

مقایسه اثر غلظت های عصاره هیدروالکلی گیاه کاسنی (*Cichorium intybus* L.) و بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) به تنهایی و ترکیب با نیستاتین بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس جدا شده از عفونت واژینیت در شرایط invitro

فاطمه ابراهیمی^۱، کامبیز روشنایی^{۱*}، فاطمه جمالو^۱

(۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۱۹

تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۱۳

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. این مطالعه به منظور مقایسه اثر غلظت عصاره های گیاه بابونه و کاسنی به تنهایی و ترکیب با داروی نیستاتین بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس جدا شده از عفونت واژینیت در شرایط آزمایشگاهی و مقایسه آن با سوش استاندارد مورد بررسی قرار گرفت. **مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی اثرات ضد قارچی دو گیاه دارویی روی کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان مورد نظر بابونه و کاسنی بودند. این گیاهان بر حسب استفاده های دارویی قدیمی و مطالعات گذشته ای که انجام شده بود انتخاب شدند. کاندیدا آلبیکنس در محیط سابرو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل، کشت داده شد. سه سری ۱۰ تایی از عصاره گیاهان مورد نظر و یک سری ۱۰ تایی از دیسک آغشته به نیستاتین آماده شد. داخل هر پلیت، ۱ دیسک عصاره گیاهی، ۱ دیسک نیستاتین به عنوان کنترل مثبت و یک دیسک متانول و ۱ دیسک خالی به عنوان کنترل منفی گذاشته شد. بعد از ۲۴ ساعت، میزان قطر هاله عدم رشد هر عصاره گیاهی با میزان قطر هاله عدم رشد کنترل مثبت با آنالیز ANOVA مقایسه شد ($P < 0.05$).

یافته های پژوهش: قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک های کاسنی و بابونه با ارتباط معنی داری با نیستاتین دیده شد ($P \leq 0.05$). میزان هاله عدم رشد نیستاتین (۳۰) میلی متر از بابونه (۲۱) میلی متر بیشتر بود و میزان هاله عدم رشد نیستاتین (۲۸) میلی متر با تفاوت معنی داری از کاسنی (۱۷) میلی متر بیشتر بود ($P \leq 0.05$). هم چنین میزان هاله عدم رشد در ترکیب بابونه و نیستاتین (۴۷) میلی متر از بابونه (۲۱) میلی متر بیشتر بود و میزان هاله عدم رشد در ترکیب کاسنی و نیستاتین (۴۵) میلی متر از کاسنی (۱۷) میلی متر بیشتر بود.

بحث و نتیجه گیری: کاسنی و بابونه تاثیرات ضد قارچی روی کاندیدا آلبیکنس را نشان دادند. ولی تاثیر بابونه بر روی عدم رشد سویه های کاندیدا آلبیکنس نسبت به کاسنی بیشتر بود.

واژه های کلیدی: تاثیر ضد قارچی، عصاره هیدروالکلی، کاسنی، بابونه، نیستاتین

*نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

مقدمه

واژینیت، یک بیماری متداول ناحیه ژنیتال می باشد که هر ساله حدود ده میلیون از مراجعات پزشکی را به خود اختصاص می دهد. شایع ترین عوامل ایجاد کننده واژینیت ها، باکتری ها بوده و کاندیدا آلبیکنس به عنوان دومین عامل بروز این عفونت ها محسوب می شود. ولوواژینیت کاندیدایی یک عفونت مخاطی فرصت طلب و شایع می باشد که بیشتر به علت قارچی به نام کاندیدا آلبیکنس ایجاد می شود. این بیماری بیشتر در زنان سالم در سن باروری ایجاد شده و باعث ناراحتی و گرفتاری آن ها می شود که غالباً ناشناخته باقی می ماند (۱). کاندیدا آلبیکنس-مخمر-یک قارچ طبیعی ساکن حیوانات خونگرم و انسان است. این قارچ به طور طبیعی و بدون داشتن زبانی در مهبل (واژن) زنان و روده زنان و مردان رشد می کند (۲). این قارچ بسته به طبیعت میزبان، دو گروه عفونت را به وجود می آورد: عفونت های سطحی (مانند: دهانی، مهبل و کاندیدیازیس جلدی) که در افراد سالم هم دیده می شود، عفونت های عمقی (مانند: ریوی، گوارشی، ادراری و کاندیدی) که در افراد با اختلال شدید ایمنی رخ می دهد (۳). واژینیت کاندیدایی همواره یکی از معضلات پزشکی در بین زنان است. در ایجاد واژینیت کاندیدایی، عوامل بیماریزای متعددی از جمله فاکتورهای مرتبط با عامل بیماریزا و عوامل مرتبط با میزبان از اهمیت خاصی برخوردار هستند (۴). از جمله عوامل بیماریزا می توان به قدرت اتصال کاندیدا به بافت میزبان از طریق عواملی مانند مولکول های چسبنده و پروتئین هایی که این اتصال را تسریع می کند اشاره نمود (۵). عفونت های کاندیدا باید درمان شوند؛ زیرا ممکن است در بیماران نوتروپنیک و نقص ایمنی، انتشار یابند. روش درمانی چنین عفونت هایی یک چالش بزرگ است؛ زیرا مقاومت پاتوژن ها نسبت به تعدادی از داروهایی که مورد استفاده وسیع هستند؛ افزایش یافته است (۶). مشکلات همراه با درمان و مدیریت عفونت های کاندیدا، کشف عوامل ضدقارچی جدید به منظور گسترده تر کردن طیف فعالیت علیه کاندیدا را ضروری می سازد. فرآورده های طبیعی مشتق شده از گیاهان ممکن است به صورت بالقوه منجر به ترکیبات جدیدی

شوند که می توانند سبب مهار رشد این قارچ ها شود (۷). از طرفی درمان های سنتی ارزاتر و موثرتر از درمان های مدرن می باشند و در واقع در جوامعی که از گیاهان دارویی استفاده می کنند خطر ابتلاء به عفونت کمتر است (۸). از دیرباز در مناطق غربی ایران برای درمان عفونت واژینال از عصاره های گیاهی مختلفی استفاده می کردند.

گیاه مورد مطالعه کاسنی و نام علمی آن (*Cichorium intybus* L.) می باشد. گیاه کاسنی متعلق به تیره مرکبات، زیر تیره زبانه گلی ها و از مهم ترین گیاهان تیره (*Asteraceae*) می باشد. این گیاه دارای ریشه نسبتاً ضخیم و عمود، ساقه حامل تعداد زیادی گل های آبی رنگ و برگ های پائینی ساقه بریده و برگ های بالایی آن به صورت ساده و از نوع متناوب است. ارتفاع ساقه کاسنی در حالت وحشی به ۰/۵ تا ۱/۵ متر می رسد ولی گاهی از ۲ متر هم تجاوز می کند. موسم گل دهی گیاه کاسنی در تابستان از تیر ماه تا شهریور ماه است. این گیاه در سراسر قاره اروپا به عنوان گیاه زینتی و دارویی کشت داده می شود. در ایران در نواحی کوهستانی، خراسان، گیلان و مازندران، زنجان، تهران، اصفهان و بسیاری از مناطق دیگر می روید (۹). از جمله ترکیبات مهم گیاه کاسنی، ترکیبات فلاونوئیدی و ترپنوئیدی می باشد (۱۰). بابونه با نام علمی *Matricaria chamomile* گیاهی از تیره کاسنی (مرکبات) است. ارتفاع این گیاه بین ۳۰ تا ۷۰ سانتی متر متغیر بوده و ساقه آن دارای انشعاب هایی است که هر یک از آن ها به کاپیتول هایی به قطر ۲/۵-۱ سانتی متر منتهی می شود. گل ها از دو نوع گلچه زبانه ای و لوله ای تشکیل شده اند و در انتهای ساقه مشاهده می شوند. گلچه های کناری زبانه ای به رنگ سفید و تعداد آن ها متفاوت و بین ۱۲ تا ۱۸ عدد در هر گل است و این گلچه ها از نظر جنسی ماده هستند (۱۱). گلچه های میانی نهنج لوله ای به رنگ زرد دیده می شوند. این گلچه ها از نظر جنسی نر ماده (دوجنسی) بوده که پس از باز شدن، استوانه ای شکل می شوند. گل آذین بابونه یک کاپیتول انتهایی است (۱۲). عصاره بابونه از ۱۲۰ نوع ترکیب شیمیایی تشکیل شده است که شامل کامازولین ها، فلاونوئیدها

تهیه نمونه: در این بررسی از ۳۰ نفر نمونه گیری شد، در ابتدا جهت زنان مشکوک به واژینیت که باردار نباشند پرسش نامه ای تکمیل گردید و سوال هایی شامل: سن، شغل، میزان تحصیلات، علائم بیماری (خارش، سوزش، ترشح...) پرسیده شد. سپس جهت گرفتن نمونه بیمار را در وضعیت لیتوتومی قرار داده و توسط سواپ استریل از ترشحات آن ها نمونه برداری کردیم و سواپ را ابتدا درون لوله های درپیش دار حاوی ۰/۵ سی سی نرمالین سالین و جهت کشت مستقیم بر روی سابروز دکستروز حاوی کلرامفنیکل قرار داده شد. سپس نمونه را بعد از کشت بر روی محیط سابروز دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل، به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرم خانه گذاری کرده، سپس با به کارگیری تست های مرفولوژی (رنگ آمیزی گرم جهت مشاهده وجود مخمر دارای جوانه و سودوهایف) ماکرومیکروسکوپی توانایی تولید لوله زایا در سرم ایجاد کرده و جهت کشت بر محیط کروم آگار به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد. در نهایت با سپری کردن این مراحل می توان گونه آلبیکنس را از غیر آلبیکنس جدا نمود.

آنالیز آماری: داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS vol.18 و روش آماری تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون مقایسه زوج ها (Paired Samples Test) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و سطح معنی دار در همه این حالات $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفته و نمودارهای میانگین به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نمایش داده شد.

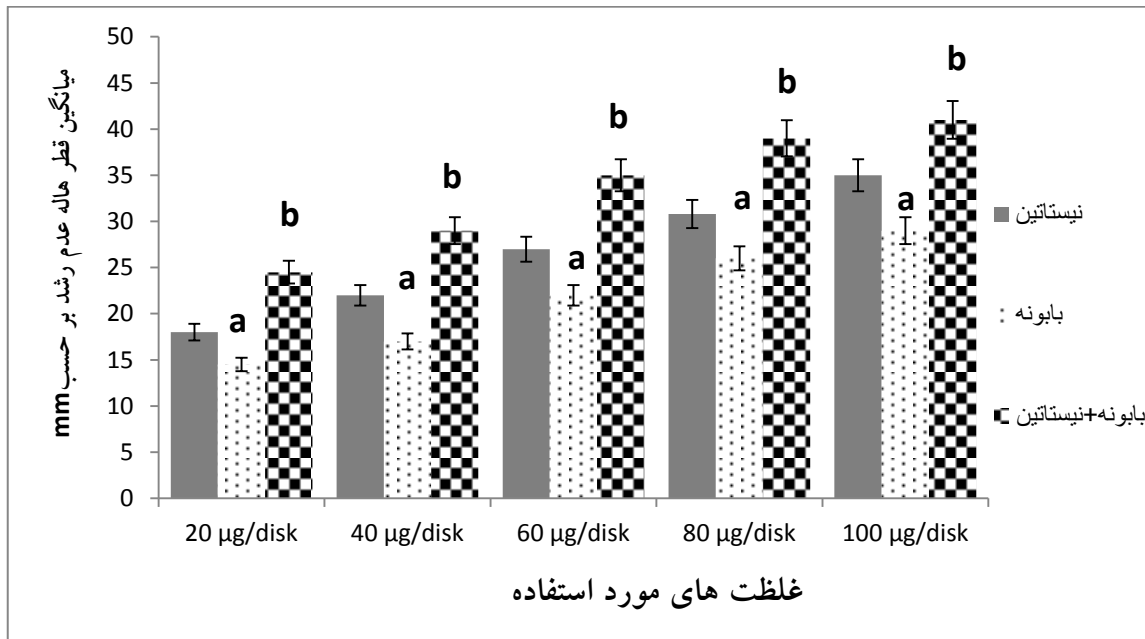
یافته های پژوهش

قطر هاله عدم رشد در حضور نیستاتین-بابونه، نیستاتین و بابونه: بر اساس نتایج به دست آمده (نمودار شماره ۱) میانگین قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت ها افزایش یافته است و میزان هاله عدم رشد داروی نیستاتین نسبت به گیاه بابونه بیشتر و دارای اختلاف معنی داری در سطح $P < 0.05$ ، a می باشد. اما میزان هاله عدم رشد ترکیب نیستاتین و بابونه نسبت به داروی نیستاتین افزایش یافته و دارای اختلاف معنی داری در سطح $P < 0.05$ ، b می باشند.

و کومارین ها بوده و از مهم ترین اجزای فعال موجود در آن کامازولین، آپی جنین و بیزابولول را می توان نام برد (۱۳). از آن جایی که مطالعات گذشته اثرات ضد میکروبی (ضد قارچی و ضد باکتری) گونه های مختلف گیاه کاسنی (۱۴) و بابونه (۱۵) را نشان داده است، لذا هدف از انجام این تحقیق، مقایسه اثر عصاره هیدروالکلی گیاه کاسنی و بابونه بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس جدا شده از عفونت واژینیت در شرایط *in vitro* می باشد.

مواد و روش ها

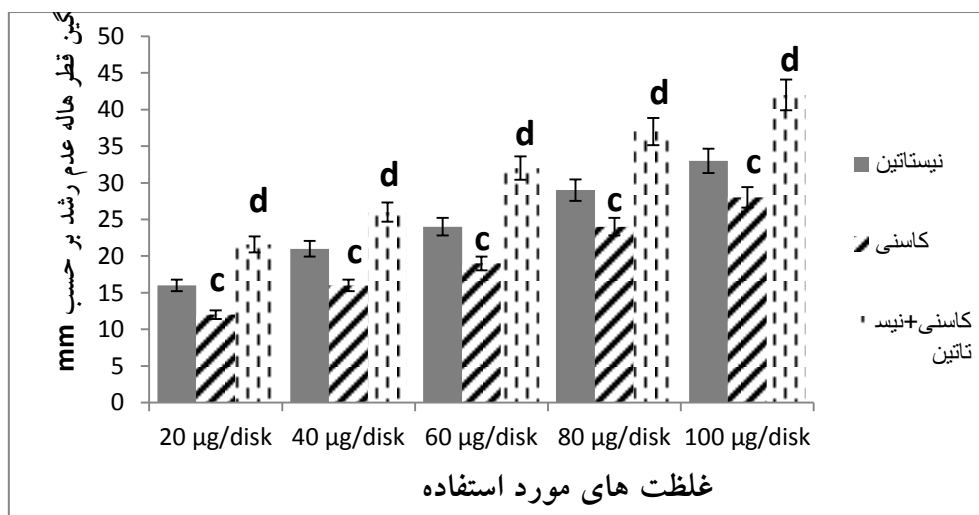
عصاره گیری: جهت تهیه عصاره های مورد مطالعه، گیاهان کاسنی و بابونه از مناطق مختلف استان جمع آوری و در دمای محیط و سایه (به دور از نور مستقیم) خشک گردیدند. سپس با کمک آسیاب گیاه را به صورت پودر درآورده و ۲/۲ گرم از پودر حاصله در دستگاه سوکسله قرار گرفته و از اتانول ۷۰ درصد (cc ۳۰) به عنوان حلال استفاده شد. ابتدا سوکسله روی حرارت (هیتر) قرار گرفت و با داغ شدن و جوشیدن اتانول درون بالن سوکسله، اتانول ۷۰ درصد (cc ۳۰) بخار شده وارد مخزن بالایی سوکسله شده با پودر گیاه ترکیب شده و اتانول به رنگ قهوه ای روشن درآمد و اتانول همراه مقداری از گیاه که در آن حل شده بود وارد بالن سوکسله می گردید و دوباره اتانول ۷۰ درصد (cc ۳۰) بخار شده وارد مخزن بالایی سوکسله شده و در تماس با پودر گیاه قرار گرفت و در هر بار مقداری از عصاره را حل کرده و با خود وارد بالن سوکسله می کند، بعد از حدود شش ساعت همه عصاره به داخل بالن وارد می شود. عصاره حل شده در اتانول ۷۰ درصد (cc ۳۰) را ابتدا صاف کرده و سپس برای جداسازی عصاره و اتانول ۷۰ درصد (cc ۳۰) را در دستگاه روتاری با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد، با دور ۶۰ دور در دقیقه قرار داده شد تا عصاره مورد نظر از آب و اتانول ۷۰ درصد (cc ۳۰) جدا شود، سپس عصاره را به صورت مایع از روتاری اواپراتور خارج کرده و در پلیت و در آون با دمای پایین خشک کردیم و در نهایت برای این که مواد موثر خود را از دست ندهد، در یخچال و دور از نور نگهداری شد.



نمودار شماره ۱. نمودار قطر هاله عدم رشد در حضور نیستاتین-بابونه، نیستاتین و بابونه

هاله عدم رشد ترکیب نیستاتین و کاسنی نسبت به داروی نیستاتین افزایش یافته و در غلظت های ۲۰، ۴۰ و ۶۰ µg/ml دارای اختلاف معنی داری در سطح $P < 0.05$ و در غلظت های ۸۰ و ۱۰۰ µg/ml دارای اختلاف معنی داری در سطح $P < 0.05$ (d) می باشند.

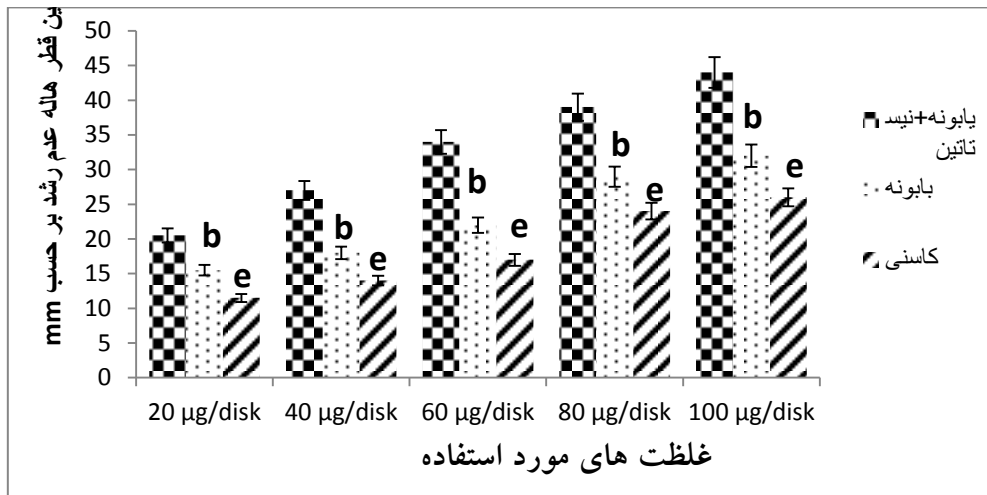
قطر هاله عدم رشد در حضور نیستاتین-کاسنی، نیستاتین و کاسنی، بر اساس نتایج به دست آمده (نمودار شماره ۲) میانگین قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت ها افزایش یافته است و میزان هاله عدم رشد داروی نیستاتین نسبت به گیاه کاسنی بیشتر و دارای اختلاف معنی داری در سطح $P < 0.05$ (c) می باشد. اما میزان



نمودار شماره ۲. میانگین قطر هاله عدم رشد در حضور نیستاتین-کاسنی، نیستاتین و کاسنی

قطر هاله عدم رشد در حضور نیستاتین/بابونه، بابونه و کاسنی: بر اساس نتایج به دست آمده (نمودار شماره ۳) میانگین قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت ها افزایش یافته است و میزان هاله عدم رشد بابونه نسبت به کاسنی افزایش یافته و دارای اختلاف معنی داری در

سطح $P < 0.05$ می باشد. هم چنین میزان هاله عدم رشد ترکیب داروی نیستاتین و بابونه نسبت به بابونه نیز افزایش یافته و در اختلاف معنی داری در سطح $P < 0.05$ می باشد.



نمودار شماره ۳. میانگین قطر هاله عدم رشد در حضور نیستاتین/بابونه، بابونه و کاسنی

بحث و نتیجه گیری

شایع ترین عوامل ایجادکننده واژینیت ها، باکتری ها بوده و کاندیدا آلبیکنس به عنوان دومین عامل ایجادکننده این عفونت محسوب می شود. هم چنین شایع ترین مخمر جدا شده از واژن شامل کاندیدا آلبیکنس (۸۵ تا ۹۰ درصد) می باشد و در زنان با علائمی نظیر تورم، قرمزی، سوزش و خارش لب های مهبل و ترشحات شیری و سفید رنگ بروز می کند (۱۶). عدم دسترسی آسان و گران بودن داروها، اثرات جانبی و به ویژه توسعه مقاومت دارویی منجر به استفاده از مواد بیولوژیکی به عنوان راه حل های جایگزین گردیده است. در این میان به نظر می رسد گیاهان و ترکیباتی که از گیاهان مشتق شده اند راه حل های مناسبی برای درمان بیماری های عفونی مقاوم باشند (۱۷). در مطالعه حاضر تاثیر مهاری اسانس گیاه بابونه و کاسنی بر سویه بومی کاندیدا آلبیکنس مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج به دست آمده از اندازه گیری قطر هاله عدم رشد نشانگر این است که عصاره بابونه و کاسنی دارای خاصیت ضد باکتریایی و

ضد قارچی هستند و عصاره گیاه بابونه نیز دارای اثر ضد باکتریایی قوی تری نسبت به عصاره گیاه کاسنی می باشد.

فعالیت های ضد قارچی بابونه به وسیله محققین متعدد به اثبات رسیده است (۱۸). در این زمینه، بر اساس مطالعات حسینی پور و همکاران طی سال ۲۰۱۳، امکان استفاده از اسانس بابونه برای مقابله با میکروب های بیماریزا به عنوان یک جایگزین بی ضرر برای آنتی بیوتیک ها وجود دارد (۱۹). علاوه بر این، در مطالعه طالبی فعالیت ضد قارچی بابونه علیه کاندیدا آلبیکنس حساس بررسی و نتایج آن نشان داد که بابونه می تواند از رشد کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی ممانعت کند که با نتایج حاصل از این تحقیق هم خوانی دارد (۲۰). بابونه به عنوان گیاه دارویی دارای مواد فعال بیولوژیکی است که از آن جمله می توان به فلاونوئیدها و کومارین ها اشاره کرد (۲۱). فلاونوئیدها از جمله مهم ترین مواد تشکیل دهنده گل بابونه هستند و فلاونول-O- گلیکوزیدها بیشترین میزان این ترکیبات را تشکیل می دهد (۲۲).

فلاونوئیدها ترکیبات هیدروکسیله فنلی هستند که دارای اثرات آنتی اکسیدانی می باشند و به صورت یک گروه متصل به یک حلقه آروماتیک مشاهده می شوند. طبق بررسی های انجام شده، این ترکیبات توسط گیاهان در پاسخ به عفونت های میکروبی ساخته می شوند. فعالیت آن ها به علت اتصالشان به پروتئین های خارج سلولی و محلول و اتصال به دیواره سلولی باکتری ها می باشد. با توجه به اتصال فلاونوئیدها به پروتئین ها، فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات مربوط به توانایی آن ها در غیر فعال کردن آدهسین ها، آنزیم ها و پروتئین های انتقال دهنده غشای سلول می باشد (۲۳). در این خصوص بر اساس مطالعات صورت گرفته، فلاونوئیدهای موجود در انار به همراه پروتئین هایی با وزن مولکولی زیاد، کمپلکس های پیچیده ای را تشکیل می دهند و بدین ترتیب پس از جذب می توانند با آنزیم های سلولی (اکسید وردکتاز) موجود در سیتوپلاسم و دیواره سلولی واکنش داده و خاصیت ضد میکروبی خود را اعمال می کنند (۲۴). هم چنین طی نتایج تحقیقات دیگر در این خصوص، اثر ترکیبات فنولیک بر رشد میکروب ها و تولید سم می تواند در نتیجه قابلیت ترکیبات فنولیک در تغییرپذیری دیواره سلولی و خروج ماکرومولکول ها از درون سلول نیز باشد. هم چنین این ترکیبات می توانند با پروتئین های غشاء واکنش داده و باعث تغییر شکل این پروتئین ها و به تبع آن تغییر در عملکرد آن ها شوند (۲۵). از طرفی با توجه به نتایج حاصل از پژوهش فرهنگی و سایر محققین، اسانس گیاه نعنای فلفلی به دلیل دارا بودن تیمول، منتول، ترکیبات فنول و فلاونوئید، و هم چنین اکسید کننده هایی مانند پیپریتون اکسید و ترپن ها دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد مخمیری به خصوص کاندیدا آلبیکنس می باشد که با نتایج پژوهش حاضر هم راستا می باشد (۲۶).

کومارین ها ترکیباتی فنلی اند که از الحاق بنزن و α -پیرون تشکیل می شوند (۲۷). نتایج مطالعات در زمینه خواص ضد باکتریایی کومارین ها نشان می دهد که کومارین از طریق ایجاد منافذ در دیواره سلولی قارچ کاندیدا آلبیکنس، سبب نشت و نکروز محتوای سیتوپلاسمی و به دنبال آن مرگ سلولی می شود (۲۸).

علاوه بر این، محققان در طی پژوهش های خود اظهار داشتند، کومارین موجب کاهش محتوای ارگوسترول سلول قارچی می شود. ارگوسترول به عنوان معیاری برای سیالیت غشاء می باشد و افزایش آن نشان دهنده سلامت غشاء در سلول قارچی می باشد. از این رو مهار سنتز ارگوسترول، منجر به تغییر در ساختار و عملکرد غشای سلولی و در نتیجه کاهش سلول قارچ می شود (۲۹). عصاره گیاه کمای بیابانی نیز، اثرات ضد میکروبی خود را به واسطه وجود کومارین اعمال می کند. هدف احتمالی کومارین ها، پلی پپتیدهای دیواره سلولی و آنزیم های متصل به غشا هستند. کومارین ها هم چنین می توانند سوبسترای آنزیم ها را برای میکروارگانیسم ها غیر قابل دسترس کنند (۳۰). بنا بر این با توجه به حضور ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدها و کومارین در گیاه بابونه، این ترکیبات احتمالاً از طریق اتصال به پروتئین ها و تغییر در عملکرد آن ها، فعالیت ضد میکروبی خود را اعمال می کنند. گیاه دیگر مورد مطالعه در این پژوهش، کاسنی می باشد. در این خصوص دانشمندان، اثر ضد میکروبی عصاره کاسنی را بررسی کرده و نشان دادند هم عصاره آبی و هم عصاره الکلی این گیاه بر روی این باکتری ها موثر می باشد. بر طبق این مطالعه، تقریباً همه ترکیبات ضد میکروبی شناخته شده در این گیاه آروماتیک یا ترکیبات آلی هستند و بیشتر از طریق حلال های اتانولی و متانولی استخراج می شوند (۳۱). شیخی و همکاران نیز طی مطالعات خود در سال ۲۰۱۲، فعالیت ضد قارچی اسانس کاسنی را در مدل عفونت کاندیدیایی در شرایط *in vitro* و *in vivo* بررسی کرده و اثبات کردند که این گیاه دارای قدرت ضد قارچی می باشد (۳۲). نتایج به دست آمده از این تحقیقات با نتایج مطالعه حاضر، مشترک می باشد. تحقیقات جعفری و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان داده اند که عصاره گیاه کاسنی دارای ترکیبات تری پنوئیدی و مونوترپن هایی است که فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری های گرم منفی دارند (۳۳). عصاره های گیاهی، متابولیت های ثانویه ای هستند که غنی از ترکیبات با هسته مرکزی ایزوپرنی هستند. این ترکیبات با نام عمومی ترپن ها خوانده می شوند که ساختار شیمیایی عمومی آن ها $C_{10}H_{16}$

هاله عدم رشد ترکیب داروی نیستاتین و گیاه کاسنی در غلظت های فوق به ترتیب ۵۰ و ۴۵ میلی لیتر محاسبه گردید که با مطالعات مشابه هم خوانی دارد (۳۸). در مطالعه مشابه ای که در سال ۲۰۱۲ توسط بهمنی و همکاران انجام شد، مقادیر غلظت های مهارکنندگی و کشندگی گیاه بابونه در رابطه گونه کاندیدا آلبیکنس به اثبات رسید (۳۹)، با قطر عدم هاله رشد ترکیب گیاه بابونه و داروی نیستاتین در مطالعه حاضر که در غلظت های ۸۰ $\mu\text{g/ml}$ و ۱۰۰ به ترتیب ۳۹ و ۴۷ می باشد هماهنگی دارد. با توجه به این نتایج می توان از عصاره این گیاهان و فرآورده های آن برای درمان برخی از عفونت ها استفاده نمود که البته این مسئله تحقیقاتی را بر روی نمونه های حیوانی آزمایشگاهی نیاز دارد. از طرفی با توجه به محدودیت های روز افزون استفاده از مواد شیمیایی ضد میکروبی نظیر عوارض جانبی و ایجاد مقاومت دارویی، نیاز به جایگزینی این مواد با مواد طبیعی از جمله عصاره های این گیاهان دارد و می تواند در کنترل بیماری ها مفید باشد. بنا بر این از آن جایی که عصاره هیدروالکلی گیاهان کاسنی و بابونه اثر مهارکنندگی و کشندگی بر علیه قارچ کاندیدا آلبیکنس در شرایط برون تنی (in vitro) نشان داد، این تحقیق می تواند مقدمه ای برای انجام مطالعات بیشتر در شرایط درون تنی (in vivo) بررسی تاثیر دما و سایر شرایط فیزیولوژیک بدن انسان بر این عصاره و هم چنین احتمال پیدایش مقاومت دارویی تحقیقات بیشتری انجام شود.

است و به صورت مونوترپن، دی ترپن، تترترپن و تترترپن ها مشاهده می شوند. هنگامی که این ترکیبات حاوی عناصر دیگری (معمولاً اکسیژن) باشند، ترپنوئید نامیده می شوند. ترپنوئیدها از واحدهای استات ساخته می شوند و دارای مبداء مشترکی با اسید چرب هستند. تفاوت آن ها با اسیدهای چرب در انشعابات فراوان و حلقوی بودن آن ها است (۳۴). در این رابطه، اصغریان و همکاران خود در طی تحقیقات خود در سال ۲۰۱۵، فعالیت مهارکنندگی ترپنوئیدها علیه باکتری ها، قارچ ها و ویروس ها مورد بررسی قرار گرفته است. مکانیسم عمل ترپنوئیدها احتمالاً به صورت تشکیل کانال های یونی در غشای میکروبی یا مهار رقابتی آدهسین های پروتئین های میکروبی یا گیرنده های پلی ساکارییدی میزبان است (۳۵). بنا بر این با توجه به حضور ترپنوئید در گیاه کاسنی، این ترکیبات احتمالاً از طریق اتصال به پروتئین ها و تغییر در عملکرد آن ها، فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی خود را اعمال می کنند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که عصاره گیاه بابونه و کاسنی دارای خاصیت ضد میکروبی می باشند و گیاه بابونه بیشترین خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی را در مقایسه با عصاره گیاه کاسنی دارد. فعالیت ضد میکروبی و از جمله ضد قارچی گیاهان کاسنی (۳۶) و بابونه (۳۷)، احتمالاً مربوط به ترکیبات و اجزای ضد میکروبی آن ها می باشد. بر اساس این مطالعه غلظت های ۸۰ $\mu\text{g/ml}$ و ۱۰۰ داروی نیستاتین در مطالعه حاضر دارای هاله عدم رشد به میزان ۲۶ و ۲۸ میلی متر می باشد اما میزان قطر

References

- Mengistie Z, Woldeamanuel Y, Asrat D, Adera A. Prevalence of bacterial vaginosis among pregnant women attending antenatal care in Tikur Anbessa university hospital Addis Ababa Ethiopia. BMC Res Notes 2014;7:822 .
- Ronsani MM, Moresymovicz AU, Meira TM, Trindade AM, Guariza O, Tanaka OM, et al. Virulence modulation of Candida albicans biofilms by metal ions commonly released from orthodontic devices. Microb Pathog 2011 51:421-5.
- Porzoor A, Macreadie IG. Application of yeast to study the tau and amyloid- β abnormalities of Alzheimers disease. Alzheimers Dis 2013;35:217-225.
- Patenaude C, Zhang Y, Cormack B, Kohler J, Rao R. Essential role for vacuolar acidification in Candida albicans virulence. J Biol Chem 2013; 288: 26256-64.
- Pietrella, D, Angiolella L, Vavala E, Rachini A, Mondello F, Ragno R, et al. Beneficial effect of Mentha pulegium essential oil in the treatment of vaginal candidiasis assessed by real time

- monitoring of infection. BMC Comple Alt Med2011;2:71-6.
6. Begnami AF, Duarte MCT, Furletti V, Rehder VLG. Antimicrobial potential of *Coriandrum sativum* L. against different candida species in vitro. Food Chem2010; 118:74-7.
 7. Noumi E, Snoussi M, Hajlaoui H, Valentin E, Bakhrouf A. Antifungal properties of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts against oral candida strains. Eur J Clin Microbiol Infect Dis2010;29:81-8.
 8. Nasrolahi Z, Yadegari MH, Moazeni SM. Antifungal effect green tea polyphenols *Camellia sinensis* on *Candida albicans*. J Med Sci 2009; 12: 71-7.
 9. Shad MA, Nawaz H, Rehman T, Ikram N. Determionation of some biochemicals phytochemicals and antioxidant properties of different parts of *Cichorium intybus* L a comparative study. J Anim Plant Sci2013;23:1060-66.
 10. Sharma R, Mahajan S, Gupta A. In vitro Antibacterial Activity of *Cichorium intybus* against some pathogenic bacteria. British J Pharma Res2013,3:767-775.
 11. Singh O, Khanam Z, Misra N and Srivastava MK. Chamomile *matricaria chamomilla* L an overview. Pharmacogn Rev2011; 5: 82 -9.
 12. Golparvar AR, GhasemiPirbalouti A, Karimi M. Determination of the effective traits on essence percent and dry flower yield in German chamomile *Matricaria chamomilla* L. populations. J Med Plant Res 2011; 5: 3242 - 6.
 13. Wu Yn, Xu Y, Yao L. Anti inflammatory and anti allergic effects of German Chamomile *matricaria chamomilla* L. J Essen Oil Bear Plants 2011; 14:549 - 58.
 14. Dendougui H, Jay M, Benayache F, Benayache S. flavonoids from *anvilleayadiata coss* and *dur asteraceae*. Biochem Sys Ecol2006;3: 718-20.
 15. Polatoglu K, Demirci F, Demirci B. Antibacterial activity and the variation of *Tanacetum parthenium* L Schultz Bip. J Oleo Sci 2010; 59:177-84.
 16. Fan DI , Laura A, Coughlin M, Neubauer J , Minsoo K, Xiaowei Z, et al . Activation of HIF-1 α and LL-37 by commensal bacteria inhibits *Candida albicans* colonization. Nature Med 2015;21:808-14.
 17. Raja RDA, Jeeva S, Prakash JW, Antonisamy JM, Irudayaraj V. Antibacterial activity of selected ethnomedicinal plants from South India. Asia PAC J Trop Med2011; 4: 375-8.
 18. Tolouee MS, Alinezhad R. Saberi . Effect of *Matricaria chamomilla* L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* van Tieghem. Int J Food Microbiol2010;139: 127-33.
 19. Hosseinpour M, Mobinidehkordi M, Saffar S, Teimori H. Antiproliferative effects of *Matricaria chamomilla* on *Saccharomyces cerevisiae*. J HerbMed Pharmacol2013; 2: 49-51.
 20. Talebi S , Sabokbar A, Riazipour M , Saffari M. Comparison of the in vitro effect of Chemical and herbal mouthwashes on *Candida albicans*. Jundishapur J Microbiol2014; 7: 12563.
 21. Johari H, Khavarian M, Moghtari M, Kamali M, Kargarjahromi H, Effects of hydroalcoholic extract of *matricaria chamomilla* flower on testosterone and gonadotropins in adult male rats, Par J Med Sci 2015; 12:37-40
 22. Haj Seyed Hadi M, Taghi Darzi M, Ghandeharialavijeh Z, et al. Influence of Bio fertilizers on Flower Yield and Essential Oil of Chamomile *Matricaria chamomile* L. Int j Agron Plant Produc2010;1:61-4.
 23. Resende FA, Silva A, Vilegas W, Varanda EA. Differences in the hydroxylation pattern of flavonoids alter their chemoprotective effect against direct- and indirect-acting mutagens. Food Chem2014;155: 251-5.
 24. Betanzos G, Perla Y, Montes R, Hector E, Illescas F, Belefant H, Juan C. Antibacterial activity of fresh pomegranate juice against clinical strains of *Staphylococcus epidermidis*. Int J Poult Sci2015;14:229-39.
 25. Reda S, Sahar M, ElSouda S, Hanan AA, Maysa E, Moharamkamel H. Antioxidant, antimicrobial activities of flavonoids glycoside from *Leucaena leucocephala* leaves. J Appl Pharm Sci2015; 5:138-47.
 26. Farhanghaleh joughi N, Farahpour MR, Mohammadinaghadeh M.

- Histopathological evaluation of the effect of *Mentha piperita* essential oil on cutaneous wound healing in Rats infected with *C. albicans*. *J Com Pathobiol Iran* 2015; 47:1453-62.
27. Razavi SF, Khoobi M, Nadri H, Sakhteman A, Moradi A, Emami S, et al. Synthesis and evaluation of 4-substituted coumarins as novel acetylcholinesterase inhibitors. *European J Med Chem* 2013; 64: 252-9.
28. Pamudjiwidodo G, Yulinahsukandar E, Adnyana K. Mechanism of action of Coumarin against *Candida albicans* by SEM/TEM analysis. *ITB J Sci* 2012; 2:145-51.
29. Basma AA, Zuraini Z, Sasidharan S. A transmission electron microscopy study of the diversity of *Candida albicans* cells induced by *Euphorbia hirta* l. leaf extract in vitro. *Asian Pac J Trop Biomed* 2011;2:20-2.
30. Dehghan GR, Zarini GR, Hajizadeh M. [Phytochemical investigation and antimicrobial antifungal and synergistic activities of chloroform fractions of the root of *Ferula szovitsiana*]. *J Shahrekord Uni Med Sci* 2014; 15: 10-17. (Persian)
31. Taraz Z, Shamshargh M, Samadi F, Ebrahimi P, Zerehdaran S. Effect of Chicory Plant *Cichorium intybus* L. extract on performance and blood parameters in broilers exposed to heat stress with emphasis on antibacterial properties. *Poult Sci J* 2015;3:151-8.
32. Shaikhi T, Rub RA, Sasikumar S. Antimicrobial screening of *Cichorium intybus* seed extracts. *Arabian J Chem* 2012;4: 4-12.
33. Jafari Sales Abolfazl, Nader Nezamdoost Shadbad, Vahid Purabdollah Kaleybar, The Investigation of the Antibacterial effects of Ethanol extract of *Cichorium intybus* L. on Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains, *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci* 2015;4:161-4.
34. Zhao YJ, Cheng QQ, Su P, Chen X, Wang XJ, Gao Wet al. Research progress relating to the role of cytochrome P450 in the biosynthesis of terpenoids in medicinal plants. *Appl Microbiol Biotechnol* 2014; 98: 2371-3.
35. Asgharian P, Heshmatiafshar F, Asnaashari S, Bamdadmoghaddam S. Ebrahimi A, Delzar A. Characterization of terpenoids in the essential oil extracted from the aerial parts of *Scrophularia subaphylla* growing in Iran. *Adv Pharm Bull* 2015; 4:557-61.
36. Gheisari H, Habibi H, Khadem A, Anbari S. Comparison of antimicrobial activity of *Cichorium intybus* *Dorema aucheri* and *Prangos ferulacea* extracts against some food borne pathogens. *Int J Pharm Res All Sci* 2016;5:80-4.
37. Sharifzadeh A, Shokri H. Antifungal activity of essential oils from Iranian plants against fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible *Candida albicans*. *Avicen J Phytomed* 2016; 6: 215-2.
38. Seca AML. The genus *Inula* and their metabolites from ethnopharmacological to medicinal uses. *J Ethnopharmacol* 2014;3: 4-10.
39. Bahmani M, Saki K, Gholamiahangan M, Parsaei P, Mohsenzadegan A, ZiajJahromi N, Evaluating the anti leech activity of methanolic extract of *Matricaria chamomilla* L, comparing with Ivermectin Mebendasole and Praziquantel and Rafoxanide and Febantel and Albendasole. *Middle East J Sci Res* 2012;12: 260-3.

The Comparison of *Cichorium Intybus*L and *Matricaria chamomilla* L. Hydroalcoholic Extract Effect Composition with one of them Nystatin on the Isolated *Candida albicans* from Vaginal Infection under Invitro Conditions

Ebrahimi F¹, Roshanai K^{1*}, Jamalu F¹

(Received: July 9, 2016)

Accepted: September 4, 2016)

Abstract

Introduction: Candidal vulvovaginitis occurs in female genital by the over growth of candida especially candida albicans. This infection may be resistant to therapy and occasionally becomes chronic. In some patients this form of infection is recurrent. Candida species are the most important factors in development of fungal infection in human beings and animals. According to the daily increase of drug resistance, attempts are important for providing anti-fungal and anti-microbial drugs. With the increasing consumption of medical plants for medical treatment, this topic of complementary medicine found a unique place. This study compares the concentration effects of *Cichorium intybus*L. and *Matricaria chamomilla* L. hydroalcoholic extract and the mixed with Nystatin on the isolated *Candida albicans* from Vaginal Candidiasis and standard under in vitro conditions.

Materials & Methods: This experimental study assessed the antifungal effects of two plant extracts on candida albicans. *Cichorium intybus* L and *Matricaria chamomilla* L. were selected based on the previous researches and traditional usages. C.Albicans was cultured on sabouraud dextrose agar containing chloramphenicol. On each plate, one plant extract disc, one nystatin disc (as positive control), and one blank disc (as negative controls) were placed. The mean diameter of non-growth halo around each plant extract was compared with the mean diameter of non-growth halo of positive

control discs after 24 hours. Data was analysed by ANOVA statistical test ($P<0.05$).

Findings: There was a significant difference between the diameter of non-growth halo around the plant extracts and Nystatin discs. The diameter of non-growth halo in nystatin discs (30 mm) was more than that for *Matricaria chamomilla* L. discs (21 mm). Non-growth halo in discs (28 mm) nystatin were also more than *Cichorium intybus* L. discs (17 mm) ($p<0.05$). As well as the diameter of non-growth halo in Combination *Matricaria chamomilla* L. and Nystatin discs(47 mm) was more than that for nystatin *Matricaria chamomilla* L. discs(21 mm) and the diameter of non-growth halo in Combination *Cichorium intybus*L, and Nystatin discs(45 mm) was more than that for nystatin *Cichorium intybus*L discs(17 mm).

Discussion & Conclusions: *Cichorium intybus*L and *Matricaria chamomilla* L. exhibited antifungal effects on C. Albicans. But the effect of *Matricaria chamomilla* L. on the lack of growth of *Candida Albicans* strains was greater than that in *Cichorium intybus*L.

Keywords: Antifungal effect, Hydroalcoholic extract, *Cichorium intybus*L, *Matricaria chamomilla* L, Nystatin

1. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Qom Branch, Qom, Iran

* Corresponding author Email:Kambizroshanaei@gmail.com