

بررسی اثر ضدکاندیدایی گیاه خوشاریزه (*Echinophora platyloba*) بر مخمر کاندیدا آلیکانس در مقایسه با آمفوتریسین

محدثه محبوبی^۱، مجید آویژگان^{۲*}، مهدی دارابی^۳، نازیلا کسائی^۴

۱- کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، بخش میکروب‌شناسی شرکت داروسازی باریج اسانس، کاشان
 ۲- استاد، گروه بیماری‌های عفونی و گرمسیری، مرکز پژوهش‌های طب سنتی ایرانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان
 ۳- دکتری داروسازی، بخش تحقیق و توسعه شرکت داروسازی باریج اسانس، کاشان
 ۴- کارشناسی، گروه علوم تغذیه، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان

* آدرس مکاتبه: اصفهان، بیمارستان الزهرا، صندوق پستی: ۷۹۵
 تلفن: ۰۹۱۳۱۸۱۸۰۸۵، شماره: ۶۶۸۴۵۱۰ (۰۳۱۱)
 پست الکترونیک: avijgan@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۷/۱۰/۲۳

تاریخ دریافت: ۸۶/۹/۶

چکیده

مقدمه: با افزایش روز افزون مصرف گیاهان دارویی در درمان طبی، این شاخه از طب مکمل، جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری‌ها پیدا کرده است.

هدف: هدف از این مطالعه، بررسی اثربخشی عصاره گیاه خوشاریزه به تنهایی، در مقایسه با آمفوتریسین B و بررسی اثرات سینرژیسمی آن با آمفوتریسین B بر روی مخمر کاندیدا آلیکانس در شرایط آزمایشگاه است.

روش بررسی: گیاه در فصل رویش از منطقه شهرکرد جمع‌آوری و به روش پرکولاسیون، عصاره آبی و اتانولی ۴ و ۱۱ درصد آن تهیه شد. اثرات ضدکاندیدایی اسانس، عصاره اتانولی و آبی خوشاریزه و آنتی‌بیوتیک آمفوتریسین B با استفاده از روش انتشار در آگار و رقت‌سازی در محیط مایع (میکروبراث دایلوژن)، تعیین شد. به منظور تعیین اثر سینرژیسمی عصاره اتانولی خوشاریزه با آمفوتریسین B، از آنتی‌بیوتیک در محدوده $0.125 \mu\text{g ml}^{-1}$ - $16 \mu\text{g ml}^{-1}$ رقت تهیه شد و به هر رقت 0.78 mg ml^{-1} عصاره اتانولی خوشاریزه افزوده و میزان حداقل غلظت مهارکنندگی رشد^۱ و حداقل غلظت کشندگی رشد^۲ با استفاده از روش میکرو براث دایلوژن تعیین شد.

نتایج: مقدار MIC، MLC، آمفو تریسین B بر کاندیدا آلیکانس به ترتیب برابر با $8 \mu\text{g ml}^{-1}$ و ۲ به دست آمد در حالی که این مقدار برای عصاره اتانولی خوشاریزه برابر با 3125 mg ml^{-1} و 1560 است. مطالعه اثر سینرژیسمی آمفوتریسین B با عصاره اتانولی خوشاریزه نشان می‌دهد که میزان MIC، MLC، آمفو تریسین B به $2 \mu\text{g ml}^{-1}$ ، ۱ کاهش یافته است. هم‌چنین قطر هاله عدم رشد برای آمفو تریسین B، معادل ۱۸ میلی‌متر و برای عصاره اتانولی خوشاریزه ۵ درصد برابر با ۱۳ میلی‌متر و برای ترکیب هر دو ۲۲ میلی‌متر بوده است. عصاره آبی فاقد خاصیت ضد میکروبی است.

نتیجه‌گیری: آمفوتریسین B یک اثر قوی و کشنده علیه کاندیدا آلیکانس دارد. MIC عصاره اتانولی خوشاریزه ۵ درصد حدود ۷۸۰ بار و MLC حدود ۳۹۰ بار از آمفوتریسین B ضعیف‌تر است. ولی وقتی ترکیب از هر دو استفاده شود، MIC برای آمفوتریسین B، ۲ بار و MLC، ۴ بار قوی‌تر می‌شود.

کل واژگان: آمفوتریسین B، خوشاریزه، عصاره آبی، عصاره اتانولی، کاندیدا آلیکانس

^۱ MIC

^۲ MLC



مقدمه

گیاه درمانی در بیماری‌ها و به ویژه بیماری‌های عفونی در سال‌های اخیر روند رو به فزونی پیدا کرده است. میکروبیولوژیست‌های بالینی تمایل زیادی به استفاده از این داروها جهت درمان عفونت‌ها دارند، زیرا عوارض این داروها در مقایسه با داروهای شیمیایی به طور قابل ملاحظه‌ای پایین است [۱]. به طور تقریبی حدود ۵۰۰ هزار گونه گیاهی در جهان شناسایی شده است [۲] که از آن میان کمتر از هزار گونه به عنوان گیاه دارویی نام‌گذاری شده است [۳]. در حال حاضر حدود یک سوم تا نیمی از فراورده‌های موجود در کشور آمریکا دارای منشأ گیاهی می‌باشد [۴]. امروزه استفاده از تولیدات گیاهی در انگلستان افزایش یافته و مکمل‌های فراوانی به شکل سالم و بی‌خطر استخراج شده است [۵]. بررسی تاریخچه استفاده از گیاه درمانی از زمان‌های گذشته تا اواسط قرن بیستم، نشان‌دهنده افت مصرف گیاهان دارویی تا دهه ۱۹۴۰ و افزایش مجدد استفاده از آنها تا دهه ۱۹۸۰ می‌باشد [۶].

در مقام مقایسه با پیشرفت‌های به دست آمده در تولید و عرضه مواد دارویی، روند و آهنگ توسعه داروهای ضدقارچی به خصوص قبل از دهه ۱۹۸۰ بسیار آهسته بوده است. به همین علت نیز امروزه تنوع داروهای ضد عفونت‌های قارچی، بسیار کمتر و محدودتر از داروهای ضدباکتریایی است. با آغاز پیشرفت‌های وسیع درمانی از ابتدای دهه ۱۹۸۰ و متحول شدن علم پزشکی، نیاز به داروهای موثر ضدقارچی با عوارض جانبی کمتر، بیش از پیش احساس شد. به علاوه، با جهان‌گیر شدن بیماری ایدز، شیوع عفونت‌های حاصل از قارچ‌های پاتوژن و عفونت‌های قارچی فرصت‌طلب افزایش یافته و بیش از پیش نیاز به کشف داروهای جدید ضدقارچی احساس شود [۷]. یکی از این قارچ‌های فرصت‌طلب، مخمر کاندیدا آلبیکانس است.

داروهای شیمیایی عمدتاً با تقلید از فرمول داروهای گیاهی اما به صورت مصنوعی در آزمایشگاه‌های داروسازی تهیه می‌شوند، ولی اخیراً مشخص شده است در صورتی که برخی از انواع ترکیبات موجود در گیاهان که در آزمایشگاه‌ها

به صورت خالص تهیه می‌شوند، همراه با سایر ترکیبات موجود در گیاه به مصرف برسند، عوارض جانبی آنها از بین رفته و تنها اثرات مفید آن در شخص آشکار می‌شود [۸]. گیاه درمانی به عنوان یک طب مستقل یا در کنار طب غربی می‌تواند در درمان بیماری‌های قارچی، کمک‌کننده باشد. مثلاً در درمان تینای پوستی و نیز کاندیدیای تناسلی، عصاره گیاهی به نام *agastache* سبب تاثیر بیشتر داروهای شیمیایی شده است [۹].

یکی از گیاهان بومی ایران به نام خوشاریزه است. بررسی‌های قبلی نشان داده است که این گیاه دارای ترکیبات ساپونین و فلاونوئید و آلکالوئید بوده است [۱۰]. هم‌چنین یکی از مهم‌ترین ترکیبات ترپنی شناسایی شده در اسانس شامل ترانس - بتا - اوسیمین با ۶۷/۹ درصد می‌باشد [۱۱]. طی دو مطالعه آزمایشگاهی، عصاره گیاه خوشاریزه بر روی تعدادی درماتوفیت و نیز مخمر کاندیدا آلبیکانس تاثیر مناسبی داشته است [۱۲، ۱۳]. عصاره گیاه در غلظت ۳۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اثر مهار رشد بر روی کاندیدا آلبیکانس داشته است [۱۳]. هم‌چنین در مطالعه‌ای دیگر حداقل غلظت کشندگی عصاره هیدرو الکلی گیاه تا حدود ۱/۵ mg ml⁻¹ تعیین شد [۱۴].

به نظر می‌رسد انجام آزمایش در شرایط کنترل شده آزمایشگاه برای بیان نتایج قطعی ضروری است. با توجه به اینکه مخمر کاندیدا آلبیکانس در بیماران دارای ضعف ایمنی (مثل افراد مبتلا به ایدز و سرطان‌های مختلف) گاه با سپتی سمی کشنده همراه است؛ به علاوه در خانم‌ها یکی از عوامل مهم واژینیت‌های قارچی است که با داروهای فعلی مشکل ریشه‌کن می‌شود. براساس نتایج مطالعات قبلی [۱۲، ۱۳، ۱۴] بر آن شدیم که اثر عصاره گیاه خوشاریزه با نام علمی *Echinophora platyloba* بر مخمر کاندیدا آلبیکانس در شرایط *in vitro* بررسی شده تا نتایج حاصل از آن با اثر آمفوتریسین B بر این مخمر بررسی و مقایسه شود، تا در صورت تاثیر، فرآورده دارویی از آن به دست آید که در این صورت در جهت ریشه‌کنی بیماری‌های فوق کمک کننده باشد.



مواد و روش‌ها

گیاه دارویی خوشاریزه (جمع‌آوری، تهیه اسانس و عصاره)

گیاهانی خاردار یا بدون خار دارای گل‌هایی یک پایه می‌باشند. به طوری که اشعه خارجی چترها معمولاً دارای گل‌های نر ولی وسطی آنها گل‌های ماده دارند. میوه آنها استوانه‌ای است. جنس *Echinophora* L. معمولاً گیاهانی علفی بدون خار یا خاردار و دارای گل‌هایی به رنگ سفید مایل به زرد هستند. مجموعاً ۱۰ گونه دارند و پراکندگی آنها بیشتر در منطقه مدیترانه می‌باشد. ۱۰ گونه این گیاه به قرار زیر است: *E. tenuifolia*, *E. platyloba* D.C., *E. sibthorpiana* Guss., *E. anatolica* Boiss., *E. cinerea*, *E. vadias* Boiss., *E. orientalis* Hedge & Lamond, *E. tournefortii* Joub., *E. trichophylla* Sm., *E. spinosa*. گونه *Echinophora platyloba* D.C. به عنوان چاشنی

غذایی و معطر کردن مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۲، ۱۳، ۱۴]. این گونه با نام‌های محلی خوشاروز، خوشاریزه، تیغ توراغ و کشندر معروف است [۱۵]. تیغ توراغ بر ۱۰ گونه مشتمل است که تقریباً چهار گونه آن فقط اختصاص به ایران دارد. این گونه‌ها شامل *E. cinerea*، *E. sibthorpiana*، *E. orientalis* و *E. platyloba* می‌باشد [۱۶]. در این استان گیاه از اوایل شهریور تا اواسط مهر رشد کرده و آن‌گاه فصل به خواب رفتن را شروع می‌کند. به نظر می‌رسد که ارتفاع و درجه حرارت این استان در تغییر فصل ظهور این گیاه موثر باشد.

در این مطالعه از اندام‌های هوایی گیاه (ساقه، برگ، گل) استفاده شد. فصل جمع‌آوری نمونه فصل تابستان (شهریور و مهر) بوده، پس از جمع‌آوری و خشک کردن گیاه، از گیاه خشک، برای تهیه اسانس و عصاره استفاده شد. برای تهیه اسانس، از روش تقطیر با دستگاه کلونجر استفاده شد. همچنین از این نمونه گیاه، روغن‌گیری نیز صورت پذیرفت که برای تهیه روغن از حلال دی‌اتیلن اتر و دستگاه سوکسله استفاده شد.

در عصاره‌گیری، از روش پرکولاسیون استفاده شد که در این روش، عصاره اتانولی، عصاره آبی تهیه شد. عصاره حاصل به نسبت ۱:۱ جدا شد و میزان وزن ماده خشک ۵/۲ درصد تعیین شد. بخشی از این عصاره به صورت محلول اتانولی با وزن خشک ۵/۲ درصد مورد استفاده قرار گرفت و بخش دیگری از آن، خشک شد و عصاره خشک در اتانول ۷۰ تا

نقطه اشباع حل شد که با این شرایط وزن خشک محلول حاصله، ۱۱ درصد می‌باشد [۱۷].

سوش استاندارد میکروبی

جهت انجام مطالعات فوق از سوش استاندارد کاندیدا آلیکانس (*Candida albicans* ATCC10231) استفاده شد. این سوش به صورت لیوفیلیزه از مرکز مطالعات و تحقیقات بیوتکنولوژی ایران، تهیه شد؛ سپس بر روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت شده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو روز انکوبه شد.

تعیین خاصیت ضد کاندیدایی گیاه خوشاریزه با استفاده از روش انتشار در آگار

جهت بررسی اثر ضد میکروبی گیاه خوشاریزه بر مخمر کاندیدا آلیکانس از سابورو دکستروز آگار استفاده شد. کاندیدا آلیکانس را ۴۸ ساعت قبل از شروع آزمایش کشت داده و سپس ۳ - ۲ کلنی از آن را به سرم فیزیولوژی استریل افزوده و کدورت آن معادل ۰/۵ مک‌فارلند تنظیم شد (1×10^6 CFU ml⁻¹). از سوسپانسیون موردنظر با سواب استریل روی محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده، سپس از دیسک ۶/۴ میلی‌متری حاوی ۲۰ میکرولیتر عصاره، روغن و ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ میکرولیتر اسانس که در حلال دی‌متیل سولفوکساید حل شده استفاده شد. از دیسک آمفوتریسین B (۱۰۰ U/Disc) و دیسک حاوی دی‌متیل سولفوکساید به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری و قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۱۸].

تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) با استفاده از روش میکروبراث دایلوژن

حداقل غلظت مهار کننده رشد^۱ عصاره و اسانس خوشاریزه و آمفوتریسین B در برابر کاندیدا آلیکانس

^۱ MICs



روغن ۳/۶ درصد می‌باشد که از نظر اقتصادی، روغن‌گیری به صرفه نمی‌باشد.

این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره گیاه خوشاریزه، از آمفوتریسین B خاصیت ضدقارچی کمتری دارد، ولی افزودن عصاره گیاه خوشاریزه بر آمفوتریسین B، منجر به افزایش حساسیت مخمر می‌شود، در نتیجه هاله بزرگتری از ممانعت رشد (جدول شماره ۱) ایجاد می‌شود.

عصاره اتانولی خوشاریزه با وزن خشک ۵ درصد خاصیت ضدقارچی بیشتری در مقایسه با عصاره اتانولی خوشاریزه با وزن خشک ۴ درصد دارد ولی خاصیت ضدقارچی عصاره‌های اتانولی از عصاره آبی (فاقد خاصیت میکروبی) بسیار بیشتر است. هم‌چنین خاصیت ضدقارچی عصاره اتانولی خوشاریزه با وزن خشک ۵ درصد از عصاره اتانولی خوشاریزه با وزن خشک ۱۱ درصد بیشتر است.

میزان MIC، آمفوتریسین B در مجاورت عصاره خوشاریزه از $2 \mu\text{g ml}^{-1}$ به $1 \mu\text{g ml}^{-1}$ کاهش می‌یابد که این کاهش در میزان MLC نیز انعکاس می‌یابد و از میزان $8 \mu\text{g ml}^{-1}$ به $2 \mu\text{g ml}^{-1}$ می‌رسد.

اسانس خوشاریزه در غلظت $1 \mu\text{l ml}^{-1}$ از رشد کاندیدا آلیکانس جلوگیری می‌کند هم‌چنین MIC، MLC اسانس خوشاریزه با یکدیگر برابر است، این نشان می‌دهد اسانس خوشاریزه بر کاندیدا آلیکانس اثر قارچ‌کشی^۱ دارد (جدول شماره ۲).

بحث

عصاره این گیاه با توجه به این که در غلظت‌های قابل استفاد در مورد مخمر کاندیدا، اثر کشندگی داشته است؛ لذا، می‌تواند برای اهداف ساخت فراورده‌های دارویی ضدقارچ مدنظر باشد. گرچه این اثر در مقایسه با داروهای ضدقارچی دیگر مثل آمفوتریسین B چندان قابل توجه نیست. ولی حداقل می‌توان به این نکته اشاره کرد که با این دارو اثرات سینرژیستیک داشته است.

با استفاده از روش میکروبراث دایلوژن تعیین شد. عصاره اتانولی و اسانس خوشاریزه و آمفوتریسین به صورت سری دو برابر رقت در دی متیل سولفوکساید رقیق شد؛ به نحوی که غلظت عصاره اتانولی، اسانس خوشاریزه و آمفوتریسین به ترتیب از رقت (0.39 mg ml^{-1} تا رقت 25 mg ml^{-1})، (از رقت $0.3125 \mu\text{l ml}^{-1}$ تا $8 \mu\text{l ml}^{-1}$) و از رقت ($1 \mu\text{g ml}^{-1}$ تا رقت $256 \mu\text{g ml}^{-1}$)، برای هر چاهک تهیه شد، از محیط سابورودکستروز آگار به عنوان محیط مایع استفاده شد. بعد از تکان دادن هر رقت از رقت‌های تهیه شده از عصاره اتانولی و اسانس خوشاریزه و آمفوتریسین، ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به هر چاهک از پلیت ۹۶ تایی افزوده و سوسپانسیون میکروبی آماده شده در مرحله قبل تا غلظت $10^4 - 10^6 \text{ CFU ml}^{-1}$ رقیق می‌شود، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن به هر چاهک افزوده شده و پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه می‌شوند [۱۸]. اولین چاهک که در آن رشدی مشاهده نمی‌شود به عنوان MICs تعیین می‌شود. از رقت MIC و چند رقت بالاتر از آن کشت داده شده (۱۰ میکرولیتر) و اولین رقت که در آن هیچ رشدی روی محیط ایجاد نمی‌کند؛ به عنوان حداقل غلظت کشنده رشد گزارش می‌شود.

بررسی اثر سینرژیسمی عصاره هیدروالکلی خوشاریزه با آمفوتریسین B

از آمفوتریسین B با حلال دی متیل سولفوکساید سری دو برابر رقت $16 - 250 \mu\text{g/ml}$ تهیه شده (با توجه به این که MIC آن برابر با $2 \mu\text{g/ml}$ بود) و ۱۰۰ میکرولیتر از آن به هر چاهک افزوده می‌شود هم‌چنین به هر چاهک 0.78 mg/ml عصاره هیدروالکلی خوشاریزه (یک رقت کمتر از حداقل غلظت مهارکننده رشد برای کاندیدا آلیکانس) [۱۳] افزوده می‌شود. پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه می‌شوند.

نتایج

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که میزان اسانس حاصل از گیاه بسیار کم، در حدود ۰/۱۳ درصد می‌باشد. میزان بازده

^۱ Fungicide



جدول شماره ۱- بررسی اثر عصاره‌های مختلف گیاه خوشاریزه و آمفوتریسین B بر مخمر کاندیدا آلیکانس ATCC 10231 به روش دیسک دیفیوژن

قطر هاله عدم رشد (میلی متر)									
روغن	عصاره آبی خوشاریزه	عصاره اتانولی و آمفوتریسین	آمفوتریسین	اسانس خوشاریزه	عصاره اتانولی خوشاریزه				
		۱۰۰ U/disc + %۵	۱۰۰ U/disc	۲۰ ۱۵ ۱۰ ۵	%۱۱	%۴	%۵		
۱۱	۰	۲۲	۱۸	۴۰ ۳۲ ۲۴ ۲۰	۱۲	۸	۱۳	کاندیدا آلیکانس	

جدول شماره ۲- بررسی اثر اتانولی عصاره خوشاریزه، اسانس و آمفوتریسین B بر مخمر کاندیدا آلیکانس به روش میکروبراث دایلوژن

اسانس	آمفوتریسین و عصاره اتانولی خوشاریزه	عصاره اتانولی خوشاریزه	آمفوتریسین	دارو (میکروگرم بر میلی لیتر)
۱	۱	۱۵۶۰	۲	حداقل غلظت مهارکننده رشد (میکروگرم/میلی لیتر)
۱	۲	۳۱۲۰	۸	حداقل غلظت کشنده رشد (میکروگرم/میلی لیتر)

تحقیق حاضر نیز بر اساس همین موضوع تنظیم شده است و تلاش برای دستیابی به آگاهی‌های بیشتر از موارد استفاده مواد موثر موجود در گیاهان و کاربردها در درمان بیماری‌ها است.

عصاره اتانولی خوشاریزه با وزن خشک ۵ درصد خاصیت ضدقارچی بیشتری در مقایسه با عصاره اتانولی خوشاریزه با وزن خشک ۴ درصد دارد. علت این‌که عصاره آبی فاقد خاصیت ضدقارچی است نیز شاید این باشد که اسانس‌ها و سایر ترکیبات موثر گیاه در حلال‌های قطبی نظیر اتانول ۷۰ به خوبی حل می‌شوند ولی در آب حل نمی‌شوند. بنابراین عصاره آبی فاقد این ترکیبات با خاصیت ضد میکروبی می‌باشد. این موضوع نشان می‌دهد که نوع عصاره حاوی مواد مختلفی است که متفاوت از عصاره خالص می‌باشد و می‌تواند کارایی متفاوت نیز داشته باشد (جدول شماره ۱).

عصاره اتانولی خوشاریزه با وزن خشک ۵ درصد خاصیت ضدقارچی بیشتری در مقایسه با عصاره اتانولی ۱۱ درصد دارد. عصاره اتانولی ۱۱ درصد پس از خشک کردن عصاره تام الکلی و مجدداً تهیه عصاره اتانولی با اضافه کردن این عصاره خشک به اتانول تا رسیدن به نقطه اشباع به دست می‌آید. علت این تفاوت شاید به علت خشک کردن عصاره

الکلی و جداسازی ترکیبات فرار از جمله اسانس از ترکیب حین خشک کردن باشد که نشان می‌دهد که این عصاره اولیه دارای ترکیباتی با خاصیت ضدقارچی هستند که با خشک شدن عصاره و علی‌رغم حل شدن مقدار بیشتری وزن خشک در اتانول، این خاصیت ضدقارچی افزایش نمی‌یابد (جدول شماره ۱)، لذا تاثیر بیشتر عصاره ۵ درصد بیش از ۱۱ درصد را شاید به این دلیل توجیه کرد.

در مورد خوشاریزه که به طور فراوان در اغلب مناطق ایران می‌روید، استفاده دارویی در درمان بیماری‌های انسانی گزارش نشده است. تاکنون شواهد علمی در مورد اثرات فارماکولوژی گیاه بر روی بیماری‌های قارچی انسانی گزارش نشده، درحالی که اثرات ضد میکروبی از گونه *sibthorpiana* گزارش شده است [۱۱].

این گیاه یکی از چهار گونه بومی ایران است که تنها گونه اندمیک ایران نیز می‌باشد [۱۶] آن را به عنوان چاشنی غذایی مورد استفاده قرار می‌دهند [۱۱، ۱۲، ۱۳] و به نام‌های محلی خوشاریزه، خوشاروزه، تیغ توراغ و کشندر معروف است [۱۵]. در مطالعه‌ای بر عصاره این گیاه، دارای مواد متشکله شامل ساپونین، آلکالوئید و فلاونوئید بوده است ولی تانن نداشته است [۱۰]. ساپونین و آلکالوئید دیگر گیاهان نیز اثرات



عصاره آبی گیاه *Inula viscosa* دارای آثار ضد درماتوفیت‌ها مثل *Trichophyton rubrum* و *Microsporum canis* است [۲۵] و آثار ضد قارچی وسیعی توسط گیاهی از خانواده *Polyporaceae* علیه درماتوفیت‌ها *Trichophyton rubrum*، *Trichophyton mentagrophytes*، *Microsporum gypseum*، *Microsporum canis* و *Epidermophyton floccosum* و نیز کاندیداها نشان داده شده است [۲۶]. در درمان تینای پوستی و نیز کاندیدیای تناسلی، عصاره *agastache* سبب تاثیر بیشتر دارو شده است [۹] در درمان *Blastoschizomyces capitatus* (یک قارچ کشنده در افراد ایمنو سوپرسیو)، عصاره *Agastache rugosa* سبب تاثیر بیشتر کتوکونازول در درمان شده است [۲۷]. برخی عصاره‌ها می‌توانند از طرق دیگر و مثلاً با افزایش اثر ضدقارچی ماکروفاژها سبب کمک در درمان شوند [۲۸]. عصاره برخی گیاهان در درمان عفونت‌های قارچی تحت جلدی نیز می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند [۲۹].

همان‌طوری که نتایج این مطالعه نشان می‌دهد عصاره گیاه خوشاریزه، از آمفوتریسین B خاصیت ضد میکروبی کمتری دارد ولی افزودن عصاره گیاه خوشاریزه بر آمفوتریسین B، منجر به افزایش حساسیت مخمر می‌شود و در نتیجه هاله بزرگ‌تری از ممانعت رشد (جدول شماره ۱) ایجاد می‌شود. هم‌چنین میزان MIC، آمفوتریسین B در مجاورت عصاره خوشاریزه از $2 \mu\text{g ml}^{-1}$ به $1 \mu\text{g ml}^{-1}$ کاهش می‌یابد که این کاهش در میزان MLC (از ۸ به ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) نیز انعکاس می‌یابد. در صورتی که بتوان عصاره‌ای از خوشاریزه تهیه کرد که درصد وزن خشک آن بسیار بالاتر از عصاره اتانولی با وزن خشک ۵ درصد باشد و آن را به صورت محلول تازه به عنوان دارو مصرف نمود، می‌توان امیدوار بود که اثرات آمفوتریسین B را افزایش دهد.

در صورتی که بتوان عصاره خام گیاه با وزن خالص بیشتری در مقایسه با عصاره با ۵ درصد به دست آورد، می‌توان به افقی نگاه کرد که با محلولی از عصاره در کنار آمفوتریسین B، سبب افزایش اثر آن و نیز با کاهش دوز مصرفی آمفوتریسین B، سبب کاهش عوارض گاهی کشنده دارو مثل سمیت کلیوی آن بود. البته این زمینه ساز مطالعات آتی خواهد بود.

ضدقارچی نشان داده‌اند.

در یک مطالعه ساپونین موجود در گیاه *L. bdivaricata* Cav. دارای آثار ضدقارچی به ویژه علیه کاندیدا آلیکانس می‌باشد [۱۹]. ساپونین‌ها گلیکوزیدهای دارای پایه ترپنویید و یا استرادیول با خصوصیات کشش سطحی^۱ هستند. ترکیب CAY-I یک ساپونین است که به نظر می‌رسد با اثر تخریبی در پیوستگی غشای سلول‌های قارچی سبب کشندگی می‌شود [۲۰].

آلکالوئیدهای ایزوله شده از گیاه *Schizozygia coffaeoides* دارای خواصیت ضدقارچی قوی نسبت به دیگر ترکیبات گیاه بوده است [۲۱]. گیاه مورد بررسی این مطالعه با داشتن آلکالوئید و ساپونین نیز می‌تواند مکانیسم آثار ضدقارچ خود را اعمال کند.

یک گلیکوزید فلاونی با طبیعت فنولیک در گیاه *Larrea divaricata cav.* بوده است که در مقایسه با کتوکونازول که دارای آثار سوء سلامتی است دارای خاصیت شدید ضد درماتوفیت‌ها و مخمری مثل کاندیدا است [۱۹].

در مطالعه‌ای، مونوترپن‌ها ۸۳/۵ درصد اسانس گونه مورد مطالعه^۲ را تشکیل می‌دهند که ۸۰/۴ درصد این مقدار، مونوترپن‌های هیدروکرپنه می‌باشند. این ترکیب در سایر گونه‌ها به مقدار ناچیز گزارش شده است [۲۲]. ترکیبات ترپنی شناسایی شده در اسانس به ترتیب مقدار آنها در اسانس شامل ترانس - بتا - اوسیمن با ۶۷/۹ درصد، میرسن با ۶ درصد، لینالول با ۳/۱ درصد، سیس - بتا - اوسیمن با ۲/۳ درصد، لیمونن با ۱/۵ درصد، پارامتا - ۱ و ۵ و ۸ تری ان با ۱/۵ درصد و پارا - سیمن با ۱/۲ درصد می‌باشد. مجموعاً ۹۶/۴ درصد از ترکیبات اسانس گیاه شناسایی شده است [۲۲]. در یک مطالعه نشان داده شد که لینالول دارای خاصیت ضدباکتریایی علیه عوامل منتقله از راه غذا می‌باشد [۲۳].

گیاه درمانی به عنوان یک طب مستقل یا در کنار طب غربی می‌تواند در درمان بیماری‌ها کمک کننده باشد. مثلاً عصاره گیاه *Cassia alata* دارای اثرات ضدقارچی است که علیه قارچ *Pityriasis versicolor* استفاده پزشکی دارد [۲۴].

^۱ Surface Active Properties

^۲ *E. platyloba*



تشکر و قدردانی

به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و شرکت داروسازی باریج اسانس تصویب و بدین وسیله از آنان که در انجام این طرح ما را یاری کردند، کمال تشکر را داریم.

این طرح مشترک بین مرکز پژوهش های طب سنتی ایرانی و مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری وابسته

منابع

1. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agent. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12 (4): 564 – 82.
2. Borris RP. Natural products research: perspectives from a major Pharmaceutical company. *J. Ethnopharmacol.* 1996; 51: 29 - 38.
3. Schultes RE. The Kingdom of plants, 208. In W.A.R. Thomson (Ed), Medicines from the earth. Mc Grow – Hill Book Co, New York, N.Y. 1978, pp: 208 – 9.
4. Clark AM. Natural Products as a resource from new drugs. *Pharm. Res.* 1996; 13 (8): 1133 – 44.
5. Corns CM. Herbal remedies and clinical biochemistry. *Ann. Clin. Biochem.* 2003; 40 (5): 489 – 507.
6. Tyler VE. Herbal medicine: from the past to the future. *Public Health Nutrition.* 2000; 3 (4A): 447-52.
7. Emami M, Mahboda Z. Integrated of Medical Mycology. Tehran University publication, Tehran, 1377. 1988, pp: 413 - 4.
8. Verlage J, Gieri E. (Translated by Saed Zaman). Medical Plants. Ghoghnoos Publicationm Tehran, 1990, pp: 7 - 42.
9. Na M, Li Ly and Yang YD. Anti-fungal test of composite agastache lotion on seven pathogenic fungi and its clinical application. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 2003; 23 (6): 414 – 6.
10. Nourozi M: Evaluation of photochemical and antimicrobial effect of *Echinophora platyloba*: PhD Thesis. Faculty of Pharmacy of Tehran University of Medical Sciences. Pharmacogenosy Department. 1989, 35 - 40.
11. Sadrai H, Asghari G, Yaghobi K: Evaluation of ethanolic extract and essential oil of *Echinophora platyloba* on isolated ileum of rat. *Pajouhesh in Pezesheki* 2002; 7: 150 - 5.
12. Avijgan M, Saadat M. Nilforoshzadeh MA and Hafizi M. Anti fungal effect of *echinophora Platyloba* extract on some Common Dermathophytes. *J. of Med. Plants* 2006; 5 (18): 56 – 62.
13. Avijgan M, Hafizi M and Saadat M. Anti fungal effect of Hydroalcoholic Extract of *Echinophora Platyloba* DC On *Candida albicans*. *Iranian J. of Med. and Aromatic Plants* 2006; 21 (4): 545 – 52.
14. Avijgan M, Saadat M, Nilforoshzadeh MA and Hafizi M. Antifungal effect of *Echinophora Platyloba*' s Extract against *Candida albicans*. *Iranian J. of Pharmacol. Res.* 2006; 4: 285 - 9.
15. Mozafarian V. encyclopedia of Iranian Plants, Publication of Farhang Moaser, Tehran, 1996, pp: 2 - 3.
16. Mozafarian V. Plants of Umbelliferous Family in Iran: Distribution and keywords. Publication of Farhang Moaser, Tehran, 1983, pp: 20 - 1.
17. Ghasemi Dehkordi N. Herbal Pharmacopeia of Iran, Research Vice councillor of Ministry of Health of Iran. Tehran, Drug and Food Vise councilor, 1992, pp: 15 – 33.
18. Griggs JK, Manandhar NP, Towers GH and Taylor RS. The effects of storage on the biological activity of medicinal plants from Nepal. *J.*



Ethnopharmacol. 2001; 77: 247 – 52.

19. Quiroga EN, Sampietro AR and Vattuone MA. *In vitro* fungitoxic activity of *Larrea divaricata* cav. extracts. *Lett. Appl. Microbiol.* 2004; 39 (1): 7 - 12.

20. Renault S, De Lucca AJ, Boue S, Bland JM, Vigo CB and Selitrennikoff CP. CAY-1, a novel antifungal compound from cayenne pepper. *Med. Mycol.* 2003; 41 (1): 75 - 81.

21. Kariba RM, Houghton PJ and Yenesew A. Antimicrobial Activities of a New Schizozygane Indoline Alkaloid from *Schizozygia coffaeoides* and the Revised Structure of Isoschizogaline. *J. Nat. Prod.* 2002; 65 (4): 566 - 9.

22. Mazloomifar H, Saber-Tehrani M and Rustaiyan A. Constituents of the Essential Oil of *Echinophora platyloba* DC. Growing Wild in Iran. *J. of Essential Oil Res.* 2004; 16 (2): 284 - 6.

23. Kim J, Marshall MR and Wei C. Antibacterial activity of some essential oil components against five food borne pathogens. *J. Agric. Food Chem.* 1995; 43: 2839 – 45.

24. Damodaran S and Venkataraman S. A study on the therapeutic efficacy of *Cassia alata*, Linn. Leaf extract against *Pityriasis versicolor*. *J. Ethnopharmacol.* 1994; 42 (1): 19 - 23.

25. Maoz M and Neeman I. Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. *Lett. Appl. Microbiol.* 1998; 26 (1): 61 - 3.

26. Steinmetz MD, Rascol JP, Regli P, Gargadennec A and Andary C. In vitro antifungal activity of *Polyporaceae* against yeasts and dermatophytes. *Mycoses* 1995; 38 (7 - 8): 305 - 9.

27. Shin, S and Kang CA. Antifungal activity of the essential oil of *Agastache rugosa* Kuntze and its synergism with ketoconazole. *Lett. Appl. Microbiol.* 2003; 36 (2): 111 - 5.

28. Akagawa G, Abe S, Tansho S, Uchida K, Yamaguchi H. Protection of C3H/HE J mice from development of *Candida albicans* infection by oral administration of Juzen-taiho-to and its component, Ginseng radix: possible roles of macrophages in the host defense mechanisms. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 1996; 18 (1): 73 - 89.

29. Nwosu MO, Okafor JI. Preliminary studies of the antifungal activities of some medicinal plants against *Basidiobolus* and some other pathogenic fungi. *Mycoses* 1995; 38 (5-6): 191 - 5.

