

مقایسه اثر اسانس گیاه داکروزیا انتیفولیا و کتوکونازول بر مخمر کاندیدا آلبیکنس در شرایط درون و برون تنی

نیره عسکری^۱، مرضیه اقتداردوست^{۲*}، علی مصطفوی^۳، رویا یارائی^۴

۱. دکترای فیزیولوژی، استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم- هسته مطالعات درد و التهاب، دانشگاه شهید باهنر، کرمان
۲. کارشناس ارشد بیولوژی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشگاه شاهد، تهران
۳. دکترای شیمی، استاد گروه شیمی، دانشکده علوم- هسته مطالعات درد و التهاب، دانشگاه شهید باهنر، کرمان
۴. دکترای ایمنولوژی، دانشیار گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران

* نشانی برای مکاتبه: تهران، بلوار کشاورز، خیابان برادران شهید عبدالله زاده، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، گروه ایمنولوژی، تلفن ۸۸۹۶۴۷۹۲ داخلی ۲۴۰. maedoost@yahoo.com

پذیرش برای چاپ: بهمن نود

دریافت مقاله: آذر نود

چکیده

سابقه و هدف: داکروزیا انتیفولیا (*Ducrosia anethifolia*) یکی از داروهای گیاهی سنتی در ایران است. اسانس این گیاه جهت درمان سردرد و کمردرد در طب سنتی کاربرد داشته است. هم‌چنین چندین اثر ضد میکروبی از این اسانس مشاهده شده است. در این مطالعه اثر اسانس داکروزیا در شرایط درون و برون تنی بر کاندیدا آلبیکنس بررسی گردیده است.

روش کار: مطالعه اثر ضد قارچی اسانس در شرایط آزمایشگاهی (برون تنی) با روش استاندارد رقت‌سازی در لوله (۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر تا ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در مقابل سوش استاندارد کاندیدا آلبیکنس انجام گرفت. اثر سینرژیستی با ترکیب رقت‌های مختلف کتوکونازول با اسانس تعیین شد. جهت مطالعه بر روی مدل حیوانی از موش‌های آلوده به کاندیدا آلبیکنس و تجویز ۵ روز اسانس و کتوکونازول استفاده شد.

یافته‌ها: MIC و MFC تعیین شده برای اسانس داکروزیا در برابر کاندیدا آلبیکنس به ترتیب ۱ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و اسانس داکروزیا توانست قدرت ضد قارچی کتوکونازول را به میزان ۴ برابر افزایش دهد. در مدل حیوانی تعداد کلنی حاصل از رشد کاندیدا در کشت کلیه در گروه‌های دریافت‌کننده اسانس داکروزیا و کتوکونازول از گروه کنترل کمتر بود ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، اسانس داکروزیا هم در شرایط *in vivo* و هم *in vitro* دارای اثرات ضد قارچی قابل مقایسه با کتوکونازول است. مطالعه بیشتر به منظور تعیین مکانیسم و نقش احتمالی سیستم ایمنی در آن به نظر لازم و مفید می‌آید.

واژگان کلیدی: داکروزیا انتیفولیا، کاندیدا آلبیکنس، کتوکونازول، ضد قارچ، مدل حیوانی

مقدمه

روزافزون آنها به عوامل ضد قارچی شیمیایی متداول از دست می‌دهند و بررسی‌های متعدد مقاومت گونه‌های مختلف کاندیدا را نسبت به داروهای ضد قارچی نشان می‌دهد (۳)؛ لذا جستجو جهت یافتن دارویی با منشا طبیعی به شدت مورد توجه محققین قرار گرفته است. امروزه استفاده از داروهای گیاهی و طب مکمل در سراسر جهان گسترش یافته و در گذشته نیز گیاهان به عنوان منبع اصلی دارویی مردمان بوده‌اند (۴). همچنین در ساخت و کشف داروهای مدرن از ترکیبات طبیعی موجود در داروهای سنتی استفاده‌های فراوان شده است (۵). گیاه داکروزیا انتیفولیا (*Ducrosia anethifolia*) با نام محلی مشکک از خانواده چتریان است. این گیاه بومی ایران است ولی در افغانستان، پاکستان و مابقی خاورمیانه رشد می‌کند.

گونه‌های کاندیدا مهم‌ترین عوامل عفونت‌های قارچی در انسان و حیوان هستند. در دهه‌های اخیر تعداد موارد ابتلا به عفونت فرصت‌طلبی مانند کاندیدا رو به افزایش است و احتمال ابتلا به این عفونت‌ها در مبتلایان به سرطان و لوسمی، دیابت ملیتوس، درمان‌های طولانی مدت با آنتی‌بیوتیک‌ها و کورتیکوستروئیدها، ایدز و بارداری، سوختگی و دریافت پیوند بیشتر می‌شود. در بین گونه‌های کاندیدا، کاندیدا آلبیکنس مهم‌ترین عامل ایجاد عفونت‌های کاندیدیایی است. امروزه در درمان این عفونت‌ها از داروهای مختلف از قبیل داروهای گروه آزول (کلوتریمازول، کتوکونازول، فلوکونازول...) داروهای پلی‌ان (نیستاتین) و... استفاده می‌شود (۱، ۲). این ترکیبات علاوه بر دارا بودن عوارض جانبی چون تهوع، درد شکمی، استفراغ و سردرد و... اثربخشی خود را بر روی مخمرها به دلیل افزایش مقاومت

در مهدی آباد کرمان به دلیل داشتن آب و هوای مناسب این گیاه بخوبی رشد یافته است. ترکیبات متشکله اسانس این گیاه بررسی گردیده و ۶۳ ترکیب شناسایی شده که آلفا پینین (α -Pinene) مهم ترین ترکیب هیدروکربنی و دکانال جزء اصلی ترکیبات حامل اکسیژن موجود در این روغن می باشد (۶). در قدیم از این گیاه به عنوان خوش بو کننده غذا و نوشیدنی ها استفاده می کردند و در طب سنتی برای درمان زکام، سردرد و کمردرد کاربرد داشته است. همچنین این گیاه موجب آرامش فکر و بدن و خواب آرام می گردد (۷). مشاهده شده است که اسانس این گیاه در برابر باکتری های گرم مثبت و قارچ ها تاثیر مناسبی دارد (۸). همچنین گزارشاتی مبنی بر اثر ممانعت کنندگی روغن این گیاه در برابر باکتری هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، اشریشیا کلی (*Escherichia coli*)، سالمونلا تیفی (*Salmonella typhi*)، شیکلا دیسنتری (*Shigella dysenteriae*) و ویبریو کلرا (*Vibrio cholera*) وجود دارد (۹). علاوه بر این مشاهده شده که پنگلین (*pangelin*) که یکی از ترکیبات موجود در بخش های هوایی گیاه است، فعالیت ممانعت کنندگی از رشد مایکوباکتریوم های سریع رشدی مانند *M. tuberculosis*، *M. phlei*، *M. aurum*، *M. fortuitum*، *M. smegmatis* دارد (۱۰). با توجه به اثرات ضد قارچی و باکتریایی مشاهده شده در این گیاه و با توجه به اینکه کاندیدا آلبیکانس یک میکروارگانیسم فرصت طلب است که در بیماران دارای نقص ایمنی می تواند موجب سپتی سمی کشنده گردد و درمان های رایج کنونی در کنار عوارض جانبی گوناگون در ریشه کنی این عامل با مشکل روبرو هستند (۱۱)؛ بر آن شدیم تا در این مطالعه اثر ضد کاندیدایی اسانس گیاه داکروزیا انتیفولیا در شرایط آزمایشگاهی و برون تنی بر مخمر کاندیدا آلبیکانس به وسیله تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) با روش رقیق سازی در لوله بررسی کنیم و همچنین این اثر را با یکی از متداول ترین آزول های مورد استفاده (کتوکونازول) بر ضد این مخمر مقایسه نماییم. از طرفی این امکان وجود دارد که اثر مشاهده شده از یک دارو در شرایط آزمایشگاهی، در شرایط فیزیولوژیک درون بدن موجود زنده مشاهده نشود یا تفاوت چشمگیری داشته باشد؛ لذا مطالعه حیوانی کاندیدا آلبیکانس بعنوان مدل مناسبی برای بررسی این مسئله در نظر گرفته شد. رایج ترین مدل حیوانی کاندیدیازیس که تزریق یا آلوده سازی از طریق رگ دمی موش است که در این مدل در نهایت قارچها در کلیه تجمع می یابند و قابل بررسی هستند (۱۲). از اینرو جهت بررسی اثر ضد کاندیدایی اسانس داکروزیا در شرایط درون تنی از مدل حیوانی سپسیس کاندیدایی استفاده گردید.

روش کار

سرشاخه های گیاه داکروزیا انتیفولیا (*D. anethifolia*) از روستای مهدی آباد (کرمان، ایران) جمع آوری شد؛ و توسط گروه زیست شناسی دانشگاه شهید باهنر (کرمان- ایران) از نظر گیاه شناسی تأیید گردید. به وسیله گاز کروماتوگرافی در گروه شیمی دانشگاه شهید باهنر (کرمان، ایران) اسانس گیری انجام گردید؛ میزان اسانس دهی گیاه ۰/۳۷٪ (وزنی/وزنی) بود (۶).

مخمر کاندیدا آلبیکانس (سوش استاندارد PTCC 5027) از مرکز پژوهش های علمی صنعتی ایران تهیه گردید. جهت تأیید از دو تست تشخیصی، کشت بر روی محیط کروم آگار و تشکیل کلنی های سبز رنگ و آنکوباسیون ۲ ساعته مقداری از کلنی در (FBS (Gibco) (سرم جنین گاوی) و

تشکیل جرم تیوب، استفاده شد (۱۳). جهت فعال شدن رشد، مخمر دو مرتبه بر روی محیط سابورد دکستروز آگار (*Sabouraud dextrose agar*: SDA) (آلمان - MERK) کشت داده شد. چند کلنی بطور تصادفی انتخاب و با استفاده از سرم فیزیولوژی سوسپانسیون تهیه شد سپس تعداد مخمرهای موجود در سوسپانسیون با استفاده از لام نتویار تعیین شد.

به منظور بررسی اثر ضد قارچی اسانس گیاه داکروزیا، تعیین MIC با روش برات دایلووشن (رقت سازی در محیط مایع) طبق استاندارد اصلاح شده M27-A2 از (Clinical Laboratory Standards Institute) انجام شد (۱۴). بدین ترتیب که ابتدا ده لوله آزمایش (حجم نهایی هر لوله ۱ میلی لیتر) حاوی محیط سابورد دکستروز مایع (*Sabouraud dextrose broth*: SDB) به همراه ۲٪ دی متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان حلال اسانس تهیه گردید. به هر لوله ۱۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون مخمر کاندیدا آلبیکانس که حاوی ۱۰۰۰ مخمر بود افزوده شد (رقت نهایی ۱۰۰۰ مخمر بر میلی لیتر). سپس سریال رقت دو برابر در محدوده ۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر تا ۴ میکروگرم بر میلی لیتر از استوک

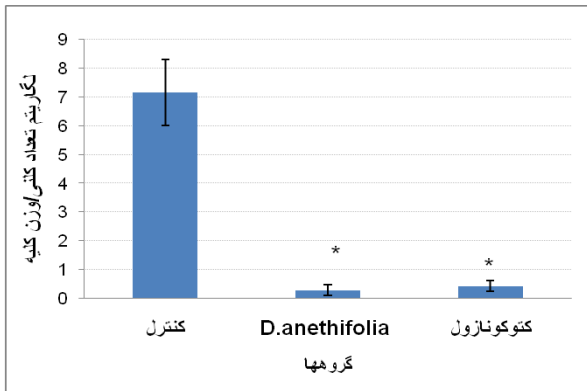
اولیه اسانس با غلظت ۷۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه گردید. یک لوله به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد که فقط حاوی مخمر بود. لوله ها در آنکوباتور شیکردار با دمای ۳۲ درجه و ۱۵۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. بعد از این مدت لوله ها از نظر رشد مخمر و کدورت حاصل از رشد مورد بررسی قرار گرفته و کمترین غلظت اسانس که در آن کدورت رشدی مشاهده نگردید به عنوان حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) اسانس گیاه داکروزیا در نظر گرفته شد.

جهت ارزیابی حداقل غلظت کشنده این اسانس، ۱۰ میکرو لیتر از محتوای لوله هایی که کدورت مخمری در آن ها مشاهده نشده بود بر روی پلیت سابورد دکستروز آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتی گراد آنکوبه گردید. کم ترین غلظتی از اسانس که در آن هیچ گونه رشدی از مخمر مشاهده نشد به عنوان حداقل دوز کشنده (MFC) اسانس داکروزیا در نظر گرفته شد.

برای بررسی اثر سینرژیسمی اسانس گیاه داکروزیا با کتوکونازول پودر خالص داروی کتوکونازول از شرکت داروسازی ارسطو- ایران تهیه شد. در این مرحله ابتدا MIC داروی کتوکونازول با روش مذکور و استفاده از سریال رقت (از ۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر تا ۰/۰۳۱ میکروگرم بر میلی لیتر)، تعیین شد. بعد از آنکوباسیون ۲۴ ساعته لوله ها با شرایط قبل، MIC کتوکونازول در شرایط آزمایشگاهی موجود تعیین شد.

مطابق مرحله قبل لوله های حاوی SDB آماده و تعداد ۱۰۰۰ مخمر بر میلی لیتر از کاندیدا آلبیکانس در آنها کشت داده شد. در ۱۲ لوله (دو سری ۶ تایی) به ترتیب سریال رقت دو برابر، در محدوده ۰/۰۳۱۲-۲ میکروگرم بر میلی لیتر از کتوکونازول تهیه شد. در یک سری از لوله ها جهت بررسی اثر سینرژیسمی این دو ترکیب، غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر (یک دوز پایین تر از MIC) از اسانس داکروزیا افزوده شد. یک لوله نیز به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد که تنها حاوی مخمر بود. این لوله ها نیز ۲۴ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد بر روی شیکر قرار داده شدند و بعد از آن جهت مشاهده اثر این دو ترکیب بر رشد مخمر، ۱۰ میکرو لیتر از هر لوله بر روی پلیت SDA کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت آنکوباسیون در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد، شمارش کلنی انجام شد.

۷/۱۶ ، در موش های دریافت کننده اسانس ۰/۲۹±۰/۱۸ و در موش های گروه کتوکونازول ۰/۴۳±۰/۱۸ است. این نتایج نشان می دهد که اثر ضد کاندیدیایی اسانس در شرایط درون تنی مشابه اثر ضد قارچ متداول کتوکونازول است و هر دوی این مواد توانسته اند تعداد کلنی های رشد یافته بر روی کلیه را بطور معنی داری کاهش بدهند (به ترتیب $P < 0.000008$ و $P < 0.000009$). تفاوت مشاهده شده بین کتوکونازول و اسانس معنی دار نبود.



نمودار ۱: شمارش کلنی های کاندیدا آلبیکنس رشد یافته بر روی کلیه موشهای آلوده به کاندیدا و درمان شده با اسانس D.anethifolia و کتوکونازول

بحث

نیاز روزافزون بشر به پیش گیری و درمان و از سوی دیگر یافته های رو به تزاید در رابطه با اثرات جانبی داروهای صناعی و پیدایش مقاومت به این داروها در میکروب ها، مطالعه بر روی خواص ضد میکروبی گیاهان را در کانون توجه تحقیقات اکادمیک، صنایع داروسازی و غذایی قرار داده است. هدف بسیاری از این مطالعات یافتن ضد میکروب های طبیعی یا ترکیبات طبیعی مکملی است که نیاز به ترکیبات صناعی را کاهش دهد. تا کنون در نتیجه تحقیقات وسیع و همه جانبه در سراسر جهان، خواص دارویی بسیاری از گیاهان شناسایی شده است اما هنوز تا معرفی و بهره وری کامل از این منبع عظیم راه طولانی در پیش است.

گیاه *Ducrosia anethifolia* از جمله گیاهانی است که در طب سنتی مصارف دارویی متفاوتی داشته است. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می دهد که در شرایط برون تنی در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر رشد کاندیدیا آلبیکنس را مهار کرده و در کنار داروی کتوکونازول قدرت ضد کاندیدیایی این داروی شیمیایی متداول به میزان ۴ برابر افزایش پیدا می کند. همچنین در شرایط درون بدن موجود زنده نیز اثری همانند یکی از متداول ترین ضد قارچهای صناعی یعنی کتوکونازول دارد.

اسانس این گیاه عمدتاً از ترکیبات آلیفاتیک تشکیل شده است. اجزا عمده هیدروکربن های موجود در اسانس α -Pinene (11.6%)، (z) - β -ocimene (2.8%) ، terpinolene (3.2%) است، در حالی که ترکیبات متشکله حاوی اکسیژن در اسانس این گیاه شامل decanal (54.0%)، cis-chrysanthenyl acetate (3.2%) و decanoic acid (1.3%) می باشند (۶).

در مدل حیوانی کاندیدیازیس ابتدا دوازده سر موش BALB/c ماده انتخاب و وزن شد و به سه گروه چهار تایی کنترل، داکروزی و کتوکونازول تقسیم شد. به هر موش در هر گروه، ۵ میلیون مخمر کاندیدا آلبیکنس از راه ورید دمی تزریق شد. یک ساعت بعد از آلوده سازی مقادیر متناسب برای تجویز ۲ گرم بر کیلوگرم اسانس داکروزی و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم داروی کتوکونازول (۱۵) در سرم فیزیولوژی حل و متناسب با گروه آزمایشی به صورت داخل صفاقی تزریق شد. موش های گروه کنترل در حجمی یکسان با گروه های دارو، سرم فیزیولوژی دریافت نمودند. تجویز دارو به مدت ۵ روز ادامه داشت. بعد از آن موشها بیهوش و کشته شدند و کلیه آنها جدا و قطعه قطعه شد و بعد از هموژن کردن در محیط سابورد دکستروز آگار کشت داده شد. برای هر موش چهار پلیت تکرار گردید. جهت اطمینان از نتایج به دست آمده کل مراحل دو مرتبه آزمایش شد. داده های بدست آمده به وسیله آزمون آماری تی استیودنت نرم افزار Excel 2010 مورد بررسی قرار گرفت؛ و سطح معنی داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

MIC اسانس داکروزی برای سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس در محدوده ۱-۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود. میزان MFC دو برابر MIC (۲ میلی گرم بر میلی لیتر) بود. میزان MIC برای داروی کتوکونازول در شرایط آزمایشگاهی موجود ۱ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد. رشد یا عدم رشد کلنی ها در حضور غلظت های مختلف داروی کتوکونازول به تنهایی و همراه با غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر اسانس داکروزی بررسی گردید که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است. این نتایج نشان می دهد که اسانس داکروزی اثر ضد کاندیدیایی کتوکونازول را به میزان ۴ برابر افزایش داده است.

جدول ۱: رشد یا عدم رشد (+ / -) کاندیدا آلبیکنس در حضور غلظت های مختلف کتوکونازول به تنهایی و همراه با اسانس داکروزی

غلظت کتوکونازول (µg/ml) شرایط آزمایش	۱	۰/۵	۰/۲۵	۰/۱۲۵	۰/۰۶۲۵	۰/۰۳۱۲
بدون اسانس	-	+	+	+	+	+
همراه با ۵۰۰ µg/ml اسانس داکروزی	-	-	-	-	-	+

+ : رشد کاندیدا آلبیکنس، - : عدم رشد و غلظت کشنده

در شرایط درون تنیموش ها از طریق تزریق دمی کاندیدا آلبیکنس آلوده شدند و اسانس گیاه و داروی کتوکونازول در دو گروه جداگانه بصورت درون صفاقی تزریق شد. برای تعیین میزان رشد کاندیدا آلبیکنس در بافت کلیه از لگاریتم کلنی های رشد یافته / وزن کلیه کشت داده شده استفاده گردید (۱۶). نتایج حاصل از شمارش کلنی های رشد یافته در کلیه در نمودار ۱ نشان داده شده است، تعداد کلنی ها در موش کنترل ۱/۱۴±

بالایی را نشان می دهد. به طوری که در حضور اسانس میزان مصرف کتوکونازول برای رسیدن به عدم رشد تا چهار برابر کاهش می یابد که با توجه به اثرات جانبی حاصل از ضد کاندیداهای صنعتی حائز اهمیت فراوان است و نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه را روشن میکند. از طرف دیگر آزمایش *In vivo* مطالعه حاضر نشان می دهد که این اثر ضد کاندیدایی اسانس *D. anethifolia* نه تنها در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی بلکه در شرایط درون تنی نیز وجود دارد و شدت تاثیر آن مشابه ضد قارچ صنعتی مهم است هر چند غلظت مورد نیاز از اسانس گیاه بیشتر از غلظت داروست ولی دلیل آن را میتوان به این نسبت داد که اسانس از ترکیبات متعدد و متنوعی تشکیل شده است در حالیکه دارو کاملاً خالص است و اگر جزء یا اجزاء ضدقارچی از اسانس استخراج و تخلیص شوند مسلماً به دوز پائین تری نیاز خواهد بود.

این گیاه در مصرف سنتی به عنوان یک طعم دهنده غذا مورد استفاده قرار می گیرد که نشان میدهد بخوبی قابلیت مصرف خوراکی داشته و حاوی اجزاء سمی نیست. تزریق داخل صفاقی اسانس گیاه نیز علائم غیرعادی و توكسیك در حیوان ایجاد نکرد. با توجه به اثرات ضد میکروبی مشاهده شده می توان از این گیاه علاوه بر مصارف دارویی، در صنایع غذایی نیز در حفاظت فعال از آلودگی استفاده نمود و نیاز به مواد نگهدارنده صنعتی را کاهش داد.

در انتها با توجه به نتایج بدست آمده پیشنهاد می گردد در آینده در مورد مکانیسم اثر این اسانس و اثر آن بر پاسخ ایمنی که ممکن است در حفاظت بخشی این اسانس در برابر کاندیدا در داخل بدن موثر باشد و همچنین اثر هم افزائی این اسانس با کتوکونازول یا سایر داروهای شیمیایی در شرایط درون تنی مطالعات بیشتری صورت بگیرد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج، اسانس داکروزیا هم در شرایط *in vivo* و هم *in vitro* دارای اثرات ضد قارچی قابل مقایسه با کتوکونازول است. مطالعه بیشتر به منظور تعیین مکانیسم و نقش احتمالی سیستم ایمنی در آن به نظر لازم و مفید می آید.

تشکر و قدردانی

محققین این مطالعه از جناب آقای دکتر میر تاج الدینی از گروه زیست شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان جهت شناسایی گونه گیاه و سرکار خانم دکتر غضنفری مدیر گروه ایمنی شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد و آقای جمالی کارشناس گروه جهت همراهی در مراحل انجام بخشی از پژوهش در آزمایشگاه گروه کمال تشکر را دارند.

مطالعات مختلفی اثر ضد میکروبی و ضد قارچی بسیاری از اسانس های گیاهی را نشان می دهد. اثر مهاری این اسانس ها بر گونه های مختلف قارچ ها ممکن است به دلیل وجود درصد نسبتاً بالایی از مونوترپن های اکسیژنه باشد (۱۷). یکی از ترکیبات موجود در اسانس روغنی داکروزیا، الفاه پینین می باشد و مطالعات نشان می دهد که گیاهانی که در ترکیبات خود دارای این مولکول هستند فعالیت ضد میکروبی دارند . گیاهان *Lavandula angustifolia* که حاوی *limonene* و *pinene*، *sabinene* و *beta-ocimene* میباشد جهت فعالیت ضد میکروبی، ضد التهابی و مبارزه علیه حشرات موذی مورد استفاده قرار میگیرند (۱۸). گیاه *Juniperus communis* که از جمله ترکیبات مهم آن *pinene*، *limonene*، *sabinene*، *myrcene* است نیز دارای فعالیت ضد میکروبی است (۱۹).

Tea tree oil یکی دیگر از گیاهان دارویی مهم است، این گیاه دارای اجزای تقریباً مشابهی با داکروزیا می باشد. از جمله اجزای مهم این گیاه می توان به *1,8-cineole*، *terpinen-4-ol* و *alpha-terpineol* اشاره کرد؛ گزارش شده است که این گیاه دارویی دارای خواص زیادی می باشد از آن جمله میتوان به خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی آن اشاره نمود (۲۰). اگر چه اسانسهای گیاهان متعددی اثرات ضد قارچی را نشان داده اند اما روشن شدن مکانیسم اثر نیازمند مطالعات بیشتری است. پیشنهاد شده است که الکلها یا الدیئدهای فنلی موجود در اسانس گیاهان میتوانند با پروتئینهای آنزیمی مرتبط با غشا میان کنش داشته و در نهایت سبب آسیب رساندن به غشاهای بیولوژیک شوند. به ویژه ممکن است نفوذپذیری غشا را تغییر داده و موجب مهار تنفس شوند. میزان تاثیر، به سرعت نفوذ مونوترپنها از دیواره و غشا سلولی قارچها بستگی دارد (۱۷، ۲۱).

مطالعه بر روی اسانس *Tea tree* نشان داده است که ترکیبات اسانس یک پارچگی ساختاری دیواره سلول باکتری را تحت تاثیر قرار میدهد. باکتری *S. aureus* تحت اثر این اسانس، یونهای پتاسیم را از دست داده و کاهش معنیدار مقاومت به $NaCl$ را نشان میدهد. تیمار با *terpinen-4-ol* در مطالعه میکروسکپ الکترونی رشد ساختارهای شبه مزوزومی را سبب میشود. مهار تنفس وابسته به گلوکز در باکتریها در نتیجه اثر *Tea tree* دیده شده است (۲۰).

نتایج حاصل از مطالعه اثر ضد کاندیدایی اجزا کوچک مولکول گیاهان عالی پیشنهاد کرده است که اهداف ویژه آنتی کاندیداهای طبیعی، مسیر ارگوسترول، زنجیره تنفسی و بیوسنتز کیتین می باشد (۲۲). با توجه به مطالعات سایر محققین این طور می توان استنباط کرد که آلفا پنین که هیدروکربن عمده تشکیل دهنده اسانس گیاه داکروزیا می باشد عامل اصلی اثر ضد کاندیدایی این گیاه است (۶، ۱۸). هم چنین کاربرد هم زمان اسانس با کتوکونازول، یک ضد قارچ شناخته شده، اثر سینرژسمی بسیار

REFERENCES

1. Fichtenbaum C, Koletar S, Yiannoutsos C, Holland F, Pottage J, Cohn S, et al. Refractory mucosal candidiasis in advanced human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis*. 2000;30:749 - 56.
2. Troillet N, Durussel C, Bille J, Glauser M, Chave J. Correlation between in vitro susceptibility of *Candida albicans* and fluconazole-resistant oropharyngeal candidiasis in HIV-infected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1993;12:911 - 5.
3. Kuate JR, Tene M, Tane P, Tamokou JD. Antimicrobial clerodane diterpenoids from *Microglossa angolensis* Oliv. et Hiern. *Indian Journal of Pharmacology*. 2009;41(2):60.
4. Tayarani-Najaran Z, Emami SA, Asili J, Mirzaei A, Mousavi SH. Analyzing Cytotoxic and Apoptogenic Properties of *Scutellaria litwinowii* Root Extract on Cancer Cell Lines. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2009; In press.
5. Nassiri-Asl M, Shariati-Rad S, Zamansoltani F. Anticonvulsant effects of aerial parts of *Passiflora incarnata* extract in mice: involvement of benzodiazepine and opioid receptors. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2007;7(1):26.
6. Mostafavi A, Afzali D, Mirtadzadini SM. Chemical Composition of the Essential Oil of *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss. from Kerman Province in Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 2008;20:509-12.
7. Haghgi G, Safaei A, Safari J. Extraction and determination of the main components of the essential oil of *Ducrosia anethifolia* by GC and GC/MS. *Iranian journal of pharmaceutical research (IJPR)*. 2004;3:90-1.
8. Janssen A, Scheffer J, Svendsen AB, Aynehchi Y. The essential oil of *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss. Chemical composition and antimicrobial activity. *Pharm Weekbl Sci*. 1984;24:157-60.
9. Syed M, Iqbal MJ, Chaudhry FM, Bhatti MK. Antimicrobial activity of essential oils of Umbelliferae family Part vi. *Stewartiella baluchistanica*, *Psammogeton canescens* and *Ducrosia anethifolia*. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research (Pakistan)*. 1987;30(8):595-8.
10. Stavri M, Mathew K, Bucar F, Gibbons S. Pangelin, an antimycobacterial coumarin from *Ducrosia anethifolia*. *Planta Med*. 2003;69:956-9.
11. Mahboubi M, Avizhgan M, Darabi M, Kasaeian N. Anti candidal activity of *Echinophora platyloba* against *Candida albicans* and comparison with Amphotericin. *JOURNAL OF MEDICINAL PLANTS* 2009;8(30):36-43.
12. Doyle T, Nawotka K, Kawahara C. Visualizing fungal infections in living mice using bioluminescent pathogenic *Candida albicans* strains transformed with the firefly luciferase gene. *Microbial Pathogenesis*. 2006;40:82-90.
13. Eghtedardoost M, Yaraee R, Ghazanfari T, Naseri M. The Effect of MS14 on Candidial Sepsis in Balb/C mice. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*. 2009;14:1-6.

14. Wayne P. Clinical laboratory standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal susceptibility Testing of yeast. Approved standard M27-A2: Clinical Laboratory standards Institute; 2002
15. Cacciapuoti A, Loebenberg D, Parmegiani R, Antonacci B, Norris C, Moss EL, et al. Comparison of SCH 39304, Fluconazole, and Ketoconazole for Treatment of Systemic Infections in Mice. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 1992;36:64-7.
16. Joly V, Yeni P. Handbook of animal models of infection. Zak O, Sande M, editors. London: Academic Press; 1999.
17. Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR, et al. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J Appl Microbiol*. 2000;88:170-5.
18. Soković M, Glamočlija J, Marin P, Brkić D, Griensven Lv. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro mode. *Molecules*. 2010;27:7532-46.
19. Angioni A, Barra A, Russo M, Coroneo V, Dessi S, Cabras P. Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *J Agric Food Chem*. 2003 51:3073-8.
20. Carson C, Mee B, Riley T. Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1914e20.
21. Knobloch K, Pauli A, Iberl B, Weigand H, Weis N. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *J Essent Oil Res*. 1989;1:119-28.
22. Pauli A. Anticandidal low molecular compounds from higher plants with special reference to compounds from essential oils. *Med Res Rev*. 2006;26:223-68.