

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

دکتر رضا قادری<sup>۱</sup> - پیمان مالکی نژاد<sup>۲</sup>

## چکیده

زمینه و هدف: در طی سه دهه گذشته به دلیل استفاده وسیع از شیمی درمانی 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 کارآزمایش‌های بالینی قرار دارند ولی هنوز آمفوتربیسین B و ترکیبات آرول درمان اصلی عفونتهای قارچی سیستمیک به شمار می‌روند. منتهی عوارض جانبی پلیان‌ها و مقاومت گونه‌های کاندیدا به ترکیبات آرول، درمان متلاجیان به بیماریهای قارچی عمقی مهاجم را با مشکل رویه رو کرده است؛ بنابراین نیاز به تهیه داروهای ضد قارچ با عوارض جانبی کم و فعالیت بر علیه طیف وسیع قارچ‌ها بیش از گذشته احساس می‌شود. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر ضد کاندیدایی 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 آلبیکنس (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 ۱۰-۱ میلیمتر: +۱، ۲۰-۲۰ میلیمتر: +۲ و ۴۰-۳۰ میلیمتر +۳ و +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 اذعان داشت که تمام این خواص مربوط به خود ریشه زرشک بوده است.

**واژه‌های کلیدی:** ریشه زرشک؛ کاندیدا آلبیکنس؛ کلوتریمازول؛ ناحیه مهار

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

دربافت: ۸۵/۳/۱۷ اصلاح نهایی: ۸۵/۷/۲۰ پذیرش: ۸۵/۷/۲۰

<sup>۱</sup> نویسنده مسؤول؛ دانشیار گروه آموزشی پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرونی  
آدرس: بیرونی- خیابان غفاری- بیمارستان ولی‌عصر (عج)- بخش پوست

تلفن: ۰۵۶۱-۴۴۳۰۰۱-۰۵۶۱-۴۴۳۰۰۴. نامبر: ۰۵۶۱-۴۴۳۰۰۴. پست الکترونیکی: rezaghaderi@yahoo.com

<sup>۲</sup> دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بیرونی

**مقدمه**

نیاز مبرم به درمان ضدقارچی دارند، دیده می‌شود (۷). یکی از راههایی که می‌تواند نقايسص 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<sup>\*</sup> 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)؛ همچنین علاوه بر اثرات آنتی‌اسیدانی میوه زرشک (۸)، از ریشه و پوست ساقه آن، آلکالوئیدهای گوناگونی به دست آمده که مهمترین آنها بربرین<sup>†</sup> می‌باشد (۹). بر اساس مطالعاتی که بر روی عصاره ریشه زرشک و عمدۀ ترین آلکالوئید آن یعنی بربرین صورت گرفته، خواص زیر برای آن ذکر شده است:

آنتی‌اسیدان (۸)، اثرات ضد التهابی (۹)، اثرات آنتی‌بакتریال علیه گونه‌های میکروبی اشریشیا کولی (۱۱)، ویبریوکلرا (۱۳)، اثرات ضد لشمانیا دونووانی (۱۴، ۱۲) ضد فشار خون (۱۹، ۱۸) و ضدقارچ (۰-۲۵).

مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات ضد کاندیدایی عصاره ریشه زرشک (آبی و الکلی) در محیط آزمایشگاهی و مقایسه آن با کلوتریمازوول (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 مقتр (۱ گرم در

در خلال ۳۰ سال گذشته، میزان بروز عفونتهای قارچی تهاجمی در انسان به طور چشمگیری افزایش یافته است. بیمارانی که به دلایلی همچون لوسمی و ایدز دچار نقص ایمنی می‌شوند و یا آنها یکی که بر اثر اعمال جراحی پیوند عضو به طور انتخابی سیستم ایمنی آنها ضعیف می‌گردد؛ بویژه مستعد ابتلا به عفونتهای قارچی فرستطلبه می‌گرددند 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) کاندیدیاز سیستمیک روی می‌دهد که در این حالت آبسه‌ها در بسیاری از بافت‌ها تشکیل می‌شوند (۳، ۴). درمانهای شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌های پلی‌ان مثل آمفوتیریسین، نیستاتین و ناتاماکسین، به مقدار زیادی علیه گونه‌های کاندیدا مؤثرند؛ اما دو مشکل عمده دارند: ۱- جذب روده‌ای آنها محدود است و در میان آنها فقط آمفوتیریسین قابل تزریق از راه ورید است. ۲- به طور نسبی دارای اثرات نفروتوکسیک هستند (۶، ۵).

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

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

<sup>\*</sup> Berberis Vulgaris  
<sup>†</sup> 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  $16/89 \pm 1/65$  میلیمتر، عصاره الکلی زرشک  $27/69 \pm 2/90$  میلیمتر، عصاره الکلی صفر میلیمتر و کلوتريمازول  $33/63 \pm 1/51$  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 کلوتريمازول نشان داد ( $F=16.07/79$ )، ( $P<0.001$ ) که بر اساس نتایج آزمون Tukey-B این اختلاف بین میانگین ناحیه مهار توسط کلوتريمازول با عصاره آبی و الکلی بوده است؛ بنابراین دارا بودن قدرت ضد کاندیدایی به ترتیب مربوط به کلوتريمازول، عصاره الکلی و بعد عصاره آبی زرشک بوده و الکل ۷۰ درجه فقد خواص ضد کاندیدایی بوده است.

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

میانگین و انحراف معیار	تعداد	دارو
$16/89 \pm 1/65$	۱۰۰	عصاره آبی
$27/69 \pm 2/90$	۱۰۰	عصاره الکلی
.	۱۰۰	الکل ۷۰ درجه
$33/63 \pm 1/51$	۱۰۰	کلوتريمازول



شکل ۲- نواحی مهار مربوط به عصاره الکلی ریشه زرشک (حاله زرد) و الکل (حاله 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 تغليظ گردید (۱۵).

نمونه کاندیدا آلبیکنس از بیمار به دست آمد و با آزمونهای میکروبیولوژی تایید گردید؛ سپس ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلولی کاندیدا آلبیکنس ( $100000\text{ CFU/mL}$ ) 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 مقطمر و ۱ سانتیمتر مکعب الکل ۷۰ درجه و ۱ سانتیمتر مکعب از لوسيون کلوتريمازول ۱٪ در چاله‌های تعییه 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 کلوتريمازول با روش اندازه‌گیری قطر ناحیه مهار مورد ارزیابی قرار گرفت. به میزان قطر ناحیه مهار  $10-1$  میلیمتر،  $+1$  و  $-1$  میلیمتر،  $+2$  و  $-2$  میلیمتر،  $+3$  و  $-3$  میلیمتر،  $+4$  و  $-4$  میلیمتر،  $+5$  و  $-5$  میلیمتر،  $+6$  و  $-6$  میلیمتر،  $+7$  و  $-7$  میلیمتر،  $+8$  و  $-8$  میلیمتر،  $+9$  و  $-9$  میلیمتر،  $+10$  و  $-10$  میلیمتر،  $+11$  و  $-11$  میلیمتر،  $+12$  و  $-12$  میلیمتر،  $+13$  و  $-13$  میلیمتر،  $+14$  و  $-14$  میلیمتر،  $+15$  و  $-15$  میلیمتر،  $+16$  و  $-16$  میلیمتر،  $+17$  و  $-17$  میلیمتر،  $+18$  و  $-18$  میلیمتر،  $+19$  و  $-19$  میلیمتر،  $+20$  و  $-20$  میلیمتر،  $+21$  و  $-21$  میلیمتر،  $+22$  و  $-22$  میلیمتر،  $+23$  و  $-23$  میلیمتر،  $+24$  و  $-24$  میلیمتر،  $+25$  و  $-25$  میلیمتر،  $+26$  و  $-26$  میلیمتر،  $+27$  و  $-27$  میلیمتر،  $+28$  و  $-28$  میلیمتر،  $+29$  و  $-29$  میلیمتر،  $+30$  و  $-30$  میلیمتر،  $+31$  و  $-31$  میلیمتر،  $+32$  و  $-32$  میلیمتر،  $+33$  و  $-33$  میلیمتر،  $+34$  و  $-34$  میلیمتر،  $+35$  و  $-35$  میلیمتر،  $+36$  و  $-36$  میلیمتر،  $+37$  و  $-37$  میلیمتر،  $+38$  و  $-38$  میلیمتر،  $+39$  و  $-39$  میلیمتر،  $+40$  و  $-40$  میلیمتر،  $+41$  و  $-41$  میلیمتر،  $+42$  و  $-42$  میلیمتر،  $+43$  و  $-43$  میلیمتر،  $+44$  و  $-44$  میلیمتر،  $+45$  و  $-45$  میلیمتر،  $+46$  و  $-46$  میلیمتر،  $+47$  و  $-47$  میلیمتر،  $+48$  و  $-48$  میلیمتر،  $+49$  و  $-49$  میلیمتر،  $+50$  و  $-50$  میلیمتر،  $+51$  و  $-51$  میلیمتر،  $+52$  و  $-52$  میلیمتر،  $+53$  و  $-53$  میلیمتر،  $+54$  و  $-54$  میلیمتر،  $+55$  و  $-55$  میلیمتر،  $+56$  و  $-56$  میلیمتر،  $+57$  و  $-57$  میلیمتر،  $+58$  و  $-58$  میلیمتر،  $+59$  و  $-59$  میلیمتر،  $+60$  و  $-60$  میلیمتر،  $+61$  و  $-61$  میلیمتر،  $+62$  و  $-62$  میلیمتر،  $+63$  و  $-63$  میلیمتر،  $+64$  و  $-64$  میلیمتر،  $+65$  و  $-65$  میلیمتر،  $+66$  و  $-66$  میلیمتر،  $+67$  و  $-67$  میلیمتر،  $+68$  و  $-68$  میلیمتر،  $+69$  و  $-69$  میلیمتر،  $+70$  و  $-70$  میلیمتر،  $+71$  و  $-71$  میلیمتر،  $+72$  و  $-72$  میلیمتر،  $+73$  و  $-73$  میلیمتر،  $+74$  و  $-74$  میلیمتر،  $+75$  و  $-75$  میلیمتر،  $+76$  و  $-76$  میلیمتر،  $+77$  و  $-77$  میلیمتر،  $+78$  و  $-78$  میلیمتر،  $+79$  و  $-79$  میلیمتر،  $+80$  و  $-80$  میلیمتر،  $+81$  و  $-81$  میلیمتر،  $+82$  و  $-82$  میلیمتر،  $+83$  و  $-83$  میلیمتر،  $+84$  و  $-84$  میلیمتر،  $+85$  و  $-85$  میلیمتر،  $+86$  و  $-86$  میلیمتر،  $+87$  و  $-87$  میلیمتر،  $+88$  و  $-88$  میلیمتر،  $+89$  و  $-89$  میلیمتر،  $+90$  و  $-90$  میلیمتر،  $+91$  و  $-91$  میلیمتر،  $+92$  و  $-92$  میلیمتر،  $+93$  و  $-93$  میلیمتر،  $+94$  و  $-94$  میلیمتر،  $+95$  و  $-95$  میلیمتر،  $+96$  و  $-96$  میلیمتر،  $+97$  و  $-97$  میلیمتر،  $+98$  و  $-98$  میلیمتر،  $+99$  و  $-99$  میلیمتر،  $+100$  و  $-100$  میلیمتر،  $+101$  و  $-101$  میلیمتر،  $+102$  و  $-102$  میلیمتر،  $+103$  و  $-103$  میلیمتر،  $+104$  و  $-104$  میلیمتر،  $+105$  و  $-105$  میلیمتر،  $+106$  و  $-106$  میلیمتر،  $+107$  و  $-107$  میلیمتر،  $+108$  و  $-108$  میلیمتر،  $+109$  و  $-109$  میلیمتر،  $+110$  و  $-110$  میلیمتر،  $+111$  و  $-111$  میلیمتر،  $+112$  و  $-112$  میلیمتر،  $+113$  و  $-113$  میلیمتر،  $+114$  و  $-114$  میلیمتر،  $+115$  و  $-115$  میلیمتر،  $+116$  و  $-116$  میلیمتر،  $+117$  و  $-117$  میلیمتر،  $+118$  و  $-118$  میلیمتر،  $+119$  و  $-119$  میلیمتر،  $+120$  و  $-120$  میلیمتر،  $+121$  و  $-121$  میلیمتر،  $+122$  و  $-122$  میلیمتر،  $+123$  و  $-123$  میلیمتر،  $+124$  و  $-124$  میلیمتر،  $+125$  و  $-125$  میلیمتر،  $+126$  و  $-126$  میلیمتر،  $+127$  و  $-127$  میلیمتر،  $+128$  و  $-128$  میلیمتر،  $+129$  و  $-129$  میلیمتر،  $+130$  و  $-130$  میلیمتر،  $+131$  و  $-131$  میلیمتر،  $+132$  و  $-132$  میلیمتر،  $+133$  و  $-133$  میلیمتر،  $+134$  و  $-134$  میلیمتر،  $+135$  و  $-135$  میلیمتر،  $+136$  و  $-136$  میلیمتر،  $+137$  و  $-137$  میلیمتر،  $+138$  و  $-138$  میلیمتر،  $+139$  و  $-139$  میلیمتر،  $+140$  و  $-140$  میلیمتر،  $+141$  و  $-141$  میلیمتر،  $+142$  و  $-142$  میلیمتر،  $+143$  و  $-143$  میلیمتر،  $+144$  و  $-144$  میلیمتر،  $+145$  و  $-145$  میلیمتر،  $+146$  و  $-146$  میلیمتر،  $+147$  و  $-147$  میلیمتر،  $+148$  و  $-148$  میلیمتر،  $+149$  و  $-149$  میلیمتر،  $+150$  و  $-150$  میلیمتر،  $+151$  و  $-151$  میلیمتر،  $+152$  و  $-152$  میلیمتر،  $+153$  و  $-153$  میلیمتر،  $+154$  و  $-154$  میلیمتر،  $+155$  و  $-155$  میلیمتر،  $+156$  و  $-156$  میلیمتر،  $+157$  و  $-157$  میلیمتر،  $+158$  و  $-158$  میلیمتر،  $+159$  و  $-159$  میلیمتر،  $+160$  و  $-160$  میلیمتر،  $+161$  و  $-161$  میلیمتر،  $+162$  و  $-162$  میلیمتر،  $+163$  و  $-163$  میلیمتر،  $+164$  و  $-164$  میلیمتر،  $+165$  و  $-165$  میلیمتر،  $+166$  و  $-166$  میلیمتر،  $+167$  و  $-167$  میلیمتر،  $+168$  و  $-168$  میلیمتر،  $+169$  و  $-169$  میلیمتر،  $+170$  و  $-170$  میلیمتر،  $+171$  و  $-171$  میلیمتر،  $+172$  و  $-172$  میلیمتر،  $+173$  و  $-173$  میلیمتر،  $+174$  و  $-174$  میلیمتر،  $+175$  و  $-175$  میلیمتر،  $+176$  و  $-176$  میلیمتر،  $+177$  و  $-177$  میلیمتر،  $+178$  و  $-178$  میلیمتر،  $+179$  و  $-179$  میلیمتر،  $+180$  و  $-180$  میلیمتر،  $+181$  و  $-181$  میلیمتر،  $+182$  و  $-182$  میلیمتر،  $+183$  و  $-183$  میلیمتر،  $+184$  و  $-184$  میلیمتر،  $+185$  و  $-185$  میلیمتر،  $+186$  و  $-186$  میلیمتر،  $+187$  و  $-187$  میلیمتر،  $+188$  و  $-188$  میلیمتر،  $+189$  و  $-189$  میلیمتر،  $+190$  و  $-190$  میلیمتر،  $+191$  و  $-191$  میلیمتر،  $+192$  و  $-192$  میلیمتر،  $+193$  و  $-193$  میلیمتر،  $+194$  و  $-194$  میلیمتر،  $+195$  و  $-195$  میلیمتر،  $+196$  و  $-196$  میلیمتر،  $+197$  و  $-197$  میلیمتر،  $+198$  و  $-198$  میلیمتر،  $+199$  و  $-199$  میلیمتر،  $+200$  و  $-200$  میلیمتر،  $+201$  و  $-201$  میلیمتر،  $+202$  و  $-202$  میلیمتر،  $+203$  و  $-203$  میلیمتر،  $+204$  و  $-204$  میلیمتر،  $+205$  و  $-205$  میلیمتر،  $+206$  و  $-206$  میلیمتر،  $+207$  و  $-207$  میلیمتر،  $+208$  و  $-208$  میلیمتر،  $+209$  و  $-209$  میلیمتر،  $+210$  و  $-210$  میلیمتر،  $+211$  و  $-211$  میلیمتر،  $+212$  و  $-212$  میلیمتر،  $+213$  و  $-213$  میلیمتر،  $+214$  و  $-214$  میلیمتر،  $+215$  و  $-215$  میلیمتر،  $+216$  و  $-216$  میلیمتر،  $+217$  و  $-217$  میلیمتر،  $+218$  و  $-218$  میلیمتر،  $+219$  و  $-219$  میلیمتر،  $+220$  و  $-220$  میلیمتر،  $+221$  و  $-221$  میلیمتر،  $+222$  و  $-222$  میلیمتر،  $+223$  و  $-223$  میلیمتر،  $+224$  و  $-224$  میلیمتر،  $+225$  و  $-225$  میلیمتر،  $+226$  و  $-226$  میلیمتر،  $+227$  و  $-227$  میلیمتر،  $+228$  و  $-228$  میلیمتر،  $+229$  و  $-229$  میلیمتر،  $+230$  و  $-230$  میلیمتر،  $+231$  و  $-231$  میلیمتر،  $+232$  و  $-232$  میلیمتر،  $+233$  و  $-233$  میلیمتر،  $+234$  و  $-234$  میلیمتر،  $+235$  و  $-235$  میلیمتر،  $+236$  و  $-236$  میلیمتر،  $+237$  و  $-237$  میلیمتر،  $+238$  و  $-238$  میلیمتر،  $+239$  و  $-239$  میلیمتر،  $+240$  و  $-240$  میلیمتر،  $+241$  و  $-241$  میلیمتر،  $+242$  و  $-242$  میلیمتر،  $+243$  و  $-243$  میلیمتر،  $+244$  و  $-244$  میلیمتر،  $+245$  و  $-245$  میلیمتر،  $+246$  و  $-246$  میلیمتر،  $+247$  و  $-247$  میلیمتر،  $+248$  و  $-248$  میلیمتر،  $+249$  و  $-249$  میلیمتر،  $+250$  و  $-250$  میلیمتر،  $+251$  و  $-251$  میلیمتر،  $+252$  و  $-252$  میلیمتر،  $+253$  و  $-253$  میلیمتر،  $+254$  و  $-254$  میلیمتر،  $+255$  و  $-255$  میلیمتر،  $+256$  و  $-256$  میلیمتر،  $+257$  و  $-257$  میلیمتر،  $+258$  و  $-258$  میلیمتر،  $+259$  و  $-259$  میلیمتر،  $+260$  و  $-260$  میلیمتر،  $+261$  و  $-261$  میلیمتر،  $+262$  و  $-262$  میلیمتر،  $+263$  و  $-263$  میلیمتر،  $+264$  و  $-264$  میلیمتر،  $+265$  و  $-265$  میلیمتر،  $+266$  و  $-266$  میلیمتر،  $+267$  و  $-267$  میلیمتر،  $+268$  و  $-268$  میلیمتر،  $+269$  و  $-269$  میلیمتر،  $+270$  و  $-270$  میلیمتر،  $+271$  و  $-271$  میلیمتر،  $+272$  و  $-272$  میلیمتر،  $+273$  و  $-273$  میلیمتر،  $+274$  و  $-274$  میلیمتر،  $+275$  و  $-275$  میلیمتر،  $+276$  و  $-276$  میلیمتر،  $+277$  و  $-277$  میلیمتر،  $+278$  و  $-278$  میلیمتر،  $+279$  و  $-279$  میلیمتر،  $+280$  و  $-280$  میلیمتر،  $+281$  و  $-281$  میلیمتر،  $+282$  و  $-282$  میلیمتر،  $+283$  و  $-283$  میلیمتر،  $+284$  و  $-284$  میلیمتر،  $+285$  و  $-285$  میلیمتر،  $+286$  و  $-286$  میلیمتر،  $+287$  و  $-287$  میلیمتر،  $+288$  و  $-288$  میلیمتر،  $+289$  و  $-289$  میلیمتر،  $+290$  و  $-290$  میلیمتر،  $+291$  و  $-291$  میلیمتر،  $+292$  و  $-292$  میلیمتر،  $+293$  و  $-293$  میلیمتر،  $+294$  و  $-294$  میلیمتر،  $+295$  و  $-295$  میلیمتر،  $+296$  و  $-296$  میلیمتر،  $+297$  و  $-297$  میلیمتر،  $+298$  و  $-298$  میلیمتر،  $+299$  و  $-299$  میلیمتر،  $+300$  و  $-300$  میلیمتر،  $+301$  و  $-301$  میلیمتر،  $+302$  و  $-302$  میلیمتر،  $+303$  و  $-303$  میلیمتر،  $+304$  و  $-304$  میلیمتر،  $+305$  و  $-305$  میلیمتر،  $+306$  و  $-306$  میلیمتر،  $+307$  و  $-307$  میلیمتر،  $+308$  و  $-308$  میلیمتر،  $+309$  و  $-309$  میلیمتر،  $+310$  و  $-310$  میلیمتر،  $+311$  و  $-311$  میلیمتر،  $+312$  و  $-312$  میلیمتر،  $+313$  و  $-313$  میلیمتر،  $+314$  و  $-314$  میلیمتر،  $+315$  و  $-315$  میلیمتر،  $+316$  و  $-316$  میلیمتر،  $+317$  و  $-317$  میلیمتر،  $+318$  و  $-318$  میلیمتر،  $+319$  و  $-319$  میلیمتر،  $+320$  و  $-320$  میلیمتر،  $+321$  و  $-321$  میلیمتر،  $+322$  و  $-322$  میلیمتر،  $+323$  و  $-323$  میلیمتر،  $+324$  و  $-324$  میلیمتر،  $+325$  و  $-325$  میلیمتر،  $+326$  و  $-326$  میلیمتر،  $+327$  و  $-327$  میلیمتر،  $+328$  و  $-328$  میلیمتر،  $+329$  و  $-329$  میلیمتر،  $+330$  و  $-330$  میلیمتر،  $+331$  و  $-331$  میلیمتر،  $+332$  و  $-332$  میلیمتر،  $+333$  و  $-333$  میلیمتر،  $+334$  و  $-334$  میلیمتر،  $+335$  و  $-335$  میلیمتر،  $+336$  و  $-336$  میلیمتر،  $+337$  و  $-337$  میلیمتر،  $+338$  و  $-338$  میلیمتر،  $+339$  و  $-339$  میلیمتر،  $+340$  و  $-340$  میلیمتر،  $+341$  و  $-341$  میلیمتر،  $+342$  و  $-342$  میلیمتر،  $+343$  و  $-343$  میلیمتر،  $+344$  و  $-344$  میلیمتر،  $+345$  و  $-345$  میلیمتر،  $+346$  و  $-346$  میلیمتر،  $+347$  و  $-347$  میلیمتر،  $+348$  و  $-348$  میلیمتر،  $+349$  و  $-349$  میلیمتر،  $+350$  و  $-350$  میلیمتر،  $+351$  و  $-351$  میلیمتر،  $+352$  و  $-352$  میلیمتر،  $+353$

صورت دوز منفرد و بربرین با دوز  $1\text{ mg/kg}$  به صورت جداگانه، میانگین زمان بقای موش به ترتیب ۱۴ و ۱۷ روز بود؛ سپس محققین ترکیب آمفوتیریسین 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 آمفوتیریسین به تنها یی بیشتر بود و با اثر ۴ دوز درمان آمفوتیریسین B برابر می‌کرد. محققان چنین نتیجه‌گیری کردند که اثر سینرژیستی بربرین با آمفوتیریسین می‌تواند منجر به کاهش ۷۵ درصدی در دوز مصرفی آمفوتیریسین B گردد.

Nakamoto و همکاران نیز طی تحقیقی به بررسی اثرات ضد کاندیدایی بربرین پرداخته و گزارش کردند که حداقل غلظت مهاری (MIC) بربرین هیدروکلرايد در مورد کاندیدا آلبیکنس  $1\text{ mg/mL}$  در کاندیدا تروپیکالیس  $125\text{ mg/mL}$  و در کاندیدا گلابراتا  $5\text{ mg/mL}$  بوده 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 کاندیدای آن هم افزوده می‌شود (۲۴)؛ تحقیق اخیر Quan و همکاران در مورد بررسی اثرات کاربرد همزمان فلوکونازول و بربرین کلرايد در ۴۰ مورد بیمار مبتلا به کاندیدیازیس مقاوم به فلوکونازول نیز نشان داد که بربرین با فلوکونازول سینرژیسم دارد و اثرات ضد کاندیدایی 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 کاندیدایی ریشه زرشک با یک آنتی‌بیوتیک مرسوم برای درمان عفونتهای کاندیدایی (کلوتریمازول) است. با مقایسه نتایج به دست آمده مشخص گردید که آثار ضد کاندیدایی 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 Berebris 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 هربیسید 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 مهاری بربرین بر روی بیوسنتر 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 آنتی بیوتیک‌های موجود بود.

در مطالعه Han و Lee بر روی موش، اثر سینرژیسم بربرین با آمفوتیریسین B در موش مبتلا به کاندیدیاز مننشر مورد بررسی قرار گرفت و نتایج زیر گزارش شد (۲۲)؛ در مورد استفاده از آمفوتیریسین B با دوز  $5\text{ mg/kg}$  با دوز  $0.5\text{ mg/kg}$  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 برابرین خالص می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

این مطالعه به صورت آزمایشگاهی انجام شد و برای استفاده‌های درمانی از نتایج این مطالعه نیاز به مطالعات 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 بيرجند به دليل حمایت مالی و آقایان حسامی و خراشادیزاده کارکنان محترم آزمایشگاه بیوشیمی و آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی بيرجند 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 برابرین دارای بیشترین مقدار می‌باشد (۸). برابرین 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 برابرین 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 لابه‌لای 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. 7<sup>th</sup> 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. 5<sup>th</sup> ed. USA: WB Saunders; 1988. pp: 536-75.
- 4- Mary F. Fungal infections. In: Kumar V, Cotran R, Robbins S (eds). Basic pathology. 6<sup>th</sup> 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): 1638-40.
- 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- Grappa 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, Kovalevskaya IN. The use of barberry berries in human nutrition. *Vopr Pitan.* 2003; 72 (4): 46-49.
- 18- Fatehi M, Saleh TM, Fatehi-Hassanabad Z, Farrokhal 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. Ghaderi<sup>1</sup>, P. MalekiNejad<sup>2</sup>

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

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

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

<sup>2</sup> Student of Medicine; Birjand University of Medical Sciences