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

دریافت مقاله: آذر نود پذیرش برای چاپ: بهمن 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. هم چنین چندین اثر ضدمیکروبی 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 (برون‌تنی) با روش استاندارد رقت‌سازی در لوله (۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر تا ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در مقابل سوش استاندارد کاندیدا آلبیکنس انجام گرفت. اثر سینرژیسمی با ترکیب رقت های 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

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 کاندیدایی 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 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.

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 پینِن (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 نوشیدنی‌ها استفاده می‌کردند 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 باکتری‌های گرم مثبت و قارچها تاثیر مناسبی دارد (۸). همچنین گزارشاتی مبنی بر اثر ممانعت‌کنندگی روغن این گیاه در برابر باکتری‌هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس (Staphylococcus aureus)، اشریشیا کلی (Escherichia coli)، سالمونلا تیفی (Salmonella typhi)، شیگلا 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 ممانعت‌کنندگی از رشد مایکوباکتریوم‌های سریع‌رشدی مانند M. fortuitum، M. aurum، M. phlei و M. smegmatis دارد(۱۰).

با توجه به اثرات ضد قارچی و باکتریایی مشاهده شده در این گیاه و با توجه به اینکه کاندیدا البیکنس یک میکروارگانیسم فرصت‌طلب است که در بیماران دارای نقص ایمنی می‌تواند موجب سپتی‌سمی کشنده گردد و درمان‌های رایج کنونی در کنار عوارض جانبی گوناگون در ریشه‌کنی این عامل با مشکل روبرو هستند(۱۱)؛ برآن شدیم تا در این مطالعه اثر ضد کاندیدایی اسانس گیاه داکروزیا انتیفولیا در شرایط آزمایشگاهی و برون‌تنی بر مخمر کاندیدا آلبیکنس به وسیله تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) با روش رقیق سازی در لوله بررسی کنیم و همچنین این اثر را با یکی از متداول‌ترین آزول‌های مورد استفاده (کتوکونازول) بر ضد این مخمر مقایسه نمائیم. 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 البیکنس بعنوان مدل مناسبی برای بررسی این مسئله درنظر گرفته شد. رایج ترین مدل حیوانی کاندیدیازیس که تزریق یا آلوده‌سازی از طریق رگ دمی موش است که در این مدل در نهایت قارچها در کلیه تجمع می‌یابند و قابل بررسی هستند(۱۲). از اینرو جهت بررسی اثر ضد کاندیدیایی اسانس داکروزیا در شرایط درون تنی از مدل حیوانی سپسیس کاندیدایی استفاده گردید.

روش کار

سرشاخه‌های گیاه داکروزیا انتیفولیا (D. anethifolia) از روستای مهدی آباد (کرمان، ایران) جمع‌آوری شد؛ و توسط گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید باهنر (کرمان- ایران) از نظر گیاه‌شناسی تائید گردید. به وسیله گازکروماتوگرافی در گروه شیمی دانشگاه شهید باهنر (کرمان، ایران) اسانس‌گیری انجام گردید؛ میزان اسانس‌دهی گیاه ۰/۳۷٪ (وزنی/وزنی) بود(۶).

مخمر کاندیدا البیکنس (سوش استاندارد PTCC 5027) از مرکز پژوهش های علمی صنعتی ایران تهیه گردید. جهت تائید از دو تست تشخیصی، کشت بر روی محیط کروم اگار و تشکیل کلنی‌های سبز رنگ و انکوباسیون 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 نئوبار تعیین شد.

به منظور بررسی اثر ضد قارچی اسانس گیاه داکروزیا، تعیین MIC با روش براث دایلوشن (رقت‌سازی 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 میلی‌لیتر) 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 میکرولیتر از سوسپانسیون مخمر کاندیدا آلبیکنس که حاوی ۱۰۰۰ مخمر بود افزوده شد (رقت نهایی ۱۰۰۰ مخمر بر میلی‌لیتر). سپس سریال رقت دو برابر در محدوده ۱۵ میلیگرم بر میلی‌لیتر تا ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتراز استوک

اولیه اسانس با غلظت ۷۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. یک لوله به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد که فقط حاوی مخمر بود. لوله‌ها در انکوباتور شیکردار با دمای ۳۲ درجه و ۱۵۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. بعد از این مدت لوله‌ها 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 میکرولیتر از محتوای لوله‌هایی 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 سانتی‌گراد انکوبه 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. دراین مرحله ابتدا MIC داروی کتوکونازول با روش مذکور و استفاده از سریال رقت (از ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر تا ۰/۰۳۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، تعیین شد. بعد از انکوباسیون ۲۴ ساعته لولهها با شرایط قبل، MIC کتوکونازول در شرایط آزمایشگاهی موجود تعیین شد.

مطابق مرحله قبل لوله های حاوی SDB آماده و تعداد ۱۰۰۰ مخمر بر میلی‌لیتر از کاندیدا آلبیکنس در آنها کشت داده شد. در ۱۲ لوله (دو سری ۶ تایی) به ترتیب سریال رقت دو برابر، در محدوده ۲- ۰/۰۳۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر از کتوکونازول تهیه شد. در یک سری از لوله‌ها جهت بررسی اثر سینرژیسمی این دو ترکیب، غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (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 لوله‌ها 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 میکرولیتر از هر لوله بر روی پلیت SDA کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد، شمارش کلنی انجام شد.

در مدل حیوانی کاندیدیازیس ابتدا دوازده سر موش BALB/c ماده انتخاب و وزن شد و به سه گروه چهارتایی کنترل، داکروزیا و کتوکونازول تقسیم شد. به هر موش در هر گروه، ۵ میلیون مخمر کاندیدا البیکنس از راه ورید دمی تزریق شد. یکساعت بعد از آلوده سازی مقادیر متناسب برای تجویز ۲ گرم بر کیلوگرم اسانس داکروزیا و ۲۰ میلی‌گرم 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

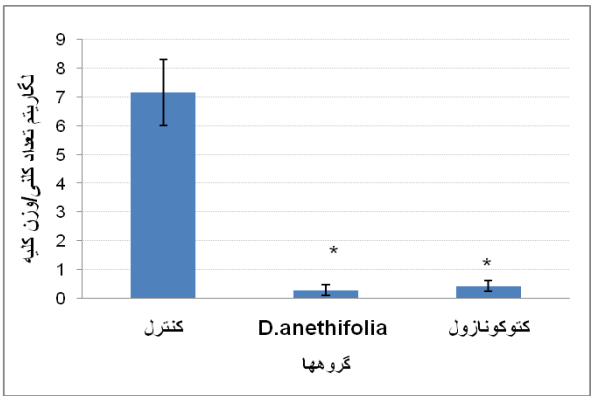
MIC اسانس داکروزیا برای سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس در محدوده ۱۵-۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. میزان MFC دو برابر MIC (۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود. میزان MIC برای داروی کتوکونازول در شرایط آزمایشگاهی موجود ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. رشد یا عدم رشد کلنی‌ها در حضور غلظت‌های مختلف داروی کتوکونازول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

جدول۱: رشد یا عدم رشد (- / +) کاندیدا آلبیکنس در حضور غلظت‌های مختلف کتوکونازول به تنهایی و همراه با اسانس داکروزیا

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 داکروزیا	-	-	-	-	-	+

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

در شرایط درون‌تنیموش 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 کلنی‌های رشد یافته / وزن کلیه کشت داده شده استفاده گردید(۱۶). نتایج حاصل از شمارش کلنی‌های رشد یافته در کلیه در نمودار ۱ نشان داده شده است، تعداد کلنی‌ها در موش کنترل ۷/۱۶ ±۱/۱۴ ، در موش‌های دریافت کننده اسانس ۰/۲۹±۰/۱۸ و در موش های گروه کتوکونازول ۰/۴۳±۰/۱۸ است. این نتایج نشان می‌دهد که اثر ضد کاندیدایی اسانس در شرایط درون‌تنی مشابه اثر ضد قارچ متداول کتوکونازول است و هر دوی این مواد توانسته‌اند تعداد کلنی‌های رشدیافته بر روی کلیه را بطور معنی‌داری کاهش بدهند (به ترتیب $P < ۰/۰۰۰۰۰۸$ و $P <۰/۰۰۰۰۰۹$). تفاوت مشاهده شده بین کتوکونازول و اسانس معنی‌دار نبود.



نمودار۱: شمارش کلنی‌های کاندیدا آلبیکنس رشدیافته 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 یافته‌های رو به تزاید در رابطه با اثرات جانبی داروهای صناعی و پیدایش مقاومت به این داروها در میکروب ها، مطالعه بر روی خواص ضدمیکروبی گیاهان را در کانون توجه تحقیقات اکادمیک، صنایع داروسازی و غذایی قرار داده است. هدف بسیاری از این مطالعات یافتن ضد میکروب‌های 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 بهره‌وری 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 میدهد که در شرایط برونتنی در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رشد کاندیدا آلبیکنس را مهار کرده ودر کنار داروی کتوکونازول قدرت ضد کاندیدایی این داروی شیمیایی متداول به میزان ۴ برابر افزایش پیدا می‌کند. همچنین در شرایط درون بدن موجود زنده نیز اثری همانند یکی از متداول‌ترین ضد قارچهای صناعی یعنی کتوکونازول دارد.

اسانس این گیاه عمدتا از ترکیبات آلیفاتیک تشکیل شده است. اجزا عمده هیدروکربن‌های 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%) می‌باشند(۶).

مطالعات مختلفی اثر ضد میکروبی و ضد قارچی بسیاری از اسانس‌های گیاهی را نشان می‌دهد. اثر مهاری این اسانس‌ها بر گونه‌های مختلف قارچها ممکن است به دلیل وجود درصد نسبتا بالایی از مونوترپن‌های اکسیژنه باشد(۱۷). یکی از ترکیبات موجود در اسانس روغنی داکروزیا، الفا پینن می‌باشد و مطالعات نشان می‌دهد که گیاهانی که در ترکیبات خود دارای این مولکول هستند فعالیت ضد میکروبی دارند . گیاهان Lavandula angustifolia که حاوی pinene و Limonene، beta-ocimeneو sabinene 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, myrcene, sabinene , limonene است نیز دارای فعالیت ضد میکروبی است(۱۹).

Tea tree oil یکی دیگر از گیاهان دارویی مهم است، این گیاه دارای اجزای تقریبا مشابهی با داکروزیا می‌باشد. از جمله اجزای مهم این گیاه می‌توان به 1,8-cineole، terpinen-4-ol و alpha-terpineol اشاره کرد؛ گزارش شده است که این گیاه دارویی دارای خواص زیادی می‌باشد از آن جمله میتوان به خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی آن اشاره نمود(۲۰). اگر چه اسانسهای گیاهان متعددی اثرات ضد قارچی را نشان دادهاند اما روشن شدن مکانیسم اثر نیازمند مطالعات بیشتری است. پیشنهاد شده است که الکلها یا الدئیدهای فنلی موجود در اسانس گیاهان میتوانند با پروتئینهای آنزیمی مرتبط با غشا میان‌کنش داشته و درنهایت 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-olدر 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 می‌توان استنباط کرد که آلفا پنین که هیدروکربن عمده تشکیل دهنده اسانس گیاه داکروزیا می‌باشد عامل اصلی اثر ضد کاندیدیایی این گیاه است (۶, ۱۸). هم چنین کاربرد هم زمان اسانس با کتوکونازول، یک ضد قارچ شناخته شده، اثر سینرژیسمی بسیار بالایی را نشان می دهد. به طوری که در حضور اسانس میزان مصرف کتوکونازول برای رسیدن به عدم رشد تا چهار برابر کاهش می‌یابد که با توجه به اثرات جانبی حاصل از ضد کاندیداهای صناعی 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 صناعی مهم است هرچند 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 کاملا خالص است و اگر جزء یا اجزاء ضدقارچی از اسانس استخراج و تخلیص شوند مسلما به دوز پائین‌تری نیاز خواهد بود.

این گیاه در مصرف سنتی به عنوان یک طعم‌دهنده غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد که نشان میدهد بخوبی قابلیت مصرف خوراکی داتشه و حاوی اجزاء سمی نیست. تزریق داخل صفاقی اسانس گیاه نیز علائم غیرعادی و توکسیک در حیوان ایجاد نکرد. با توجه به اثرات ضدمیکروبی مشاهده شده می‌توان از این گیاه علاوه بر مصارف دارویی، در صنایع غذایی نیز در حفاظت فعال از آلودگی استفاده نمود و نیاز به مواد نگهدارنده صناعی 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 حفاظت‌بخشی این اسانس در برابر کاندیدا در داخل بدن موثر باشد و همچنین اثر هم‌افزائی این اسانس با کتوکونازول یا سایر داروهای شیمیایی در شرایط درون تنی مطالعات بیشتری صورت بگیرد.

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.

تشکر و قدردانی

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

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 fluconazoleresistant oropharyngeal candidiasis in HIVinfected patients. Eur J Clin Microbiol InfectDis. 1993;12:911 - 5.

3. Kuiate JR, Tene M, Tane P, Tamokou JD. Antimicrobial clerodane diterpenoids fromMicroglossa angolensisOliv. 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. Haghi G, Safaei A, Safari J. Extraction and determination of the main components of the essential oil of Ducrosia anethifolia by GC nd 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, Bhatty 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 Amphotricin. 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.