مقاله پژوهشی
(Original Article)

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره پنجم ـ شماره سوم ـ پاییز ۹۰
صفحات ۱۴ الی ۱۷

# اثرات ضد قارچی اسپند

مهربان فلاحتی[۱]، روح‌اله فاتح[۲]، جلال کیانی[۳]

[۱]دانشیار قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
[۲]دانشجوی دکتری قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
[۳]کارشناس ارشد ویروس‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

## چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه Peganum Harmala. L (Zygophylaceae) در اهداف مختلف پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه نیز تعیین فعالیت ضد قارچی عصاره دانه‌های اسپند (Peganum Harmala) بر ضد گونه‌های قارچی می‌باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه، فعالیت ضد قارچی عصاره آلکالوئیدهای Peganum Harmala بر ضد قارچ‌های آسپرژیلوس نیجر، میکروسپوروم جیپسئوم، کاندیدا آلبیکنس و ساکارومیسس سرویزیه در شرایط In Vitro مورد آزمایش قرار گرفت. سپس حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) با استفاده از روش میکرودایلوشن تعیین گردید. در ادامه، اثرات عصاره با اثرات مایکونازول بر روی این قارچ‌ها مقایسه شد.

**یافته‌ها:** در این مطالعه، عصاره آلکالوئیدهای Peganum Harmala بر روی تمام قارچ‌های تست‌شده در محدوده MIC ۳/۲mg/ml-۱ اثرات ضد قارچی داشت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد عصاره آلکالوئیدی Peganum Harmala، دارای فعالیت ضد قارچی است، لذا با توجه به این موضوع می‌توان امید داشت که در آینده بتوان دست‌کم از این عصاره در درمان بیماری‌های منسوب به قارچ‌های مورد آزمایش استفاده نمود.

**کلید واژه‌ها:** عصاره دانه اسپند؛ آسپرژیلوس نیجر؛ میکروسپوروم؛ کاندیدا آلبیکنس؛ ساکاروماسیس سرویسیا.

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛
آدرس پست الکترونیکی: rfateh59@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۲۷

## مقدمه

بروز عفونت‌های قارچی تهاجمی فرصت‌طلب که اغلب با میزان مرگ و میر بالایی همراه می‌باشد، در طی ۲ دهه اخیر رو به افزایش گذاشته است. بیمارانی که به‌علت بیماری‌های زمینه‌ای از جمله لوسمی یا سندرم نقص ایمنی اکتسابی یا بیماران تحت شیمی‌درمانی که به جهت سرطان یا پیوند اعضا به‌شدت دچار نقص ایمنی هستند، به عفونت‌های ناشی از قارچ‌های فرصت‌طلب حساسیت بیشتری نشان می‌دهند. نگرانی عمده در درمان عفونت‌های قارچی، محدودیت تعداد داروهای ضد قارچی مؤثر می‌باشد. تعداد زیادی از این داروها، دارای اثرات سمی هستند و از آنجا که اکثریت این داروها فونژی استاتیک بوده و نه فونژی سایید، در درمان با آنها بیماری عود می‌کند. از طرفی، درمان طولانی‌مدت با دسته‌ای از این داروها منجر به گسترش مقاومت دارویی می‌شود (۱). امروزه داروهای گیاهی مورد استفاده در پزشکی سنتی، هنوز هم به‌عنوان منبع کشف‌نشده‌ای برای گسترش و تولید داروهای جدید برای درمان مطرح می‌باشند که می‌توانند کمکی برای فایق آمدن بر مشکل مقاومت دارویی، همچنین سمی بودن آنتی‌بیوتیک‌های تجارتی موجود باشد. روش‌های پزشکی سنتی به‌ویژه استفاده از گیاهان دارویی هنوز هم نقش حیاتی را برای تأمین سلامتی در کشورهای در حال توسعه بازی می‌کنند (۲). در حال حاضر، تعداد زیادی از گیاهان دارویی برای درمان عفونت‌های میکروبی به‌ویژه در مناطق روستایی ایران (نقاطی که هنوز پزشکی سنتی به‌عنوان روش اصلی برای درمان ناراحتی‌های مزمن می‌باشد) استفاده می‌شوند.



Archive
www.SID.ir

Peganum Harmala یک گیاه گلدار است که به‌طور وحشی رشد کرده و متعلق به خانواده Zygophylaceae می‌باشد. این گیاه به فراوانی در آفریقای شرقی و شمالی یافت می‌شود (۳). از زمانهای قدیم، ادعا بر این بود که این گیاه، یک گیاه دارویی و پزشکی است و دانه‌های آن نیز دارای اثرات کاهش دما و خواص توهم‌زایی می‌باشد (۵،۴). همچنین از این گیاه به‌طور سنتی در آفریقای شمالی و شرقی به‌عنوان یک قاعده‌آور و یک عامل سقط‌کننده استفاده می‌شود (۶). گزارشهای متعدد در مقالات مختلف، نشان‌دهنده فعالیت‌های دارویی وسیع Peganum Harmala از جمله مهار رشد MAO (Monoamine Oxidase) و فعالیت‌های ضد باکتریایی و ضد قارچی است (۷). از طرفی، مشخص شده است که این گیاه دارای توانایی سقط‌کنندگی بوده و در درمان درماتیت (۸)، کاهش دمای بدن (۹) و سرطان(۱۰) مؤثر می‌باشد. لذا این تحقیق با هدف بررسی تعیین اثرات ضد قارچی گیاه اسپند به‌منظور دستیابی به دارویی با اثرات ضد قارچی مناسب و عوارض جانبی کمتر صورت گرفت.

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ابتدا مواد گیاهی از شهر تبریز جمع‌آوری شد. سپس ۵g از دانه‌های خشک و پودرشده Peganum Harmala، ۴ مرتبه در ۵۰ml متانول $56^{\circ}C$ حل و به مدت یک ساعت در آب خیسانده شد و از طریق آبگیری خشک گردید. سپس باقیمانده عصاره را بعد از حل شدن در ۵۰ml اسید کلریدریک ۱ نرمال، از صافی گذرانده و محلول صاف‌شده ۲ بار با ۲۰ml پترولیوم اتر، عصاره‌گیری شد. لایه اسیدی نیز با استفاده از سود ۱ نرمال قلیایی‌شده ۴ بار با ۵۰ml کلروفرم عصاره‌گیری شد. در ادامه، لایه کلروفرم ترکیب‌شده به‌وسیله آبگیری خشک گردید، و باقیمانده در ۲۵ml متانول حل شد. سپس محلول عصاره آلکالوئیدی بعد از عبور از صافی ۴۵µ، در یخچال $4^{\circ}C$ نگهداری شد (۱۱). در این مطالعه از سوش‌های استاندارد قارچی آسپرژیلوس نیجر (PTCC: 5011)، میکروسپوروم جیپسئوم (PTCC: 5070)، کاندیدا آلبیکنس (PTCC: 5027) و ساکارومیسس سرویزیه (PTCC: 5177) استفاده گردید. سوسپانسیون قارچ‌های رشته‌ای (آسپرژیلوس نیجر و میکروسپوروم جیپسئوم) از کشت‌های ۷ روزه رشد کرده بر روی محیط سابورو دکستروز آگار (SDA) در دمای $30^{\circ}C$، تهیه شدند. کدورت سوسپانسیون قارچی با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰nm با میزان عبور نوری ۹۰٪ تعیین شد که در این شرایط سوسپانسیون قارچی، حاوی $0/9\times10^{4}$-$4/7\times10^{4}$ سلول قارچی بود. برای تهیه سوسپانسیون مخمری، از کشت‌های ۲۴ روزه بر روی محیط SDA در $35^{\circ}C$ استفاده شد. کدورت سوسپانسیون مخمری به‌وسیله روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۳۰nm تعیین گردید که غلظت سوسپانسیون، $4/2\times10^{3}$-$0/8\times10^{3}$ سلول قارچی در هر ml به دست آمد (۱۲). برای آزمایش میکرودایلوشن از پلیت‌های مسطح میکرودایلوشن مطابق با روش استاندارد NCCLS استفاده شد. هر خانه پلیت میکرودایلوشن حاوی ۱۰۰µl محلول عصاره آلکالوئیدی با محیط سابورو دکستروز براث (SDB) بود که ۱۰۰µl سوسپانسیون قارچی در آنها ریخته شد. برای هر پلیت تست‌شده، کنترل منفی حاوی محیط کشت و کنترل مثبت حاوی ۱۰۰µl محیط به همراه ۱۰۰µl سوسپانسیون قارچی، منظور گردید. پلیت‌های میکرودایلوشن در $30^{\circ}C$ (برای قارچ‌های رشته‌ای) و $37^{\circ}C$ (برای مخمرها) گرماگذاری شدند و نتایج به‌صورت چشمی بعد از ۴۸ ساعت (برای تمام قارچ‌ها) و ۵ روز (برای میکروسپوروم جیپسئوم) بررسی گردید (۱۲).

## یافته‌ها

MIC عصاره آلکالوئیدی Peganum Harmala و مایکونازول در جدول نشان داده شده است.

**جدول: حداقل غلظت مهارکنندگی رشد عصاره اسپند و مایکونازول بر روی قارچ‌های مورد آزمایش**

| گونه قارچی | حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (mg/ml) | |
|---|---|---|
| | عصاره اسپند | مایکونازول |
| آسپرژیلوس نیجر (PTCC:۵۰۱۱) | ۱/۳ ± ۳/۲ | ۰±۰/۰۰۲ |
| میکروسپوروم جیپسئوم (PTCC:۵۰۷۰) | ۰/۷۵±۱/۶ | ۰/۰۰۱۱±۰/۰۰۸ |
| کاندیدا آلبیکنس (PTCC:۵۰۲۷) | ۰±۱/۶ | ۰/۰۰۰۲۴۵±۰/۰۰۱ |
| ساکارومیسس سرویزیه (PTCC:۵۱۷۷) | ۰/۶ ±۱ | ۰/۰۰۰۲۹ ±۰/۰۰۱ |

MIC به‌صورت چشمی تعیین شد که میانگینی از ۳ مرتبه آزمایش برای هر گونه قارچی می‌باشد.

## بحث

ظهور گونه‌های مختلف قارچی مقاوم به ترکیبات ضد قارچی از جمله کاندیدا، درماتوفیت و کریپتوکوکوس نئوفورمنس، دانشمندان را به گسترش روش‌های درمانی جدید با کمترین اثر سمی برای انسان



Archive of SID
www.SID.ir

در مبارزه با قارچ‌ها وادار کرده است (۱۳). همچنین طبابت بر پایه گیاهان دارویی در کشورهای در حال توسعه، روش مهمی در درمان عفونت‌های متداول از جمله بیماری‌های قارچی است (۱۴). از این‌رو در صورت امکان می‌توان از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان یک منبع آلترناتیو ارزان، مقرون به صرفه در درمان نیز استفاده نمود (۱۵). عصاره دانه‌های Peganum Harmala حاوی آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و آنتروکینون‌ها می‌باشد (۱۷،۱۶). آلکالوئیدها از زمانهای قدیم یکی از رده‌های بسیار مهم محصولات طبیعی برای تهیه داروها بوده‌اند. از آلکالوئیدهای عصاره دانه Peganum Harmala در کنترل تجربی احشام دچار عفونت استفاده می‌کنند (۱۸،۱۱). از طرف دیگر ثابت شده است که آلکالوئیدها دارای اثرات ضد میکروبی نیز می‌باشند. فعالیت ضد میکروبی و درمانی Peganum Harmala در مطالعات مختلفی نشان داده شده است. Saadabi و همکارانش در یک مطالعه، فعالیت ضد قارچی بعضی از گیاهان عربستان از جمله Peganum Harmala را بر ضد قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس نیجر و کاندیدا آلبیکنس نشان دادند. در این بررسی، ۳ نوع عصاره (آبی، کلروفرمی و متانولی) مورد استفاده قرار گرفت که عصاره متانولی مؤثرتر از سایر عصاره‌ها از جمله عصاره آبی بود (۱۹). شهیدی بونجار نیز با بررسی خواص ضد میکروبی گیاهان دارویی ایران از جمله Peganum Harmala بر ضد میکروکوکوس لوتئوس، سراشیا مارسسنس، کلبسیلا پنومونیه و بردتلا برونشی سپتیکا به این نتیجه دست یافت که این گیاه تنها تأثیر ناچیزی بر روی باکتری میکروسپوروم لوتئوس (MIC=۱۵mg/ml) دارد و بر روی دیگر باکتری‌ها بی‌اثر می‌باشد (۲۰). در مطالعه دیگری Arshad و همکارانش، اثرات عصاره دانه‌های Peganum Harmala را بر ضد عفونت ناشی از E. coli در مرغ خانگی نشان دادند، اما ادامه درمان با این عصاره منجر به ایجاد عوارض جانبی در مرغان خانگی تحت درمان شد (۲۱). همچنین یوسفی و همکارانش با بررسی فعالیت ضد لیشمانیائی عصاره Peganum Harmala بر ضد لیشمانیا ماژور دریافتند که این عصاره قادر به مهار رشد داخل سلولی و خارج سلولی انگل‌های لیشمانیا ($IC_{50}$=۴۰µg/ml) می‌باشد (۲۲). Muhi-eldeen و همکارانش نیز اثرات سمی عصاره Peganum Harmala عراقی را در موش‌ها بررسی نمودند. در این تحقیق، تمامی موش‌های مورد آزمایش با تزریق دوز ۵۵۰mg/kg به‌صورت داخل عضلانی، دچار مرگ شدند (۲۳).

در یک مطالعه دیگر، ذاکر و همکارانش اثرات ضد توموری و ضد تکثیری مشتقات گیاه Peganum Harmala را روی سلول‌های سرطانی نشان دادند. در این مطالعه، دوز مناسب برای فعالیت ضد توموری ۲ ترکیب مشتق‌شده از Peganum Harmala به‌نام‌های Harmine و Harmaline به ترتیب ۱/۶-۰/۴ و ۱۰-۶µg/ml به دست آمد (۲۴). در پژوهش حاضر اثرات مهاری عصاره آلکالوئیدی Peganum Harmala بر ضد چهار گونه قارچی شامل آسپرژیلوس نیجر، میکروسپوروم جیپسئوم، کاندیدا آلبیکنس و ساکارومیسس سرویزیه با استفاده از روش میکرودایلوشن مورد بررسی قرار گرفت که در نهایت نتایج با یکدیگر و با مایکونازول مقایسه شد. نتایج این مطالعه نشان داد محدوده فعالیت ضد قارچی عصاره آلکالوئیدی Peganum Harmala بر ضد قارچ‌ها وسیع نمی‌باشد، که این موضوع به دست آوردن یک دوز واحد برای مهار رشد قارچ‌ها را آسان می‌کند. در این بررسی، مقایسه بین نتایج عصاره آلکالوئیدی و مایکونازول، اختلافات زیادی را نشان داد که در ابتدا به‌نظر می‌رسید این عصاره برای درمان عفونت‌های قارچی مؤثر نبوده و نمی‌توان این ترکیب را جایگزین مایکونازول یا هر داروی ضد قارچی دیگر نمود؛ ولی در نتیجه مشاهده گردید که عصاره آلکالوئیدی Peganum Harmala بر ضد سوش‌های قارچی مورد بررسی، مؤثر بوده است و این امیدواری ایجاد شد که بتوان یک ترکیب ضد قارچی مؤثر با حداقل اثرات جانبی از Peganum Harmala به دست آورد. لذا مطالعات In Vivo نیز برای ارزیابی اثرات فارماکوکینتیک این عصاره بر روی بدن میزبان مورد نیاز است. در بین قارچ‌های مورد آزمایش مشاهده گردید که مخمرها (ساکارومیسس سرویزیه) در مقایسه با شبه مخمرها (کاندیدا آلبیکنس)، درماتوفیت‌ها (میکروسپوروم جیپسئوم) و ساپروفیت‌ها (آسپرژیلوس نیجر) نسبت به عصاره اسپند حساسیت بیشتری نشان داده‌اند و در این بین ساپروفیت‌ها نسبت به عصاره اسپند مقاومتر از بقیه قارچ‌ها بوده‌اند.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره آلکالوئیدی Peganum Harmala، دارای فعالیت ضد قارچی است، لذا با توجه به این موضوع می‌توان امید داشت که در آینده بتوان دست‌کم از این عصاره در درمان بیماری‌های منسوب به قارچ‌های مورد آزمایش، استفاده نمود.



Archive of SID

www.SID.ir

## References:

1. Emami S, Foroumadi A, Falahati M, Lotfali E, Rajabalian S, Ebrahimi SA, Farahyar S, Shafiee A. 2-Hydroxyphenacyl Azoles and Related Azolium Derivatives as Antifungal Agents. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2008;18:141-146.

2. Awadh Ali NA, Ju Lich WD, Kusnick C, Lindequist U. Screening of Yemeni Medicinal Plants for Antibacterial and Cytotoxic Activities. Journal of Ethnopharmacology 2001;74:173-179.

3. Zargari A. Medicinal Plants. Tehran University Press; 1989. p. 637-639. (V1)

4. Lamchouri F, Settaf A, Cherrah Y. Antitumour Principles from Peganum Harmala Seeds. Therapie 1999;54:753-758.

5. Kuhn MA, Winston D. Herbal Therapy and Supplements, a Scientific and Traditional Approach. New York: Lippincott; 2000. p. 347-350.

6. Fleming JB. Beta-Carbolines as Potetiating Agents. Available From: http://diseyes. Lycaeum. Org/dmt/alche.txt. Accessed 2000; 1-3.

7. Abdel-Fattah AFM, Matsumoto K, Murakami Y. Central Serotonin Level-Dependent Changes in Body Temperature Following Administration of Tryptophan to Pargyline and Harmaline-Pretreated Rats. Gen Pharmacol 1997;28:405-409.

8. Saad EL, Rifaie M. Peganum Harmala: Its Use in Certain Dermatoses. Int J Dermatol 1980;19:221-222.

9. Abdel-Fattah AFM, Matsumoto K, Gammaz HAK, Watanabe H. Hypothermic Effect of Harmala Alkaloid in Rats: Involvement of Serotonergic Mechanism. Pharmacol Biochem Behav 1995;52:421-426.

10. Adams SM. The Antineoplasticeffects of Prunusarmeniaca and Peganum Harmala. Diss Abstr Int (Sci) 1983;44:1052-1055.

11. Fan B, Liang J, Men J, Gao F, Li G, Zhao S, et al. Effect of Total Alkaloid of Peganum Harmala L. In the Treatment of Experimental Haemosporidian Infections in Cattle. Trop Anim. Health Prod 1997;29(Suppl 4):7-83.

12. Evans EGV, Richardson MD. Medical Mycology a Practical Approach. England: Oxford; 1989. p. 235-259.

13. Patterson TF, Revankar SG, Kirkpatrick WR, Dib O, Fothergill AW, Redding SW, et al. Simple Method for Detecting Fluconazle-Resistant Yeasts with Chromogenic Agar. J Clin Microbiol 1996;34:1794-1797.

14. Falahati M, Omidi Tabrizi N, Jahanian F. Antidermatophyte Activity of Eucalyptus Camadulensis in Comparison with Griseofulvin. Iranian. J Pharmacology & Therapeutics 2005;4:80-83.

15. Mehmood Z, Ahmad S, Mohammad F. Antifungal Activity of Some Essential Oils and Their Major Constituents. Indian. J Natural Prod 13:10-13.

16. Sharaf M, el-Ansari MA, Matlin SA, Saleh NA. Four Flavonoid Glycosides from Peganum Harmala. Phytochemistry 1997;44:533-536.

17. Prashanth D, John S. Antibacterial Activity of Peganum Harmala. Fitoterapia 1999;70:438-439.

18. Hu T, Fan B, Liang J, Zhao S, Dang P, Gao F, et al. Observations on the Treatment of Natural Haemosporidia Infections by Total Alkaloid of Peganum Harmala L. In Cattle Trop Anim Health Prod 1997;29(Suppl 4):72-76.

19. Saadabi AMA. Antifungal Activity of Some Saudi Plants Used in Traditional Medicine. Asian J Plants Sci 2005;5:907-909.

20. Shahibi Bonjar GH. Evaluation Antibacterial Properties of Iranian Medicinal-Plants Against Micrococcus Luteus, Serratia Marcescens, Klebsiella Pneumoniae and Bordetella Bronchoceptica. J Plants Sci 2004;3:82-86.

21. Arshad N, Neubauer C, Hasnain S, Hess M. Peganum Harmala Can Minimize Escherichia Coli Infection in Poultry, but Long-Term Feeding May Induce Side Effects. Poultry Sci 2008;87:240-249.

22. Yousefi R, Ghaffarifar F, Dalimi Asl A. The Effect of Alkanna Tincturia and Peganum Harmala Extracts on Leishmania Major (MRHO/IR/75/ER) in Vitro. Iranian J Parasitol 2009;4:40-47.

23. Muhi-eldeen Z, Al-Shamma KJ, Al-Hussainy TM, Al-Kaissi EN, Al-Daraji AM, Ibrahim H. Acute Toxicological Studies on the Extract of Iraqi Peganum Harmala in Rats. Euro J Scientific Res 2008;22:494-500.

24. Zaker F, Oody A, Arjmand A. A Study on the Antitumoral and Differentiation Effects of Peganum Harmala Derivatives in Combination with Atra on Leukaemic Cells. Arch Pharm Res 2007;30:844-849.

Archive of SID



www.SID.ir