

بررسی اثرات ضد کاندیدایی عصاره آبی و الکلی ریشه زرشک و مقایسه آن با کلوتریمازول در محیط آزمایشگاهی

دکتر رضا قادری^۱ - پیمان مالکی نژاد^۲

چکیده

زمینه و هدف: در طی سه دهه گذشته به دلیل استفاده وسیع از شیمی‌درمانی برای درمان سرطان، پیوند عضو و ایدز، میزان بروز عفونت‌های قارچی تهدیدکننده زندگی به طور چشمگیری افزایش یافته است. اغلب عفونت‌های قارچی سیستمیک توسط پاتوژن‌های فرصت‌طلب مثل گونه‌های کاندیدا ایجاد می‌شوند. اگرچه بسیاری از پژوهشگران مطالعات زیادی در جهت تهیه داروهای ضد قارچ جدید انجام داده‌اند و هم اکنون بعضی از این داروها تحت تجربه کارآزمایی‌های بالینی قرار دارند ولی هنوز آمفوتریسین B و ترکیبات آزول درمان اصلی عفونت‌های قارچی سیستمیک به شمار می‌روند. منتهی عوارض جانبی پل‌ان‌ها و مقاومت گونه‌های کاندیدا به ترکیبات آزول، درمان مبتلایان به بیماری‌های قارچی عمقی مهاجم را با مشکل روبه رو کرده است؛ بنابراین نیاز به تهیه داروهای جدید ضد قارچ با عوارض جانبی کم و فعالیت بر علیه طیف وسیع قارچ‌ها بیش از گذشته احساس می‌شود. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر ضدکاندیدایی عصاره آبی و الکلی ریشه گیاه زرشک در محیط آزمایشگاهی و مقایسه آن با کلوتریمازول انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، عصاره آبی گیاه زرشک و عصاره الکلی (هر دو با غلظت ۱ mg/mL) تهیه شد. سوسپانسیون سلولی کاندیدا آلیکنس (۱۰۰۰۰۰ CFU/mL) بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت گردید؛ سپس قدرت ضد کاندیدایی عصاره‌ها و کلوتریمازول با روش اندازه‌گیری قطر ناحیه مهار پس از زمان انکوباسیون ۴۸ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. به میزان قطر ناحیه مهار ۱-۱۰ میلی‌متر: +۱، ۱۰-۲۰ میلی‌متر: +۲، ۲۰-۳۰ میلی‌متر: +۳ و ۳۰-۴۰ میلی‌متر: +۴ تعلق گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های ANOVA و Tukey B در سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: میانگین قطر ناحیه مهار برای عصاره آبی ۱۶/۸۹، عصاره الکلی ۲۷/۶۹ میلی‌متر، الکل ۷۰ درجه به عنوان شاهد برای عصاره الکلی برابر صفر و برای کلوتریمازول ۳۳/۶۳ میلی‌متر بود؛ این اختلافها از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/001$). **نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌های فوق می‌توان نتیجه گرفت که عصاره ریشه زرشک دارای خواص ضد کاندیدایی می‌باشد و این اثرات در مورد عصاره الکلی نسبت به عصاره آبی به نحو بارزتری نمود دارد و با توجه به این که الکل ۷۰ درجه که از آن به عنوان حلال عصاره الکلی استفاده شد، دارای ناحیه مهار صفر بود، می‌توان ادعان داشت که تمام این خواص مربوط به خود ریشه زرشک بوده است.

واژه‌های کلیدی: ریشه زرشک؛ کاندیدا آلیکنس؛ کلوتریمازول؛ ناحیه مهار

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند (دوره ۱۳؛ شماره ۲؛ تابستان سال ۱۳۸۵)

دریافت: ۸۵/۳/۱۷ اصلاح نهایی: ۸۵/۷/۲ پذیرش: ۸۵/۷/۲۰

^۱ نویسنده مسؤل؛ دانشیار گروه آموزشی پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

آدرس: بیرجند- خیابان غفاری- بیمارستان ولی عصر (عج)- بخش پوست

تلفن: ۰۵۶۱-۴۴۴۳۰۰۱ نمابر: ۰۵۶۱-۴۴۳۳۰۰۴ پست الکترونیکی: rezaghadari@yahoo.com

^۲ دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

مقدمه

در خلال ۳۰ سال گذشته، میزان بروز عفونتهای قارچی تهاجمی در انسان به طور چشمگیری افزایش یافته است. بیماری‌هایی که به دلایلی همچون لوسمی و ایدز دچار نقص ایمنی می‌شوند و یا آنهایی که بر اثر اعمال جراحی پیوند عضو به طور انتخابی سیستم ایمنی آنها ضعیف می‌گردد؛ بویژه مستعد ابتلا به عفونتهای قارچی فرصت‌طلب می‌گردند که در این میان، گونه‌های کاندیدا از مهمترین عوامل بیماریزای قارچی در این بیماران محسوب می‌شوند (۱).

کاندیدا آلبیکنس یک ساکن نرمال دستگاه گوارش و نواحی مخاطی می‌باشد (۲)؛ اما بر اثر عوامل زمینه‌سازی مثل حالات کمبود ایمنی، دیابت، بیماری کوشینگ، بیماری آدیسون و ... باعث ایجاد عوارضی با طیف گسترده می‌گردد؛ از جمله این عوارض می‌توان به برفک دهان، ناخن‌ها، دستگاه تناسلی و نواحی پرینه در نوزادان اشاره کرد؛ البته در افراد دچار سرکوب ایمنی (مثل ایدز) کاندیدیا سیستمیک روی می‌شوند (۳،۴). درمانهای شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌های پلی‌ان مثل آمفوتریسین، نیستاتین و ناتامیسین، به مقدار زیادی علیه گونه‌های کاندیدا مؤثرند؛ اما دو مشکل عمده دارند: ۱- جذب روده‌ای آنها محدود است و در میان آنها فقط آمفوتریسین قابل تزریق از راه ورید است. ۲- به طور نسبی دارای اثرات نفروتوکسیک هستند (۵،۶).

گروه دیگری از مواد مهم که علیه کاندیدا استفاده می‌شوند، ایمیدازول‌ها هستند که از میان آنها، کلوتریمازول، میکونازول و اکونازول بهتر از بقیه شناخته شده‌اند؛ اگر چه این مواد خطرات توکسیک کمتری نسبت به گروه پلی‌ان‌ها دارند، ولی مشکل بزرگ در استفاده از آنها، مقاوم‌شدن گونه‌های کاندیدا به این داروهاست (۵،۶).

با توجه به موارد بالا، ضرورت پیدا کردن داروهای جدید علیه کاندیدا با خواص سمی کمتر، احساس می‌شود؛ بخصوص که بیشتر گونه‌های مقاوم در افراد مبتلا به ایدز که

نیاز مبرم به درمان ضدقارچی دارند، دیده می‌شود (۷). یکی از راههایی که می‌تواند نقایص گفته شده در بالا را تا حدودی برطرف کند، استفاده از گیاهان دارویی است که اگر در این زمینه مطالعات علمی و دقیق و بدون تعصبات خرافی بر روی خواص گیاهی و عوارض جانبی آن صورت گیرد، به طور قطع مثمر ثمر خواهد بود.

گیاه زرشک* یکی از گیاهان بومی منطقه بیرجند و خراسان جنوبی می‌باشد که برای قسمتهای مختلف آن خواص گوناگونی ذکر شده است و طی پژوهشهای مختلف این خواص به تأیید رسیده است (۸-۲۵)؛ همچنین علاوه بر اثرات آنتی‌اکسیدانی میوه زرشک (۸)، از ریشه و پوست ساقه آن، آلکالوئیدهای گوناگونی به دست آمده که مهمترین آنها بربرین[†] می‌باشد (۹). بر اساس مطالعاتی که بر روی عصاره ریشه زرشک و عمده ترین آلکالوئید آن یعنی بربرین صورت گرفته، خواص زیر برای آن ذکر شده است:

آنتی‌اکسیدان (۸)، اثرات ضد التهابی (۹)، اثرات آنتی‌باکتریال علیه گونه‌های میکروبی اشیریشیا کولی (۱۱)، ویربوکلرا (۱۳)، اثرات ضد لشمائیا دونوانی (۱۲،۱۴) ضد فشار خون (۱۸،۱۹) و ضدقارچ (۲۰-۲۵).

مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات ضد کاندیدیایی عصاره ریشه زرشک (آبی و الکلی) در محیط آزمایشگاهی و مقایسه آن با کلوتریمازول (که یک داروی ضدقارچ مرسوم مورد استفاده علیه کاندیدا آلبیکنس می‌باشد)، انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، عصاره آبی و الکلی با غلظت ۱ mg/mL و به ترتیب زیر تهیه شد:

ابتدا ریشه گیاه زرشک در فصل پاییز از باغات زرشک در حومه بیرجند جمع‌آوری گردید. ریشه‌ها پس از شستشو با آب سرد در سایه خشک شدند و سپس به صورت پودر در آمدند. پودر حاصل، به مدت ۷۲ ساعت در آب مقطر (۱ گرم در

* Berberis Vulgaris

† Berberine

$P \leq 0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

با اندازه‌گیری قطر ناحیه مهار نتایج زیر حاصل شد: میانگین قطر ناحیه مهار برای عصاره آبی زرشک ۱۶/۸۹ میلی‌متر، عصاره الکلی زرشک ۲۷/۶۹ میلی‌متر، الکل ۷۰ درجه به عنوان شاهد برای عصاره الکلی صفر میلی‌متر و کلوتریمازول ۳۳/۶۳ میلی‌متر بود (جدول ۱)، (شکل‌های ۱ و ۲). آزمون آنالیز واریانس یک طرفه اختلاف معنی‌داری را بین میانگین قطر ناحیه مهار در مورد عصاره آبی زرشک، عصاره الکلی زرشک، الکل ۷۰ درجه و کلوتریمازول نشان داد (F=۱۶۰۷/۷۹، $P < 0.001$) که بر اساس نتایج آزمون Tukey-B این اختلاف بین میانگین ناحیه مهار توسط کلوتریمازول با عصاره آبی و الکلی بوده است؛ بنابراین دارا بودن قدرت ضد کاندیدایی به ترتیب مربوط به کلوتریمازول، عصاره الکلی و بعد عصاره آبی زرشک بوده و الکل ۷۰ درجه فاقد خواص ضد کاندیدایی بوده است.

جدول ۱- بررسی اختلاف قطر ناحیه مهار در مورد عصاره آبی، عصاره الکلی، الکل ۷۰ درجه و کلوتریمازول پس از انکوباسیون ۴۸ ساعت

دارو	تعداد	میانگین و انحراف معیار
عصاره آبی	۱۰۰	۱۶/۸۹±۱/۶۵
عصاره الکلی	۱۰۰	۲۷/۶۹±۲/۹۰
الکل ۷۰ درجه	۱۰۰	۰
کلوتریمازول	۱۰۰	۳۳/۶۳±۱/۵۱



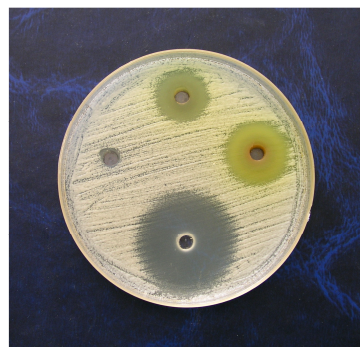
شکل ۲- نواحی مهار مربوط به عصاره الکلی ریشه زرشک (هاله زرد) و الکل (هاله سفید) بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون

۱ لیتر برای عصاره آبی) و در الکل ۷۰ درجه (۱ گرم در ۱ لیتر برای عصاره الکلی) خیسانده شد و هر ۸ ساعت توسط یک همزن شیشه‌ای هم زده شد. پس از ۷۲ ساعت عصاره حاصل، با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف و تغلیظ گردید (۱۵).

نمونه کاندیدا آلبیکنس از بیمار به دست آمد و با آزمونهای میکروبیولوژی تایید گردید؛ سپس ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلولی کاندیدا آلبیکنس (100000 CFU/mL) بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت گردید.

برای اندازه‌گیری قدرت ضد کاندیدایی، تعداد نمونه‌ها به ازای هر نوع عصاره ۱۰۰ عدد انتخاب شد. چاله‌هایی به قطر ۸ میلی‌متر بر روی محیط کشت ایجاد گردید و به مقدار ۱ سانتیمتر مکعب از هر عصاره به همراه ۱ سانتیمتر مکعب آب مقطر و ۱ سانتیمتر مکعب الکل ۷۰ درجه و ۱ سانتیمتر مکعب از لوسیون کلوتریمازول ۱٪ در چاله‌های تعبیه شده بر روی محیط ریخته شد و پس از جذب شدن محلول‌ها در محیط (که ۱۵ دقیقه طول کشید)، پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند؛ سپس قدرت ضد کاندیدایی عصاره‌ها و کلوتریمازول با روش اندازه‌گیری قطر ناحیه مهار مورد ارزیابی قرار گرفت. به میزان قطر ناحیه مهار ۱-۱۰ میلی‌متر، ۱+ و ۱۰-۲۰ میلی‌متر، ۲+، ۲۰-۳۰ میلی‌متر، ۳+ و ۳۰-۴۰ میلی‌متر، ۴+ تعلق گرفت (۱۶).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمونهای آنالیز واریانس یک‌طرفه و Tukey-B در سطح معنی‌داری



شکل ۱- نواحی مهار مربوط به عصاره الکلی ریشه زرشک (هاله زرد سمت راست)، عصاره آبی ریشه زرشک (هاله زرد بالا)، کلوتریمازول (هاله سفید بزرگ) و الکل (هاله سفید کوچک) بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون

صورت دوز منفرد و بربرین با دوز ۱ mg/kg به صورت جداگانه، میانگین زمان بقای موش به ترتیب ۱۴ و ۱۷ روز بود؛ سپس محققین ترکیب آمفوتریسین B و بربرین را با دوزهای مشابه دوز منفرد، به صورت ترکیب با هم به موش‌ها دادند و دریافتند که میانگین میزان بقای موش‌ها به ۳۶ روز افزایش پیدا کرد و ۲۲ روز از میانگین میزان بقای موش‌ها در درمان آمفوتریسین به تنهایی بیشتر بود و با اثر ۴ دوز درمان آمفوتریسین B برابری می‌کرد. محققان چنین نتیجه‌گیری کردند که اثر سینرژیستی بربرین با آمفوتریسین می‌تواند منجر به کاهش ۷۵ درصدی در دوز مصرفی آمفوتریسین B گردد.

Nakamoto و همکاران نیز طی تحقیقی به بررسی اثرات ضد کاندیدیایی بربرین پرداخته و گزارش کردند که حداقل غلظت مهارتی (MIC) بربرین هیدروکلراید در مورد کاندیدا آلبیکنس ۱ mg/mL، در کاندیدا تروپیکالیس ۰/۵ mg/mL و در کاندیدا گلابراتا ۰/۱۲۵ mg/mL است (۲۳).

Iwasa و همکاران در مطالعه خود در مورد فرایند تأثیر ضد میکروبی بربرین، دریافتند که با افزایش زنجیره‌های آلیفاتیک مشتقات بربرین (مثل هگزیل بربرین) بر خواص ضد کاندیدیایی آن هم افزوده می‌شود (۲۴)؛ تحقیق اخیر Quan و همکاران در مورد بررسی اثرات کاربرد همزمان فلوکونازول و بربرین کلراید در ۴۰ مورد بیمار مبتلا به کاندیدیازیس مقاوم به فلوکونازول نیز نشان داد که بربرین با فلوکونازول سینرژیسم دارد و اثرات ضد کاندیدیایی فلوکونازول را تقویت می‌کند؛ این محققان در بررسی خود هیچ‌گونه اثر آنتاگونیستی مشاهده نکردند (۲۵).

مطالعه حاضر در نوع خود دارای ویژگی‌هایی می‌باشد که نسبت به مطالعات قبلی آن را متمایز می‌سازد. اولین ویژگی مقایسه خواص ضد کاندیدیایی ریشه زرشک با یک آنتی‌بیوتیک مرسوم برای درمان عفونت‌های کاندیدیایی (کلوتریمازول) است. با مقایسه نتایج به دست آمده مشخص گردید که آثار ضد کاندیدیایی بربرین اگرچه قابل توجه

آزمون ANOVA اختلاف معنی‌داری را بین میانگین قطر ناحیه مهار در مورد عصاره آبی زرشک، عصاره الکلی زرشک، الکل ۷۰ درجه و کلوتریمازول نشان داد. ($P < 0.05$).

بحث

خانواده Berberidacea گروهی از گیاهان می‌باشند که از میان آنها چند نمونه مثل Bereberis Vulgaris و Berberis Aristata دارای مصارف قابل توجه پزشکی و صنعتی می‌باشند. در این تحقیق بر روی Bereberis Vulgaris که با نام محلی "زرشک" شناخته می‌شود، مطالعه شد.

آلکالوئید بربرین که از ریشه‌ها و ساقه زرشک به دست می‌آید، دارای خواص دارویی متعددی می‌باشد و از دیرباز مورد توجه بوده است که به برخی از این خواص به طور خلاصه در ذیل اشاره خواهد شد:

اولین توجه به اثرات ضد قارچی بربرین توسط Iwasa و همکاران صورت گرفت که از بربرین برای از بین بردن قارچ مولد زنگ گندم و به عنوان هریسید استفاده نمودند (۲۰)؛ سپس Park و همکاران خواص آنتی کاندیدیال بربرین را بر روی کاندیدا آلبیکنس مورد ارزیابی قرار دادند و پس از حصول نتایج مثبت، پیشنهاد کردند که اثرات بربرین در مهار رشد کاندیدا آلبیکنس می‌تواند ناشی از عمل مهارتی بربرین بر روی بیوسنتز استرول‌ها و کیتین توسط کاندیدا آلبیکنس باشد (۲۱)؛ این مطالعه گرچه در نوع خود بی نظیر بود، اما بزرگترین ایراد آن عدم مقایسه کمی خواص آنتی کاندیدیال بربرین با آنتی بیوتیک‌های استاندارد، جهت ارزیابی کارایی بربرین برای درمان کاندیدیازیس در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های موجود بود.

در مطالعه Han و Lee بر روی موش، اثر سینرژیسم بربرین با آمفوتریسین B در موش مبتلا به کاندیدیاز منتشر مورد بررسی قرار گرفت و نتایج زیر گزارش شد (۲۲): در مورد استفاده از آمفوتریسین B با دوز ۰/۵ mg/kg به

۲- خواص ضد کاندیدایی ریشه زرشک شاید مربوط به آلکالوئیدهای دیگری باشد که خواص محلول در الکل بیشتری دارند. به هر حال برای روشن شدن بیشتر این تفاوتها نیاز به مطالعات بیشتری در مورد خواص ضد کاندیدایی بربرین خالص می‌باشد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه به صورت آزمایشگاهی انجام شد و برای استفاده‌های درمانی از نتایج این مطالعه نیاز به مطالعات بر روی موجودات زنده (ترجیحاً خرگوش) می‌باشد تا میزان زیست‌دستیابی (Bioavailability) ریشه زرشک و نیز آثار جانبی احتمالی آن برای استفاده‌های انسانی مشخص گردد.

تقدیر و تشکر

در پایان مراتب تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند به دلیل حمایت مالی و آقایان حسامی و خراشادی‌زاده کارکنان محترم آزمایشگاه بیوشیمی و آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند که در انجام این تحقیق ما را یاری دادند، اعلام می‌داریم.

می‌باشد اما از اثرات ضد کاندیدایی کلوتریمازول با همان دوز پایین‌تر است؛ از طرف دیگر برای حذف هر گونه تداخل احتمالی اثرات آنتی‌سپتیک الکل (به عنوان حلال عصاره الکلی)، الکل ۷۰ درجه هم به عنوان شاهد گذاشته شد که البته هیچ خاصیت ضد کاندیدایی برای آن مشاهده نگردید (جدول ۱)؛ نکته دیگر در این مطالعه این بود که عصاره الکلی خواص ضد کاندیدایی بیشتری نسبت به عصاره آبی نشان داد. در مطالعات قبلی بر روی مواد مختلف موجود در عصاره ریشه زرشک، گزارش شده بود که ریشه زرشک داری آلکالوئیدهایی از قبیل بیس بنزیل ایزوکوئینولن‌ها است که از میان آنها آلکالوئید بربرین دارای بیشترین مقدار می‌باشد (۸). بربرین خالص، پودر زرد رنگی است که محلول در آب و به میزان کمتری محلول در الکل می‌باشد. با توجه به این که در مطالعه حاضر خواص ضد کاندیدایی عصاره الکلی به میزان قابل توجهی بیشتر از عصاره آبی بود، می‌توان دو احتمال را برای توجیه این تفاوت مطرح کرد:

۱- اگرچه بربرین خالص دارای خاصیت حلالیت بیشتری در آب نسبت به الکل می‌باشد ولی قدرت اتانول در استخراج آلکالوئیدها از پودر ریشه زرشک بیشتر از آب می‌باشد که شاید به دلیل نفوذ بهتر الکل به لایه‌های الیاف ریشه زرشک باشد.

منابع:

- 1- Hay RJ, Moor MK. Mycology. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. Rook's textbook of dermatology. Vol 2. 7th ed. USA: Black Well Science 2004. pp: 3160-3175.
- 2- St Georgiev V. Membrane transporters and antifungal drug resistance. Curr Drug Targets. 2000; 1 (3): 261-84. Review.
- 3- Rippon J. Candida albicans. In: Rippon J. Medical mycology. 5th ed. USA: WB Saunders; 1988. pp: 536-75.
- 4- Mary F. Fungal infections. In: Kumar V, Cotran R, Robbins S (eds). Basic pathology. 6th ed. USA: WB Saunders; 1997. pp: 427-28.
- 5- Rocco TR, Reinert SE, Simms HH. Effects of fluconazole administration in critically ill patients: analysis of bacterial and fungal resistance. Arch Surg. 2000; 135 (2): 160-65.
- 6- Portyansky E. Alternative medicine. Drug Topics. 1998; 142 (7): 44-50.
- 7- Sohnle PG, Hunter MJ, Hahn B, Chazin WJ. Zinc-reversible antimicrobial activity of recombinant calprotectin (migration inhibitory factor-related proteins 8 and 14). J Infect Dis. 2000; 182 (4): 1272-75.
- 8- Sabir M, Akhter MH, Bhide NK. Further studies on pharmacology of berberine. Indian J Physiol Pharmacol. 1978; 22 (1): 9-23.

- 9- Ivanovska N, Philipov S. Study on the anti-inflammatory action of *Berberis vulgaris* root extract, alkaloid fractions and pure alkaloids. *Int J Immunopharmacol*. 1996; 18 (10): 553-61.
- 10- Shamsa F, Ahmadiani A, Khosrokhavar R. Antihistaminic and anticholinergic activity of barberry fruit (*Berberis vulgaris*) in the guinea-pig ileum. *J Ethnopharmacol*. 1999; 64 (2): 161-66.
- 11- Rabbani GH, Butler T, Knight J, Sayal SC, Alam K. Randomized controlled trial of berberine sulfate therapy for diarrhea due to enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. *J Infect Dis*. 1987; 155 (5): 979-84
- 12- Ghosh AK, Bhattacharyya FK, Ghosh DK. *Leishmania donovani*: amastigote inhibition and mode of action of berberine. *Exp Parasitol*. 1985; 60 (3): 404-13.
- 13- Sack RB, Froehlich JL. Berberine inhibits intestinal secretory response of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* enterotoxins. *Infect Immun*. 1982; 35 (2): 471-75.
- 14- Wright CW, Marshall SJ, Russell PF, Anderson MM, Phillipson JD, Kirby GC, et al. In vitro antiplasmodial, antiamoebic, and cytotoxic activities of some monomeric isoquinoline alkaloids. *J Nat Prod*. 2000; 63 (12): 638-40.
- 15- Ahmad I, Beg AZ. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *J Ethnopharmacol*. 2001; 74 (2): 113-23.
- 16- Grippa E, Valla R, Battinelli L, Mazzanti G, Saso L, Silvestrini B. Inhibition of *Candida rugosa* lipase by berberine and structurally related alkaloids, evaluated by high-performance liquid chromatography. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1999; 63 (9): 1557-62.
- 17- Pozniakovskii VM, Golub OV, Popova DG, Kovalevskaja IN. The use of barberry berries in human nutrition. *Vopr Pitan*. 2003; 72 (4): 46-49.
- 18- Fatehi M, Saleh TM, Fatehi-Hassanabad Z, Farrokhfal K, Jafarzadeh M, Davodi S. A pharmacological study on *Berberis vulgaris* fruit extract. *J Ethnopharmacol*. 2005; 102 (1): 46-52.
- 19- Fatehi-Hassanabad Z, Jafarzadeh M, Tarhini A, Fatehi M. The antihypertensive and vasodilator effects of aqueous extract from *Berberis vulgaris* fruit on hypertensive rats. *Phytother Res*. 2005; 19 (3): 222-25.
- 20- Iwasa K, Moriyasu M, Nader B. Fungicidal and herbicidal activities of berberine related alkaloids. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2000; 64 (9): 1998-2000
- 21- Park KS, Kang KC, Kim JH, Adams DJ, Johng TN, Paik YK. Differential inhibitory effects of protoberberines on sterol and chitin biosyntheses in *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother*. 1999; 43 (5): 667-74.
- 22- Han Y, Lee JH. Berberine synergy with amphotericin B against disseminated candidiasis in mice. *Biol Pharm Bull*. 2005; 28 (3): 541-44.
- 23- Nakamoto K, Sadamori S, Hamada T. Effects of crude drugs and berberine hydrochloride on the activities of fungi. *J Prosthet Dent*. 1990; 64 (6): 691-94.
- 24- Iwasa K, Nanba H, Lee Du. Structure-activity relationships of protoberberines having antimicrobial activity. *Planta Med*. 1998 ;64 (8): 748-51.
- 25- Quan H, Cao YY, Xu Z, Zhao JX, Gao PH, Qin XF, et al. Potent in vitro synergism of fluconazole and berberine chloride against clinical isolates of *Candida albicans* resistant to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50 (3): 1096-69.

Evaluation of anticandidial effects of *Berberis vulgaris* root extracts (ethanolic and aqueous) and comparing their effects with those of clotrimazole

R. Ghaderi¹, P. MalekiNejad²

Abstract

Background and Aim: During the past three decades, life-threatening fungal infections have frequently been emerging through opportunistic infections with the advent of cancer chemotherapy, organ transplantation, and or AIDS. Most of systemic fungal infections are mainly caused by opportunistic pathogens such as *Candida* species. Although many researchers have carried out intensive studies attempting to develop new antifungal drugs some of which are now under clinical trials, amphotericin B and the azole compounds remain the mainstay of fungal systemic infection therapy. However, the adverse effects of polyenes and the emergence of *Candida* strains resistant to commercial azole compounds make the treatment of patients with deeply invasive mycoses difficult. Therefore, demand for the development of new antifungal agents which have low side effects and broad-spectrum activity against various fungi is greater than ever before. The present study aimed at evaluating the anticandidial effects of *Berberis vulgaris* Root extracts (ethanolic and aqueous) and comparing their effects with those of clotrimazole.

Materials and Methods: In this experimental study, aqueous and ethanolic extracts of *Berberis* each having 1 mg/mL concentration were prepared. *Candida albicans* (100000 CFU/mL) was cultured on dextrose agar medium. Then, after incubation period of 48 hours, anticandidial strength of the extracts and clotrimazole was measured through zone of inhibition. Zone of inhibition for 1-10 mm was 1+, for 10-20 mm 2+, for 20-30 mm 3+ and for 30-40 mm 4+. The obtained data was analysed by using SPSS software package, ANOVA and Tukey B tests.

Results: Average zone of inhibition for aqueous extract of *Berberis* was 16.89 mm, for ethanolic extract of *Berberis* it was 27.69 mm, for pure ethanol 0 mm, and for clotrimazole 33.63 mm. Besides, these differences were statistically significant ($P < 0.001$).

Conclusion: According to our findings, *Berberis vulgaris* root extracts have anticandidial effects, and these effects are more prominent for ethanolic extract. Because ethanol, by itself, doesn't have any anticandidial effects (zone of inhibition=0), we can conclude that all of the anticandidial effects of ethanolic extract of *Berberis* are due to *Berberis vulgaris* root extract.

Key Words: *Berberis vulgaris*; *Candida albicans*; Clotrimazol; Zone of inhibition

¹ Corresponding Author; Associate Professor, Department of Dermatology, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences. Birjand, Iran rezaghaderi@yahoo.com

² Student of Medicine; Birjand University of Medical Sciences