



دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته قارچ شناسی پزشکی

عنوان:

شناسایی ترکیبات و تعیین اثر ضد قارچی عرقهای نعناع و زنیان

توسط: علی عربی منفرد

استاد راهنما: دکتر سید امین آیت الهی موسوی، دکتر کامیار زمردیان

سال تحصیلی: ۱۳۹۵-۱۳۹۶



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of Medicine

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

(MSc)

Title:

Determination of chemical composition and anti candida activities of

***Mentha spicata* and *Trachyspermum ammi* Aromatic waters**

By:

Ali Arabi Monfared

Supervisors:

1- Dr.Seyed Amin Ayatollahi Mosavi

2- Dr.Kamiar Zomorodian

Year:

2017



مقدمه و اهداف: کاندیدیازیس یکی از مهمترین و شایع ترین بیماری قارچی فرصت طلب در انسان است. این بیماری به صورت حاد، تحت حاد و مزمن از سطحی ترین لایه بیرونی بدن تا لایه های درونی بدن را درگیر می کند. مهمترین عامل بیماری مخمر کاندیدا آلبیکنس می باشد که فلور طبیعی غشاهای مخاطی و اصلی ترین مسبب عفونت های بیمارستانی قارچی است. این ارگانسیم یک پاتوژن فرصت طلب می باشد که با تغییر در شرایط محیطی بدن مانند نقص سیستم ایمنی، باعث ایجاد فرم مهاجم و ایجاد عفونت های مزمن و غیر قابل درمان حتی مرگ گردد. با توجه به افزایش شمار بیماران دارای نقص سیستم ایمنی من جمله ایدز، سرطان، بیماران اتوایمیون تحت درمان داروهای سرکوبگر ایمنی، افزایش مقاومت دارویی این ارگانسیم و نظر به استفاده وسیع و استقبال جوامع در بکارگیری گیاهان دارویی، مصرف این گیاهان جهت بسیاری از بیماریها در سراسر جهان مخصوصاً ایران افزایش یافته است. یکی از اشکال ترکیبات گیاهی دارویی که از دیرباز در کشور ما استفاده می شود عرقیات گیاهی می باشد. از آنجا که این عرقیات حاوی اسانس گیاه می باشد و اثرات ضد میکروبی اسانس ها در مطالعات متعدد مشخص گردیده لذا به عنوان داروی جایگزینی یا به صورت همزمان با سایر داروها در درمان بیماری قابل استفاده می باشد. هدف این مطالعه تعیین اثرات ضد قارچی عرقیات گیاهی زنیان و نعنای علیه مخمرهای کاندیدا در دو شرایط برون تن و درون تن می باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه از عرقیات دو گونه گیاهی زنیان و نعنای که توسط کارشناسی گیاه شناسی مورد شناسایی و تایید قرار گرفته استفاده شد. به منظور شناسایی ترکیبات موجود در عرقیات با استفاده از حلال دی اتیل اتر اسانس عرقیات جدا گردید و در ترکیبات اسانس با تزریق به دستگاه GC/MS، اجزاء متشکله اسانس با استفاده از کتاب (Adams, 2001) و مقایسه شکست های هر ترکیب با داده های منتشر شده در کتابخانه اطلاعاتی Wiley، مورد شناسایی قرار گرفت. در این مطالعه اثر بخشی مهار رشد (MIC) و کشندگی (MFC) عرقیات زنیان و نعنای بر روی ۱۵ گونه استاندارد کاندیدا و ۵ گونه بالینی حساس و مقاوم به داروی فلوکونازول به روش برات میکرودایلوشن بر اساس استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی بررسی گردید. اثر مهار کنندگی تشکیل بیوفیلم های کاندیدیایی توسط دو عرق نعنای و زنیان بر اساس روش XTT تعیین گردید. خواص آنتی اکسیدان عرق زنیان و عرق نعنای با استفاده از روش 2, 2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH•) تعیین شد. اثر بخشی عرق زنیان در کنترل و درمان کاندیدیازیس گوارشی در مدل حیوانی در مقایسه با گروه کنترل (بدون دارو) و تحت درمان با فلوکونازول بررسی و نتایج حاصله با روشهای کشت و هیستوپاتولوژیکی تایید گردید.

یافته ها: کاروون باغلظت ۵۵/۹۷ درصد ترکیب اصلی اسانس عرق نعناع و بیپریتنون و دی هیدرو کاروئول با غلظت های برابر ۱۵/۹۱ درصد و ۵/۷۷ درصد در مرتبه بعدی قرار داشتند. همچنین تیمول با غلظت ۷۸/۰۸ درصد را بعنوان جزء اصلی اسانس عرق زنیان شناسایی شده، کارواکرول و کارواتاناستون با غلظت های برابر ۸/۲۰ درصد و ۶/۵۰ درصد در مرتبه بعدی قرار داشتند. در اکثر گونه ها عرق زنیان با رقت ۱/۴ باعث مهار رشد و با رقت ۱/۲ باعث کشندگی و عرق نعناع تقریباً بر اکثر گونه ها بی اثر بود. عرق زنیان باعث مهار بیوفیلیم گونه استاندارد کاندیدا آلیکنس (-ATCC 10261) به میزان ۵۰ درصد و ۹۰ درصد به ترتیب در رقت ۱/۱۶ و ۱/۴ و عرق نعناع باعث مهار تشکیل بیوفیلیم کاندیدایی به میزان ۵۰ درصد در رقت ۱/۱۶ گردید.

نتیجه گیری: اثر بخشی عرق زنیان در کنترل و درمان کاندیدیازیس گوارشی نشان از تاثیر عرق زنیان در مهار کلونیزاسیون قارچی مخاطی و کمک به ترمیم بافت های نکروزه توسط این عرق دارد. اثرات قابل ملاحظه ضد قارچی عرق زنیان می تواند به علت غلظت بالای ترکیبات مونوترپن فنلی موجود در عرق باشد. افزون بر خواص ضد قارچی قابل ملاحظه به دلیل خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی ترکیبات موجود در عرق، پروسه ترمیم بافت های نکروزه در موش های درمان شده با عرقیات در مقایسه با کنترل کاهش قابل ملاحظه ای دارد.

واژه های کلیدی: کاندیدا ، عرق زنیان، عرق نعناع، بیوفیلیم، آنتی اکسیدان

Abstract:

Background and Objectives: Candidiasis is one of the most common opportunistic fungal diseases in human. *Candida* species which is considered as a part of normal flora of mucocutaneous surfaces, many cause wide range of clinical symptom from superficial infection to mucocutaneous or visceral candidiasis. These yeasts may also cause upper gastrointestinal especially among those with imbalance normal flora or compromised immune system. Because of the universal increase in antifungal-resistant *Candida*, there is growing interest in finding novel antifungal agents especially from natural resources. Among which, aromatic waters distilled from medicinal plant containing essential oils with known antimicrobial properties. The aim of this study was to determined in vitro antifungal activity of *Trachyspermum ammi* and *Menta Spicata* AWs and in vivo antifungal activity of *Trachyspermum ammi* AW against *Candida* species.

Methods: The chemical composition of the essential oil from *T.ammi* and *M.Spicata* AWs analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The components of the essential oils were identified by comparing their Kovats indices and mass spectra fragmentation patterns with those stored on the MS-data bank (Adams, 2001 and the Wiley library). The antimicrobial activity of the essential oil against *Candida* species was evaluated by broth micro-dilution as per the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) methods. Moreover, biofilm formation inhibition and antioxidant activity of the AW was measured by using a XTT reduction and DPPH methods, respectively. Experimental activity of the AW in the prevention or treatment of GI candidiasis was also evaluated in animal model by both culture and histopathological methods.

Results: GC-MS analysis revealed that the major constituents of the essential oil of *T.ammi* AW were Thymol (78.08%), Carvacrol (8.20%) and Carvotanacetone (6.50%) and Carvone with 55.97% was the main component of *M.Spicata* aw essential oil and Piperiton and Di-hydro carveol with respectively concentrations 15.91% and 5.77% were ranked. The *T.ammi* AW exhibited antimicrobial activity against all tested yeasts with MICs in the range of 0.125–0.25 V/V. In addition, the EO inhibited the biofilm formation of *Candida albicans* at concentration up to 0.25 V/V(90%). *M.Spicata* aw almost the most species was ineffective and was inhibited 50 % biofilm formation in dilution of 0.0625. The *T.ammi* AW significantly decreased the CFUs in mice receiving AW in comparison with those of control group. Similarly, histopathological analyses showed that candidal colonization decline in mice following administration of AW of *T.ammi* in therapeutic trial.

Conculation: The considerable antifungal activity of the AW against the examined *Candida* species might be related to high concentration of phenolic monoterpens in the EO distilled from AW. In addition to considerable antimicrobial effects of the AW, antioxidant activity activity of the AW attributed to inducing the healing process of tissue necrosis found in mice treated with AW in comparison to the controls. Considering wide range of antifungal activities of the examined AW, it might have potential to be used in the management of alimentary Candidiasis or as mouthwash or other pharmaceutical products.

Key words: *Candida spp*, *Trachyspermum ammi*, *Menta Spicata*, Aromatic Water, Antifungal activity.