذر
سیاهدانه	<i>Nigella sativa</i>	بذر

## ادامه جدول شماره ۱ - لیست گیاهان انتخاب شده جهت انجام آزمایش

نام گیاه	نام علمی	نوع بافت
سنجد	<i>Elaeagnus angustifolia</i>	برگ
شیرین‌بیان	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	اندام هوایی
شنبلیله	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	اندام هوایی
شوید	<i>Anethum graveolens</i>	بذر
سداب	<i>Ruta graveolens</i>	اندام هوایی
درمنه	<i>Artemisia sieberi</i>	اندام هوایی
کاکوتی	<i>Ziziphora tenuir</i>	اندام هوایی
کنگر	<i>Gundelia tourneforti</i>	بذر
کیسه کشیش	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	اندام هوایی
کدو	<i>Cucurbita pepo</i>	بذر
کاسنی	<i>Cichorium intybus</i>	بذر
گلپر	<i>Heracleum Persicum</i>	بذر
گیلاس	<i>Cerasus avium</i>	صمغ
گلرنگ	<i>Carthamus Tinctorius</i>	اندام هوایی
گشنیز	<i>Coriandrum sativum</i>	بذر
گاو زبان	<i>Echium amoenum</i>	اندام هوایی
لیمو ترش	<i>Citrus aurantifolia</i>	میوه
مرزه	<i>Satureia hortensis</i>	اندام هوایی
ماری‌تیغال	<i>Silybum marianum</i>	اندام هوایی
مورد	<i>Myrtus communis</i>	اندام هوایی
نعمان	<i>Mentha spicata</i>	اندام هوایی
بونجه	<i>Medicago sativa</i>	اندام هوایی

جهت ذخیره‌سازی انسانس، یک شیشه رنگی کوچک را توزین کرده و وزن با درپوش آن را یادداشت نموده و انسانس را در شیشه رنگی جمع‌آوری و تا زمان استفاده داخل یخچال قرار داده شد [۶]. لازم به ذکر است که عملیات انسانس‌گیری بر روی گیاهانی صورت پذیرفت که دارای میزان کافی انسانس در حد تجاری بودند.

## روش تهیه انسانس

تهیه انسانس به روش تقطیر با آب<sup>۱</sup> انجام گرفت [۶]. مقدار ۱۰۰ گرم از سرشاره‌های خشک و پاک شده گیاهان جمع‌آوری شده را با استفاده از آسیاب برقی خرد و گیاه پودر شده را به داخل بالن ژوژه دستگاه انسانس‌گیری (کلونجر مدل دارونامه بریتانیا) ریخته و به آن ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جریان آب سرد مبرد را برقرار کرده و بالن ژوژه را درون هیتر برقی دستگاه جا داده و دستگاه را روشن نموده و اجازه داده شد تا مدت دو ساعت فرایند تقطیر انجام شود. بعد از دو ساعت، هیتر دستگاه خاموش شده و حجم انسانس جمع شده با کمک درجات روی بورت دستگاه، مشخص و یادداشت شد.

## روش تهیه عصاره‌ها

الف: روش تهیه عصاره اتانلی و استونی عصاره‌گیری به روش خیساندن<sup>۱</sup> و با استفاده از حلال‌های اتانل و استون انجام گرفت [۵,۶]. مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه پس

<sup>۱</sup> Maceration<sup>۱</sup> Hydrodistillation

به کدورت معادل نیم مک فارلن (cfu/ml)  $10^6 \times 5 - 10^6 \times 1$ ) با استفاده از سوآب پنبه‌ای استریل، سطح پلیت‌ها را به طور یکنواخت تلقیح نموده و از هر انسس و عصاره مورد آزمایش مقدار ۳۰ میکرولیتر روی دیسک‌های بلانک که وسط پلیت گذاشته شده بود، ریخته شد. پلیت‌ها را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ سانتی‌گراد در داخل گرمانخانه قرار داده شد و پس از گذشت زمان موردنظر، تشکیل منطقه عدم رشد در پیرامون دیسک‌ها مورد بررسی قرار گرفت و قطر منطقه عدم رشد قارچ با خط کش اندازه‌گیری شد [۶، ۷]. نتایج حاصل نیز پس از مقایسه با جدول استاندارد (جدول شماره ۲) در جداول مربوطه ثبت شد.

جهت آزمایش کترول مثبت نیز از دیسک‌های سه داروی آمفوتیریسین B (۱۰ میکروگرم)، نیستاتین (۵۰ میکروگرم) و کتوکونازول (۱۵ میکروگرم)، خریداری شده از شرکت انگلیسی Master Group Ltd و بر اساس روش کار NCCLS و جدول ارائه شده از سوی شرکت مذکور (جدول شماره ۲) استفاده شد. در انتهای کلیه آزمایش‌ها حداقل سه بار تکرار شده و میانگین نتایج در جداول مربوطه ثبت شد.

## نتایج

در طی آزمایش حساسیت کیفی داروهای ضدقارچ شیمیایی آمفوتیریسین B، کتوکونازول و نیستاتین با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد به ترتیب ۱۶، ۳۳ و ۲۵ میلی‌متر علیه سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس به دست آمد.

بر اساس آنچه که در جدول شماره ۲ جهت تعیین حساسیت سوش‌های کاندیدا ارائه شده است (شرکت Master) و با توجه به نتایج به دست آمده مشخص شد که سوش استاندارد کاندیدا آلبیکنس ۵۰۲۷ PTCC (ATCC ۱۰۲۳۱) نسبت به هر سه دارو حساس می‌باشد.

همچنین نتایج ذیل براساس آزمایش‌های انجام گرفته بر روی عصاره‌ها و انسس گیاهان مورد آزمایش به دست آمد. جدول شماره ۳ نشان می‌دهد که گیاهان: ابوقحلساء، اسفرزه، بابا‌آدم، بارهنگ، بابونه، بادرنجبوته، بومادران، پای خر،

از آسیاب کردن درون ظروف عصاره‌گیری ریخته شده و به میزان ۴ برابر وزن گیاه حلال استون (۱۰۰ درصد) و یا اتانول (۸۰ درصد) اضافه شده و مدت ۳ الی ۴ روز بر روی شیکر در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. سپس محلول به دست آمده توسط کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شده و درون بن ماری ۶۵ - ۶۰ درجه سانتی‌گراد جهت تبخیر حلال قرار داده شد. عمل تغییظ تا رسیدن به حدود ۵ درصد مقدار اولیه هر عصاره ادامه یافت [۶].

### ب: روش تهیه عصاره آبی

مقدار لازم از گیاه آسیاب شده (۱۰۰ گرم) را داخل ظرف عصاره‌گیری ریخته و ۴ برابر آن آب مقطر اضافه شد. ظرف موردنظر روی حرارت ملايم قرار گرفته و دائمًا مخلوط شده تا اولین نشانه‌های جوشیدن دیده شود. پس از جوشاندن محلول به مدت ۱۵ دقیقه صاف شده (کاغذ صافی واتمن ۴۲) و با استفاده از دستگاه لیوفلیزاتور به مدت ۹۶ ساعت در دمای منهای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و ۰/۰۴ mbar لیوفلیزه شد [۶]. لازم به ذکر است که برای تهیه محلول کار از حلالمای ۲ درصد Dimethyl Sulfoxide (شرکت مرک) جهت انسس Tween ۲۰ و از آب مقطر جهت عصاره اتانلی و آبی و از ۲۰ درصد (شرکت مرک) برای عصاره استونی استفاده شد. در پایان تمامی محلول‌های به دست آمده از صافی استریل کننده (۰/۰۲ میکرومتر) عبور داده شد.

ضمناً جهت جلوگیری از تاثیر عوامل مخدوش‌کننده در تحقیق، بی‌تأثیر بودن حلالمای در غلاظت‌های به کار گرفته شده بر روی سویه قارچ مورد آزمایش قرار گرفت. لازم به ذکر است که انواع عصاره‌گیری (اعم از آبی الکلی و استونی) از گیاهان انتخاب شده بر اساس یکسری مشورت با اعضای تحقیق صورت گرفت.

### روش کار

#### آزمایش دیسک‌گذاری

اصول کار در این آزمایش بر اساس روش استاندارد NCCLS انجام پذیرفت [۷]. ابتدا از سوسپانسیون تهیه شده از کشت تازه کاندیدا آلبیکنس ۴۸ - ۲۴ ساعته در سرم فیزیولوژی یا آب مقطر



شیمیایی در حیطه  $p < 0.05$  مشاهده نشد (قطر هاله توقف رشد بین ۳۰ - ۳۵ میلی‌متر). لذا چنین نتیجه‌گیری می‌شود که گیاهان موردنظر دارای مواد موثری می‌باشند که توانایی ممانعت از رشد کاندیدا آلبیکنس را در حد سه داروی ضدقارچی آمفوتریسین B، کتوکونازول و نیستاتین دارند.

همچنین اسانس گیاهان اکالیپتوس، انیسون، رازیانه و گلپر اثرات ضدکاندیدایی متوسطی (قطر هاله توقف رشد  $20 - 25$  میلی‌متر) از خود نشان دادند ( $p < 0.05$ ).

اسانس گیاه لیموترش اثرات ضدکاندیدایی ضعیفی داشته (قطر هاله توقف رشد زیر ۱۰ میلی‌متر) و اسانس گیاهان باونه و بومادران فاقد هر گونه اثر ضدکاندیدایی ارزیابی شدند.

اما در رابطه با عصاره‌ها نتایج این تحقیق نشان داد که اثرات ضدکاندیدایی عصاره‌ها نسبت به اسانس‌ها در یک گیاه یا اصلاً دیده نشد و یا در حد ضعیفتری نسبت به اثر اسانس گیاه ارزیابی شد (جدول شماره ۳).

ترتیزک وحشی، تمشک، خارمقدس، خاکشی، خارخاسگ، ختمی، چای کوهی، زرشک وحشی، سنجد، سداب، شوید، شیرین‌بیان، شبیله، کاکوتی، کنگر، کیسه کشیش، کاسنی، کدو، گازبان، صمع گیلاس، گشنیز، گلنگ، ماری تیغال، یونجه، خلر، پنیرک فاقد هر گونه اثرات ضدقارچی قابل توجه بر علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس بودند.

گیاهان آنگوزه و لیموترش نیز اثرات ضعیفی بر علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس از خود نشان دادند.

اما نتایج حاصل از آنالیز آماری در آزمایش دیسک دیفیوژن نشان داد که گیاهان اسطوخودوس، آویشن شیرازی، آویشن کوهی، درمنه، زیره سبز، مرزه و نعناع دارای اثرات ضدکاندیدایی قوی‌تری (قطر هاله توقف رشد بیش از ۴۰ میلی‌متر) نسبت به داروهای ضدقارچ شیمیایی به کار رفته در این تحقیق می‌باشند ( $p < 0.05$ ).

از طرفی تفاوت معنی‌داری بین اثرات ضدکاندیدایی گیاهان اکلیل کوهی، سیاهدانه و مورد با داروهای ضدقارچ

جدول شماره ۲ - تعیین میزان حساسیت سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس به داروهای ضدقارچی در آزمایش دیسک دیفیوژن بر اساس روش NCCLS (Master Group Ltd شرکت)

دارو (میکروگرم / میلی‌لیتر)	قطر هاله حساس	وابسته به دوز	مقاآم
آمفوتریسین B	$\geq 15$	۱۰-۱۴	$\leq 10$
کتوکونازول	$\geq 28$	۲۱-۲۷	$\leq 20$
نیستاتین	$\geq 15$	۱۰-۱۴	بدون هاله

جدول شماره ۳ - نتایج حاصل از آزمایش دیسک‌گذاری اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان مورد مطالعه بر علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس (قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر)

اسانس (میلی‌متر)	عصاره (میلی‌متر)	عصاره آتانلی (میلی‌متر)	عصاره آبی (میلی‌متر)	نام علمی	نام ماده	نام گیاه
*	۲۰	۱۵	-	<i>Ferula assa-foetida</i>		آنگوزه
۵۵	۳۵	۳۰	-	<i>Zataria multiflora</i>		آویشن شیرازی
۵۵	-	۱۰	-	<i>Thymus kotschyanus</i>		آویشن کوهی
۴۵	*	*	-	<i>Lavandula angustifolia</i>		اسطوخودوس
۲۳	*	*	-	<i>Eucalyptus globulus</i>		اکالیپتوس

## ادامه جدول شماره ۳ - نتایج حاصل از آزمایش دیسک گذاری اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان مورد مطالعه بر علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس

(قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر)

اسانس (میلی‌متر)	عصاره استونی (میلی‌متر)	عصاره آبی (میلی‌متر)	عصاره اتانلی (میلی‌متر)	نام علمی	نام گیاه	ماده
۳۰	*	*	-	<i>Rosmarinus officinalis</i>	اکلیل کوهی	
۲۵	-	-	-	<i>Pimpinella anisum</i>	انیsson	
۴۰	-	-	-	<i>Artemisia sieberi</i>	درمنه	
۲۵	-	-	-	<i>Foeniculum vulgare</i>	رازیانه	
۴۵	*	-	-	<i>Cuminum cyminum</i>	زیره‌ی سبز	
۳۵	*	*	*	<i>Nigella sativa</i>	سیاه دانه	
۲۲	*	۱۸	-	<i>Heracleum Persicum</i>	گلپر	
۸	*	*	-	<i>Citrus aurantifolia</i>	لیمو ترش	
۵۵	-	-	-	<i>Satureia hortensis</i>	مرزه	
۲۲	*	*	-	<i>Myrtus communis</i>	مورد	
۴۰	*	*	-	<i>Mentha spicata</i>	عنان	

(-) بدون اثر و فاقد هاله رشد.

\* براساس یک سری اطلاعات اولیه آزمایش انجام داده نشد.

ثبت ارزیابی شده است. به عنوان مثال اثرات ضدبacterیایی و ضدپیروسی و ضدقارچی گیاهانی نظیر اسطوخودوس، آویشن شیرازی، آویشن کوهی، اکلیل کوهی، سیاه دانه، درمنه مورد بررسی قرار گرفته شده است [۱۴-۸].

در تحقیق حاضر نیز در طی یک مطالعه میدانی دو ساله بر روی کتب طب سنتی و گیاهان دارویی، تعداد ۵۰ گیاه انتخاب شده و اثرات ضدکاندیدایی اسانس و عصاره آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. هر چند که تا به حال چندین مطالعه در مورد اثرات ضدقارچی و ضدمیکروبی گیاهان دارویی انجام شده است ولی مطالعه‌ای با این وسعت و به طور مقایسه‌ای با یکدیگر و نیز با داروهای شیمیایی بر روی کاندیدا آلبیکنس مشاهده نشده است.

بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق که در جدول شماره ۳ آورده شده است، اثرات ضدکاندیدایی یک سری از این گیاهان ثبت ارزیابی شد. نتایج این بررسی نشان داد که یک سری از گیاهان مورد آزمایش می‌توانند دارای مواد ضدمیکروبی و ضدقارچی در شرایط *In Vitro* باشند. در طی مقایسه کیفی بین اثرات ضدکاندیدایی این گیاهان با سه دارویی شیمیایی آمفوتیریسین B، کتوکونازول و نیستاتین (بر اساس

به عنوان مثال اثرات ضدکاندیدایی عصاره اتانلی و استونی آویشن شیرازی نسبت به اسانس آن ضعیفتر بود. هرچند که نسبت به اسانس سایر گیاهان در حد قوی تری ارزیابی شد.

همچنین اثرات ضدکاندیدایی عصاره اتانلی و استونی گیاه آنگوزه و عصاره اتانلی گیاه گلپر در حد ضعیفی دیده شد.

## بحث و نتیجه‌گیری

در دهه‌های اخیر عفونت‌های ناشی از قارچ‌های فرصت‌طلبی نظیر مخمر کاندیدا (توسط گونه‌های مختلف آن و به طور عمده کاندیدا آلبیکنس) افزایش چشمگیری یافته‌اند. وجود محدودیت‌هایی همچون تعداد کم داروهای ضدقارچی مؤثر بر گونه‌های کاندیدا، سمی بودن آنها برای سلول‌های بدن انسان و کاهش حساسیت یکسری از گونه‌های کاندیدایی به این داروها، همواره به عنوان مضادات اساسی در درمان بیماری کاندیدیازیس مطرح بوده و هستند. لذا چنین عواملی سبب شده تا توجه پژوهش گران به جستجو در ارتباط با داروهای ضدقارچی جدید، خصوصاً گیاهان دارویی معطوف شود.

در مطالعات انجام شده در داخل و خارج کشور اثرات ضدمیکروبی و بعض‌اً ضدقارچی یک سری از گیاهان دارویی



لذا چنین به نظر می‌رسد که تحقیق بر روی این تیره از گیاهان و مواد موثره آنها جهت به دست آوردن ترکیبات جدید ضدمیکروبی و ضدقارچی، خصوصاً گونه‌های کاندیدایا ضروری باشد. در تحقیق حاضر گیاهان اسطوخودوس، آویشن شیرازی، آویشن کوهی، نعناع، اکلیل کوهی که اثرات خوبی از خود نشان دادند، متعلق به این خانواده می‌باشند.

در تحقیقات به عمل آمده توسط یک سری از محققان اثرات ضدافسردگی، ضدمیکروب، ضدغونه‌کننده و قاعدگی‌آوری گیاه اسطوخودوس به عنوان مهم‌ترین اثرات آن گزارش شده است [۱۵]. در تحقیق حاضر نیز اثرات ضدکاندیدایی گیاه اسطوخودوس نسبت به داروهای شیمیایی به کار رفته بسیار خوب و قوی ارزیابی شد (قطر هاله عدم رشد ۴۵ میلی‌متر). این اختلاف در مقایسه با آمفوتیریسین B، کتوکونازول  $p < 0.002$  و نیستاتین  $p < 0.02$  به نفع انسانس به دست آمد.

در دو تحقیق جداگانه توسط حقیقی و زارعی، اثرات ضدمیکروبی عصاره متانلی و اتانلی آویشن شیرازی به طور موثری مشاهده شده است [۹، ۱۰].

در تحقیق ما نیز انسانس آویشن شیرازی و عصاره‌های آن به ترتیب دارای اثرات ضدکاندیدایی بسیار قوی (قطر هاله عدم رشد ۵۵ میلی‌متر) و قوی (اتانلی ۳۰ میلی‌متر و استونی ۳۵ میلی‌متر) بودند. از نظر آماری اثرات انسانس به مراتب بیشتر از عصاره‌ها ارزیابی شد. به طوری که اثرات انسانس در مقایسه با آمفوتیریسین B کتوکونازول  $p < 0.003$  و نیستاتین  $p < 0.002$  بود.

همچنین انسانس آویشن کوهی<sup>۱</sup> نیز اثرات ضدکاندیدایی قوی در حد آویشن شیرازی از خود نشان داد. آویشن کوهی گیاهی است که در نقاط مختلف کشور به فراوانی یافت می‌شود. لذا با استفاده توام آن با آویشن شیرازی می‌توان از اثرات سینرژیستی آن بهره جست (قطر هاله عدم رشد ۵۵ میلی‌متر).

از سوی دیگر مصرف بیش از اندازه یک گونه گیاه دارویی توسط مردم در طبیعت می‌تواند منجر به کمبود و یا حتی انقراض آن گونه گیاهی شود لذا جستجو در رابطه با

جدول شماره ۲ تعیین حساسیت (NCCLS) مشخص نمود که گیاهان اسطوخودوس، آویشن شیرازی، آویشن کوهی، درمنه، زیره سبز، مرزه و نعناع دارای اثرات ضدکاندیدایی بسیار قوی می‌باشند. لذا شایسته است تا با صرف وقت و هزینه مناسب به بررسی و تأمل بیشتر بر روی گیاهان مورد نظر پرداخته تا بتوانیم به کشف مواد موثره و نحوه مکانیسم عمل آنها نایل شویم.

همچنین انسانس گیاهان اکلیل کوهی، سیاهدانه، مورد و عصاره اتانولی و استونی آویشن شیرازی اثرات ضدکاندیدایی قوی از خود نشان دادند که با انجام تحقیقات بیشتر می‌توان به نتایج مطلوبی در زمینه داروهای ضدقارچی با منشای گیاهی دست یافت (قطر هاله عدم رشد ۳۰ تا ۳۵ میلی‌متر).

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق به نظر می‌رسد که انسانس گیاهان اکالیپتوس، گلپر، انسیون و رازیانه در مقایسه با داروهای ضدقارچ شیمیایی دارای اثرات ضدکاندیدایی متوسطی باشند.

از طرفی نیز اثرات ضدکاندیدایی انسانس لیموترش و عصاره اتانولی و استونی آنفووزه و عصاره اتانولی آویشن کوهی در حد ضعیف ارزیابی شد.

این تحقیق نشان داد که در گیاهان دارای انسانس، اثرات ضدکاندیدایی عصاره‌ها نسبت به انسانس یا اصلأ وجود ندارد و یا در حد ضعیف‌تری می‌باشد. البته برخلاف سایر گیاهان مورد آزمایش، اثرات ضدکاندیدایی انسانس، عصاره‌های اتانلی و استونی آویشن شیرازی درخور توجه بود.

نکته قابل توجه اینکه، تعداد قابل توجه از گیاهان دارای اثرات بسیار قوی و قوی علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس متعلق به گیاهان تیره‌ی نعناعیان<sup>۱</sup> می‌باشد.

لازم به ذکر است تیره نعناعیان از تنوع بسیاری برخوردار بوده و بسیاری از گونه‌های آن بومی کشور ما بوده و با توجه به شرایط اقلیمی کشور در اکثر نقاط به خوبی قابل کشت می‌باشند. نکته در خور توجه اینکه اکثر مردم ما با گیاهان این تیره آشنا بوده و به میزان زیادی در طب سنتی و گیاه درمانی به اشکال مختلف اعم از خوارکی، پماد، لوسيون و ... مصرف می‌کنند.

<sup>1</sup> *Thymus kotschyanus*

<sup>1</sup> Labiateae



بیماری کاندیدیازیس مصرف دارند، به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. نظر به اینکه به طور کلی استفاده از گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی ارزان‌تر تمام شده و عوارض جانبی کمتری دارند، لذا ضروری است تا با بررسی بیشتر بر روی این گیاهان و خالص‌سازی و بهبود روش‌های استخراج و تعیین ماده MFC مؤثره آنها و انجام آزمایش‌های تکمیلی نظیر MIC و

بتوانیم در آینده به نتایج خوبی دست یابیم.

شایان توجه است که در طی چند سال اخیر گزارش‌های زیادی مبنی بر مقاومت یک سری از گونه‌های کاندیدا به داروهای ضدقارچی شیمیایی، خصوصاً گونه‌های غیرآلیکنس شده که می‌بایست جهت مقابله با آن تدابیری اندیشیده شود. لذا انجام تحقیقات تکمیلی بر روی گیاهان بررسی شده در این تحقیق و نیز مواد موثره آنها می‌تواند در این زمینه راه‌گشا باشد.

## پیشنهادات

امروزه بیماری‌های قارچی و در رأس آنها کاندیدیازیس نسبت به گذشته شایع‌تر شده‌اند. افرون بر این کمبود داروهای مناسب جهت درمان و پیشگیری از این بیماری ما را ملزم به تحقیقات گسترده در زمینه کشف و یافتن راه‌های جدید درمانی می‌نماید. در این راستا استفاده از داروهای گیاهی می‌تواند به عنوان یک آلترناتیو در کنار داروهای شیمیایی و یا حتی به تنهایی مطرح باشد. لذا پیشنهاد می‌شود:

- با توجه به نتایج خوب به دست آمده از این تحقیق مطالعات تکمیلی نظر تعیین MIC و MFC هر گیاه صورت گیرد.
- اثرات ضدکاندیدایی هریک از گیاهان مورد مطالعه بر روی تعدادی از نمونه‌های بالینی (خصوصاً گونه‌های مقاوم به داروی فلوکونازول) بررسی شود.
- اثرات ضدکاندیدایی هریک از گیاهان مورد مطالعه بر روی گونه‌های استاندارد سایر کاندیداها بررسی شود.
- اثرات ضدقارچی هریک از گیاهانی که دارای اثرات قوی بودند علیه سایر گونه‌های قارچی بررسی شود.

گیاهان با اثرات مشابه می‌تواند از بروز چنین مشکلاتی جلوگیری نماید. نکته آخر اینکه با توجه روند ایجاد مقاومت دارویی که در طی زمان در سوش‌های کاندیدایی (نظیر کاندیدا گلابراتا) به وجود می‌آید، نیاز به داروهای متنوع و جانشین‌شونده همیشه احساس می‌شود.

تونس<sup>1</sup> و همکاران اثرات ضدحشرات انسانس زیره را قوی ارزیابی کردند [۱۶]. در مطالعه مانیز اثرات ضدکاندیدایی این گیاه بعد از آویشن شیرازی و آویشن کوهی، بسیار قوی ارزیابی شد (قطر هاله عدم رشد ۴۵ میلی‌متر).

در طی مطالعات جداگانه فزانه و نگهبان بر روی انسان درمنه اثرات ضدقارچی و ضدحشرات آن بر روی قارچ فوزاریوم و حشرات قوی گزارش شده است [۱۷، ۱۸].

بر طبق مطالعات انجام شده بر روی گیاه مرزه اثرات مختلفی اعم از اثرات ضددردی، ضدسرطانی، ضدویروس تبخال، ضدباکتری و آنتی‌اسیدان برای این گیاه قائل شده‌اند [۱۵]. در مطالعه مانیز اثرات ضدکاندیدایی این گیاه بسیار قوی دیده شد. به طوری که اثرات آن در حد آویشن شیرازی و آویشن کوهی بود (قطر هاله عدم رشد ۵۵ میلی‌متر). از نظر آماری نیز این اختلاف معنی‌دار بوده و در مقام مقایسه با آمفوتریسین B، کتوکونازول و نیستانین به ترتیب  $p < 0.001$ ,  $p < 0.002$ ,  $p < 0.003$  به نفع انسانس به دست آمد.

صالحی سورمه‌ی برای نعناع اثراتی همچون خاصیت ضدغ Fonی کنندگی، ضدمیکروب، ضدنفخ و ضداسپاسم را گزارش داده است [۱۵]. در تحقیق حاضر نیز اثرات ضدکاندیدایی انسانس این گیاه بسیار قابل توجه بوده که می‌تواند ناشی از ماده کارون که ۸۷ درصد انسانس آن را تشکیل می‌دهد باشد (قطر هاله عدم رشد ۴۰ میلی‌متر).

همچنین انسانس گیاهان اکلیل کوهی، سیاهدانه و مورد دارای اثرات ضدکاندیدایی قوی بر علیه سوش استاندارد ۵۰۲۷ بودند که قابل تامیل بوده و نیازمند تحقیقات بیشتر می‌باشد (قطر هاله توقف رشد بین ۳۵ - ۳۰ میلی‌متر).

در این تحقیق همچنین از سه داروی شیمیایی ضدقارچی کتوکونازول، نیستانین و آمفوتریسین B که جهت درمان

<sup>1</sup> Tunc



تشکر و قدردانی

از آنجایی که بودجه‌بندی این تحقیق از سوی مرکز

منابع

1. Maryin GS, Mannino DM. The epidemiology of sepsis in the united states from 1979-2000, *New Engl J Med.* 2003; 348: 1547 - 54.
  2. Anaissie E, McGinnis M, Pfda M. Clinical Mycology: 1<sup>st</sup> Ed. The Curtis Center, Independence Square West Philadelphia, USA,: 2003, 443 - 448, 195 - 225.
  3. Singh N. Trends in the epidemiology of opportunistic fungal, *Clin. Infect. Dis.* 2001; 33: 1692 - 6.
  4. Calderone RA. Candida and Candidiasis. A. S. M Press, 1752N St. NW, Washington, DC20036-2904, USA, 2002: 349 - 73.
  5. Sayyah M. Moaied S. Kamalinejad M. Anticonvulsant activity of Heracleum persicum seed, *J. Ethnopharmacol.* 2005, Apr 8; 98 (1 - 2): 209 - 11.
  6. Shareyat SH. Qualative and Quantitive Evaluation of the active Constituents and Control Methods for Medicinal Plants. 1 edition, Mani Pub. Esfahan, 1376, pp: 10 - 27.
  7. Espinel-Ingroff, AV, Pfaller, MA. Susceptibility test methods; yeasts and filamentous fungi. In: Manual of clinical microbiology, 9th ed, Murray, PR, et al (Eds), ASM Press, Washington, DC 2007, pp: 1972.
  8. Rasooli I, Mirmostafa SA. Bacterial susceptibility to and chemical composition of Essential oils from thymus kostschyanus and thymus persicus. *J. Agric Food Chem.* 2003; 51: 2200 - 5.
  9. Shahidi Bonjar GH. Antibacterial screening of plants used in Iranian folkloric medicine,
  - Fitoterapia 2004; 75: 231 - 5.
  10. Zarei A, Dabbagh M, Fouladi Z. In-vitro anti-candida activity of *Zataria multiflora* Boiss. *eCAM* 2006; 1 - 3.
  11. Costentino S, Tuberoso C.; Pisano B.; Satta, M. In-vitro antimicrobial avtivity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Applied Microbiol.* 1999; 29: 130 - 5.
  12. Nariman F. Eftekhar F., Habibi Z.; Falsafi T. Anti-Helicobactor pylori activities of six Iranian plants. *Helicobacter* 2004; 9 (2): 146 - 51.
  13. Letessier M.P, Walters D.R. Antifungal activity of the Essential oil of Hyssop. *J. of Phytopathol.* 2001; 149 (11 - 12): 673 - 8.
  14. Negahban M; Moharramipour, S; Sefidkon, Fumigant toxicity of essential oil from Artemisia sieberi Besser against three stored-product insects. *J. Stored Product R.* 2007; 43: 123 - 8.
  15. Salehi Surmaghi H. Medicinal plants and phytotherapy. Donyae Taghazie, Tehran, Iran, 2006, pp: 59 - 63, 359 - 366.
  16. Tunc I. et al. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-pduct insects. *J. Stored Product R.* 2000; 36: 161 - 8.
  17. Farzaneh M. et al. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of Artemisia on some soil-borne phytopathogens – commun *Agric. Apple Biol Sci.* 2006; 71 (3 pt B): 1327 - 33.
  18. Negahban M; Moharramipour, S; Sefidkon, Fumigant toxicity of essential oil from Artemisia sieberi Besser against three stored-product insects. *J. Stored Product R.* 2007; 43: 123 - 8.