



Efficacy of *Thymus vulgaris* and *Trigonella foenum-graecum* Extracts Alone and in Combination in *Candida albicans* Hyphae Model and in Downregulation of Secreted Aspartyl Proteinase 1 Gene Expression

Alireza Khodavandi ¹, Fahimeh Alizadeh ^{1*}, Parisa Rastgo ²

¹ Department of Microbiology, Gac. C., Islamic Azad University, Gachsaran, Iran

² Department of Microbiology, Yas. C., Islamic Azad University, Yasuj, Iran

* **Corresponding author:** Department of Microbiology, Gac. C., Islamic Azad University, Gachsaran, Iran.

Email: fahimeh.alizadeh@iau.ac.ir

DOI: [10.61882/jams.28.6.420](https://doi.org/10.61882/jams.28.6.420)

How to Cite this Article:

Khodavandi A, Alizadeh F, Rastgo P. Efficacy of *Thymus vulgaris* and *Trigonella foenum-graecum* Extracts Alone and in Combination in *Candida albicans* Hyphae Model and in Downregulation of Secreted Aspartyl Proteinase 1 Gene Expression. *J Arak Uni Med Sci.* 2025;28(6): 420-31. DOI: [10.61882/jams.28.6.420](https://doi.org/10.61882/jams.28.6.420)

Received: 16.02.2025

Accepted: 30.01.2026

Keywords:

Candida albicans;
Thymus vulgaris and *Trigonella foenum-graecum* in combination;
SAP1 gene expression

© 2024 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: The emergence of antifungal resistance in *Candida albicans* diseases poses a threat to global public health. New treatments are needed to target *C. albicans* and its ability to produce hyphae. The aim of this study was to investigate the potential synergistic effects and antifungal properties of *Thymus vulgaris* and *Trigonella foenum-graecum* extracts alone and in combination on *C. albicans*.

Methods: In this experimental study, extracts of *Thymus vulgaris* and *Trigonella foenum-graecum* were prepared using hot water (60 °C) and Soxhlet extraction with methanol (10%). Yeast susceptibility testing was performed according to the Clinical and Laboratory Standards Institute disk diffusion and broth microdilution guidelines. The hyphal model was created in the presence of alcoholic extracts of *Thymus vulgaris* and *Trigonella foenum-graecum* alone and in combination. Crystal violet staining, microscopic observation and gene expression analysis were used to evaluate the inhibition of hyphal growth.

Results: The results showed that 90% of the *C. albicans* isolates were resistant to fluconazole. Aqueous and alcoholic extracts of *Thymus vulgaris* in combination with *Trigonella foenum-graecum* showed synergistic, partially synergistic and additive effects. Alcoholic extracts of *Thymus vulgaris* with *Trigonella foenum-graecum* alone and in combination have anti-hyphae activity by reducing the percentage of hyphae, reducing the number of planktonic cells and the transition of planktonic cells to hyphae, and down-regulating the Secreted Aspartyl Proteinase 1 (SAP1) gene.

Conclusions: Taken together, these results indicate that extracts of *Thymus vulgaris* alone and in combination with *Trigonella foenum-graecum* may offer a potent alternative strategy to combat resistant *C. albicans* infections and their ability to reduce hyphae formation. Additionally, the SAP1 gene could be a likely target in the synergistic interaction of alcoholic extracts of *Thymus vulgaris* in combination with *Trigonella foenum-graecum* against the *C. albicans* hyphae model.

اثر بخشی عصاره‌های ترکیبی آویشن معمولی و سنبليله در مدل ريسه کاندیدا آلبیکانس و کاهش بیان ژن آسپارتیل پروتئیناز ترشحي ۱

علیرضا خداوندی^۱، فهیمه علیزاده^{۱*}، پریسا راستگو^۲

^۱ دانشیار گروه میکروبیولوژی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران
^۲ کارشناس ارشد گروه میکروبیولوژی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

* نویسنده مسئول: فهیمه علیزاده، گچساران، مجتمع دانشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گچساران، دانشکده پرستاری و مامایی، بخش میکروبیولوژی. ایمیل: fahimeh.alizadeh@iau.ac.ir

DOI: 10.61882/jams.28.6.420

| | |
|--|--|
| تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۸ | چکیده |
| تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۰ | مقدمه: ظهور مقاومت ضدقارچی در کاندیدا آلبیکانس یک تهدید جدی برای سلامت جهانی است. این امر، توسعه رویکردهای درمانی جدید را ضروری می‌سازد. مطالعه حاضر به بررسی اثرات ضدقارچی و ضد ریسهای عصاره‌های آویشن معمولی (<i>Thymus vulgaris</i>) و سنبليله (<i>Trigonella foenum-graecum</i>)، به تنهایی و ترکیبی، بر کاندیدا آلبیکانس می‌پردازد. |
| واژگان کلیدی: بیان ژن SAPI، ترکیب آویشن معمولی و سنبليله، کاندیدا آلبیکانس | روش کار: عصاره گیاهان آویشن معمولی و سنبليله با آب داغ (۶۰ درجه سلسیوس) و استخراج سوکسله با متانول (۱۰ درصد) تهیه شد. آزمون حساسیت کاندیدا آلبیکانس با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن و میکروآیلوشن برات طبق دستورالعمل‌های مؤسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) انجام شد. مدل ریسه در حضور عصاره‌های الکلی آویشن معمولی و سنبليله به تنهایی و در ترکیب ایجاد شد. مهار رشد ریسه از طریق رنگ‌آمیزی کریستال ویولت، مشاهده میکروسکوپی و تجزیه و تحلیل بیان ژن SAPI ارزیابی شد. |
| تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است. | یافته‌ها: ۹۰ درصد از جدایه‌های کاندیدا آلبیکانس مورد آزمایش، مقاومت به فلوکونازول را نشان دادند. ترکیب عصاره‌های آبی و الکلی آویشن با عصاره‌های سنبليله اثرات هم‌افزایی، هم‌افزایی جزئی و افزایشی ضدقارچی را نشان داد. به‌طور خاص، عصاره‌های الکلی آویشن و سنبليله، به تنهایی و در ترکیب، فعالیت ضد ریسهای قابل‌توجهی را نشان دادند. این فعالیت با کاهش درصد ریسه‌های تشکیل شده، کاهش تعداد سلول‌های پلانکتونی، مهار تبدیل سلول‌های پلانکتونی به ریسه و کاهش بیان ژن SAPI مشخص شد. |
| | نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان می‌دهد که عصاره‌های آویشن، به ویژه در ترکیب با سنبليله، به عنوان یک رویکرد جایگزین امیدوارکننده برای مبارزه با عفونت‌های مقاوم کاندیدا آلبیکانس و مهار رشد ریسه مطرح می‌شوند. فزون‌بر این، ژن SAPI می‌تواند به عنوان یک هدف بالقوه برای اثر هم‌افزایی مشاهده شده بین عصاره‌های الکلی آویشن و سنبليله علیه ریسه‌های کاندیدا آلبیکانس در نظر گرفته شود. |
| | ارجاع: خداوندی علیرضا، علیزاده فهیمه، راستگو پریسا. اثر بخشی عصاره‌های ترکیبی آویشن معمولی و سنبليله در مدل ريسه کاندیدا آلبیکانس و کاهش بیان ژن آسپارتیل پروتئیناز ترشحي ۱. مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک ۱۴۰۴؛ ۲۸ (۶): ۴۲۰-۴۳۱. |

مقدمه

مورفوزن، تشکیل بیوفیلم، تغییر فنوتیپی، تیموتروپیسیم، سازگاری متابولیک و آنزیم‌های هیدرولیتیک. این عوامل به‌طور هم‌افزا به کاندیدا آلبیکانس کمک می‌کنند تا عفونت‌ها را ایجاد کند، از سیستم ایمنی میزبان بگریزد و در برابر درمان مقاوم شود. این ویژگی‌ها، مدیریت آن را به ویژه در افراد با نقص سیستم ایمنی به یک چالش تبدیل می‌کند (۳، ۴).

پس از اتصال کاندیدا آلبیکانس به سطح سلول‌های میزبان و تبدیل فرم مخمری به ریسه‌ای، ریسه‌های کاندیدا آلبیکانس آنزیم‌های هیدرولیتیکی ترشح می‌کنند که به نظر می‌رسد کارایی جذب مواد مغذی خارج‌سلولی را افزایش می‌دهند. آنزیم‌های آسپارتیل پروتئیناز ترشحي (SAPs) بسیاری از پروتئین‌های انسانی را در محل ضایعه تجزیه می‌کنند و فزون بر کمک به نفوذ به بافت‌ها و آسیب به آن‌ها، به فرار از پاسخ‌های

کاندیدا آلبیکانس، یکی از شایع‌ترین پاتوژن‌های مخمری است که عامل اصلی بیماری‌های فرصت‌طلب کاندیدیازیس در بیماران با نقص سیستم ایمنی محسوب می‌شود. این مخمر به‌طور طبیعی به‌صورت هم‌سفره در بافت‌های مخاطی از جمله دهان، واژن، دستگاه گوارش و پوست افراد سالم حضور دارد. در صورت اختلال در یکپارچگی بافت‌های محافظ یا سیستم ایمنی میزبان، کلونیزاسیون بدون علامت کاندیدا آلبیکانس می‌تواند منجر به عفونت‌های سطحی یا منتشره تهدیدکننده حیات شود (۱، ۲).

قدرت بیماری‌زایی کاندیدا آلبیکانس به توانایی آن در بیان عوامل بیماری‌زای متعدد وابسته است که در بیماری‌زایی این مخمر نقش دارند. برخی از این عوامل بیماری‌زا عبارتند از: مولکول‌های شنا سایی بیولوژیکی،

ایمنی نیز کمک می‌کنند. فعالیت پروتئولیتیک در *کاندیدا آلبیکانس* به خانواده ژنی *SAP* نسبت داده می‌شود که حداقل ۱۰ عضو دارد (از *SAP1* تا *SAP10*) (۵-۷). اسپارتیل پروتئیناز ترش‌چی، مستقل از فعالیت آنزیمی خود، سبب تغییر سطح سلول‌های میزبان یا قارچ می‌شود و پروتئین‌هایی را نمایان می‌کند که برای اتصال قارچ مناسب‌تر هستند. توانایی اتصال پروتئین‌های *SAP* به موتیف‌های RGD/KGD موجود در توالی‌های آن‌ها نسبت داده می‌شود (۵). الگوی بیان *SAP*‌ها در مراحل مختلف فرایند عفونت متفاوت است. به نظر می‌رسد که *SAP1-3* برای اتصال *کاندیدا آلبیکانس* به سطح سلول میزبان و آسیب به بافت در عفونت‌های موضعی ضروری هستند، در حالی که *SAP4-6* در بیماری‌های منتشره نقش دارند (۵، ۸).

بیان ژن‌های *SAP* می‌تواند توسط پارامترهای فیزیکی‌شیمیایی و بیولوژیکی مختلفی در محیط کلونیزاسیون یا عفونت *کاندیدا آلبیکانس* تنظیم شود (۸، ۹). مطالعات متعدد اثرات مهارتی ترکیبات مختلف بر رشد ریشه‌های *کاندیدا آلبیکانس* و کاهش بیان ژن‌های *SAP* را بررسی کرده‌اند. فلوکونازول در ترکیب با آمفوتری‌سین B سبب مهارت رشد پلانکتونی و ریشه‌های *کاندیدا آلبیکانس* و کاهش بیان ژن *SAP3* شده است (۱۰). Hosseini و همکاران نشان دادند که کارواکرویل در کاهش بیان *SAP1-3* در جدایه‌های مقاوم حساس به فلوکونازول *کاندیدا آلبیکانس* مؤثر است (۱۱).

همچنین، درمان‌های گیاهی به‌عنوان منبعی قابل توجه برای کشف داروهای ضدقارچی جدید مطرح هستند. آویشن معمولی (*Thymus vulgaris*) حاوی ترکیبات فلاونوئیدها، ترپن‌ها و روغن‌های فرار است که دارای خواص ضدقارچی هستند (۱۲). فزون‌بر این، شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) نیز حاوی ترکیبات ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و اسیدهای فنولیک است و به همین دلیل خواص ضدقارچی دارد (۱۳). بنابراین، هدف اصلی پژوهش حاضر، بررسی اثربخشی عصاره‌های آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب با هم در مهارت رشد پلانکتونی و ریشه‌های *کاندیدا آلبیکانس* است. همچنین، هدف مولکولی احتمالی اثربخشی عصاره‌های آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب باهم در *کاندیدا آلبیکانس* از طریق تجزیه و تحلیل میزان بیان ژن *SAP1* مورد سنجش قرار گرفته است.

روش کار

عوامل ضدقارچی

تهیه عصاره‌های گیاهی آبی و الکلی: گیاهان آویشن معمولی و شنبلیله از استان کهگیلویه و بویراحمد در فصل بهار جمع‌آوری و توسط مرکز تحقیقات دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج با کدهای هرباریومی ZA024627 و FH187016 تأیید شدند. پس از تمیز کردن و شستشو، اندام‌های برگ و ساقه در شرایط سایه خشک و سپس آسیاب شدند. عصاره‌گیری به روش خیساندن با آب مقطر یا متانول و نیز با استفاده از آب داغ (۶۰ درجه سلسیوس) و استخراج سوکسله با متانول ۱۰٪ انجام شد. عصاره‌های تهیه شده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده شده و با میلی‌پور فیلتر ۰/۲۲ میکرومتری (Durapore, Millipore) استریل شدند (۱۴). فلوکونازول از شرکت سیگما-آلدریج (Sigma-Aldrich)

روش میکروداپلوشن برات: *کاندیدا آلبیکانس* در فاز رشد لگاریتمی رقیق شده و در رقت نهایی دارای $10^3 \times 2/5 - 0/5$ سلول مخمر/ میلی‌لیتر در محیط کشت استریل RPMI-1640 حاوی ۲٪ گلوکز و اسید آمینه‌ال-گلوتامین و حاوی فنل رد، فاقد بی‌کربنات سدیم (Sigma-Aldrich)، مطابق با دستورالعمل‌های مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI, M27-A3; M27-S4) آماده شد (۱۵، ۱۶). دامنه رقت عصاره‌های مورد مطالعه ۱۰۰-۰/۴۹ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر و فلوکونازول ۶۴-۰/۳۱ میکروگرم/ میلی‌لیتر بود. حداقل رقت مهارتی (MIC) عصاره‌ها در میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی (SPL Life Sciences Co., Ltd., Pocheon-si, Korea) تعیین شد. صد میکرولیتر از هر عصاره در محیط کشت RPMI-1640 را به ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی در چاهک میکروپلیت اضافه شد. انکوباسیون میکروپلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه

بیومس مدل ریسسه کاندیدا/آلبیکانس ایجاد شده با رنگ آمیزی کریستال ویولت سنجش شد. بطور خلاصه چاهک‌های میکروپلیت با سرم فیزیولوژی شستشو داده و با متانول ۹۹ درصد به مدت ۱۵ دقیقه فیکس شد. با محلول کریستال ویولت در دمای محیط به مدت ۲۰ دقیقه رنگ آمیزی شد. میزان جذب نوری در طول موج ۵۴۵ نانومتر در میکروپلیت ریدر اندازه‌گیری شد. کنترل مثبت از سوسپانسیون قارچی بدون هیچ عامل ضدقارچی و کنترل منفی از محیط کشت بدون قارچ استفاده شد (۱۸).

۱۹. درصد ریسسه کاندیدا/آلبیکانس مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\% \text{ Hyphae} = (\text{OD}_{545} \text{ of treated cells} / \text{OD}_{545} \text{ of untreated cells}) * 100$$

افزون بر این، برای بررسی تاثیر عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله در تغییر مورفولوژی، مدل ریسسه کاندیدا/آلبیکانس در پلیت‌های ۹۶ چاهکی که در کف آن‌ها کاور اسلیپ استریل قرار داده شده، ایجاد شد. هر چاهک دو بار با سرم فیزیولوژی استریل برای حذف سلول‌های غیرمتصل شسته شد. تصویربرداری مورفولوژی سلولی کاندیدا/آلبیکانس با میکروسکوپ نوری (Nikon, Japan) در بزرگنمایی ۴۰× انجام شد (۲۰).

تجزیه و تحلیل بیان ژن SAPI در مدل ریسسه کاندیدا

آلبیکانس

RNA کل از مدل ریسسه سویه مرجع مقاوم به فلوکونازول کاندیدا/آلبیکانس PTCC 5027 تیمار شده با عصاره‌های الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب در رقت‌های معادل $1 \times \text{MIC}$ ، $2 \times \text{MIC}$ ، $1/2 \times \text{MIC}$ و $1/4 \times \text{MIC}$ با استفاده از کیت استخراج RNA Irazol (سلول‌های مخمری، RNA Biotechnology Company, Isfahan, Iran) استخراج شد. رقت و خلوص RNA توسط الکتروفورز ژل آگارز و اسپکتروفتومتری UV تأیید شد. با استفاده از کیت رونویسی معکوس (RNA Biotechnology Company)، RNA کل معکوس و به cDNA رونویسی شد. ژن SAPI از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمرز رونویسی معکوس کمی qRT-PCR با استفاده از پرایمر طراحی شده توسط Primer-BLAST و یا برگرفته شده از مقالات (۲۰) از cDNA سنتز شده تکثیر شد و با استفاده از ACT به عنوان ژن مرجع نرمال شد. دو کنترل داخلی بدون ترانس کریپتاز معکوس M-MuLV و بدون الگو در هر نمونه گنجانده شد تا اطمینان حاصل شود که محصولات PCR از cDNA منشأ گرفته‌اند و نه از DNA ژنومی. qRT-PCR با رنگ SYBR Green I (Biofact Co., South Korea) Biosystems StepOne Real-Time PCR سیستم (Darmstadt, Germany) ارزیابی شد. برنامه PCR به شرح زیر بود: ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ سیکل ۹۵

سلسیوس به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت انجام شد. کنترل مثبت، کاندیدا/آلبیکانس بدون هیچ عامل ضدقارچی و کنترل منفی، چاهک‌های حاوی محیط کشت بدون قارچ در نظر گرفته شد. علاوه بر این، آب مقطر یا متانول به‌عنوان کنترل کیفی عصاره‌ها نیز استفاده شد. برای تعیین حداقل MIC، میزان جذب نوری در میکروپلیت ریدر (DA3200, DANA Co., Iran) در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. کمترین رقتی از عصاره‌ها که از ۵۰ و ۹۰ درصد رشد در مقایسه با کنترل ممانعت کند، به‌عنوان MIC تعریف شد. نتایج MIC فلوکونازول با استفاده از نرم‌افزار WHONET 7.12 بر اساس معیارهای CLSI تفسیر شدند.

آزمون میکرودا یلوشن چکربورد

برای ارزیابی اثر هم‌افزایی عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله، از روش میکرودا یلوشن چکربورد استفاده شد. صد میکرولیتر از رقت‌های دو برابری عصاره‌های آویشن معمولی و شنبلیله (به‌صورت ترکیب دو گانه) به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای حاوی $10^2 \times 10^3$ سلول مخمر/میلی‌لیتر اضافه شد. حداقل رقت مهار (MIC₅₀ و MIC₉₀) برای هر عصاره (به‌تنهایی و در ترکیب دوگانه) پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۵ درجه سلسیوس تعیین شد. اثرات ترکیبی عصاره‌ها با محاسبه شاخص رقت مهار کسری (ΣFIC) مطابق فرمول زیر ارزیابی شد.

$$\Sigma \text{FIC} = [(\text{MIC of drug A in combination} / \text{MIC of drug A alone})] + [(\text{MIC of drug B in combination} / \text{MIC of drug B alone})]$$

مجموع شاخص‌های FIC به‌صورت زیر تفسیر شد: $\Sigma \text{FIC} \leq 0.5$ اثر هم‌افزایی، $0.5 < \Sigma \text{FIC} < 1$ اثر هم‌افزایی جزئی، $\Sigma \text{FIC} = 1$ اثر افزایشی، $1 < \Sigma \text{FIC} < 4$ اثر خنثی، $\Sigma \text{FIC} \geq 4$ اثر آنتاگونیستی (۱۷).

تشکیل مدل ریسسه کاندیدا/آلبیکانس

مدل ریسسه کاندیدا/آلبیکانس بر اساس تراکم تلقیح توصیه شده توسط Khodavandi و همکاران، برای سویه مرجع مقاوم به فلوکونازول کاندیدا/آلبیکانس PTCC 5027 ایجاد شد (۱۸). صد میکرولیتر سو سیپاسیون قارچی ($10^6 \times 10^5$ سلول مخمری/میلی‌لیتر) در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۲٪ گلوکز و اسید آمینه‌ال-گلوتامین و حاوی فنل رد، فاقد بی‌کربنات سدیم در میکروپلیت ۹۶ چاهکی اضافه شد. صد میکرولیتر عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب در رقت‌های معادل $1 \times \text{MIC}$ ، $2 \times \text{MIC}$ ، $1/2 \times \text{MIC}$ و $1/4 \times \text{MIC}$ در چاهک‌های میکروپلیت اضافه شد. انکوباسیون اولیه در ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ دقیقه، بدون هم‌زدن انجام شد. انکوباسیون ثانویه در ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۶ ساعت و هم‌زدن ۱۵۰ RPM در انکوباتور شیکردار انجام شد.

حسابیت ریسسه کاندیدا/آلبیکانس به عصاره‌های آبی و الکلی

آویشن معمولی و شنبلیله

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده

| منبع | اندازه محصول (pb) | توالی پرایمر | ژن |
|------------------------|-------------------|---|------|
| MK546432.1 مطالعه حاضر | ۱۱۴ | F: 5' ACTGTTGGTTTTGGTGGTGC3' R: 5' ACCAGCAGCCTCATTGGTTT3' | SAPI |
| (۲۰) | ۱۷۵ | F: 5' ATGTTCCAGCTTCTACGTTTCCA 3' R: 5' GTCAAGTCTCTACCAGCCAAATCA 3' | ACT |

روش میکروداپلو شن برات: نتایج حساسیت ضدقارچی برای جدایه‌های بالینی *کاندیدا آلبیکانس* در جدول ۳ ارائه شده است. ضریب کاپا نشان داد که بین نتایج به دست آمده از هر دو روش حساسیت‌سنجی دیسک دیفیوژن و میکروداپلو شن برات همخوانی زیادی وجود داشت. میزان مقاومت جدایه‌های بالینی *کاندیدا آلبیکانس* به فلوکونازول ۹۰٪ بود. نتایج تحلیل واریانس نشان داد که میانگین MIC عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله علیه *کاندیدا آلبیکانس*، به تفکیک نوع عصاره با یکدیگر تفاوت آماری معناداری داشتند ($P < 0/0001$). مقایسه میانگین حداقل رقت مهاری عصاره‌های مورد مطالعه علیه *کاندیدا آلبیکانس* نشان داد که عصاره‌های الکلی موثرتر از عصاره‌های آبی گیاهان مورد مطالعه بودند ($P < 0/0001$). دامنه MIC₅₀ و MIC₉₀ عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی به ترتیب ۶/۲۵-۲۵/۰۰، ۵۰/۱۲-۰۰/۵، ۵۰/۱۲۵-۵۰/۱۲۵ و ۱۲/۳-۲۵/۰۰-۶/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. دامنه MIC₅₀ و MIC₉₀ عصاره‌های آبی و الکلی شنبلیله به ترتیب ۱۲/۵۰-۱۲/۵۰، ۲۵/۰۰-۱۲/۵، ۵۰/۰۰-۱۲/۵ و ۱۲/۵۰-۲۵/۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

آزمون میکروداپلو شن چکربورد

نتایج آزمون میکروداپلو شن چکربورد نشان داد که ترکیب عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله علیه *کاندیدا آلبیکانس* اثرات هم‌افزایی، هم‌افزایی جزئی و افزایشی داشتند. بر اساس MIC₉₀، عصاره‌های آبی آویشن معمولی و شنبلیله در ترکیب، دارای اثرات هم‌افزایی جزئی (۱۰/۴) و افزایشی (۱۰/۶) علیه *کاندیدا آلبیکانس* داشتند. در حالی که، عصاره‌های الکلی آویشن معمولی و شنبلیله در ترکیب اثرات هم‌افزایی (۱۰/۳)، هم‌افزایی جزئی (۱۰/۳) و افزایشی (۱۰/۴) نشان دادند. میانگین MIC عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب علیه *کاندیدا آلبیکانس* تفاوت آماری معناداری داشتند ($P < 0/0001$). بیشترین تأثیر عصاره‌های مورد مطالعه علیه *کاندیدا آلبیکانس* مربوط به عصاره‌های الکلی آویشن معمولی و شنبلیله در ترکیب و کمترین تأثیر ضدقارچی مربوط به عصاره آبی شنبلیله به تنهایی مشاهده شد.

حساسیت ریسه *کاندیدا آلبیکانس* به عصاره‌های آبی و الکلی

آویشن معمولی و شنبلیله

نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب بر مدل ریسه *کاندیدا آلبیکانس* PTCC 5027 به روش سنجش کریستال ویولت نشان دهنده تفاوت آماری معناداری بود ($P < 0/0001$). کاهش درصد ریسه وابسته به دوز عصاره‌های مورد استفاده بود (شکل ۱). ترکیب عصاره الکلی آویشن معمولی و شنبلیله علیه *کاندیدا آلبیکانس* بیشترین کاهش در تولید ریسه نشان داد. در صد ریسه در مقایسه با گروه کنترل بدون تیمار، در رقت‌های معادل MIC₁ × 2، MIC_{1/2} × 1 و MIC_{1/4} × 1 به ترتیب ۲/۲۷، ۲/۲۲، ۲/۱۵ و ۲/۱۱ برابر کاهش یافت ($P < 0/0001$). این در حالی بود که درصد تولید ریسه در *کاندیدا آلبیکانس* PTCC 5027 تیمار شده با رقت‌های معادل MIC₁ × 2، MIC_{1/2} × 1، MIC_{1/4} × 1 عصاره آبی شنبلیله در مقایسه با گروه کنترل بدون تیمار، به ترتیب ۱/۷۶، ۱/۷۱، ۱/۶۹ و ۱/۶۴ برابر کاهش یافت ($P < 0/0001$).

سلسیوس به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ ثانیه، تجزیه و تحلیل دمای ذوب از ۶۵ تا ۹۵ درجه سلسیوس که در هر ۵ ثانیه ۰/۵ درجه افزایش یافت. میزان تغییرات بیان ژن *SAPI* با استفاده از ژن کنترل داخلی *ACT* و با استفاده از روش double-delta CT محاسبه شد (۲۰) (جدول ۱).

تحلیل آماری

نرمال بودن داده‌ها با آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. برای مقایسه میانگین‌ها از تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند. سطح معناداری، $P < 0/05$ در نظر گرفته شده است. تمامی آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار انجام شد. برای مقایسه میانگین دو گروه از آزمون *t* استیودنت استفاده شد. ضریب کاپای کوهن برای ارزیابی توافق بین دو روش حساسیت‌سنجی قارچ‌ها بکار گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism (نسخه ۱۰) انجام شد.

پژوهش حاضر بر اساس اصول اخلاقی پژوهش انجام شده است. این پژوهش دارای نامه تأییدیه اخلاق از دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج، به شماره IR.IAU.YASOOJ.REC.1397.012 می‌باشد.

یافته‌ها

حساسیت سلول‌های پلانکتونی *کاندیدا آلبیکانس* به عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله

روش دیسک دیفیوژن: نتایج تحلیل واریانس نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد تحت تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان مختلف به روش دیسک دیفیوژن با یکدیگر تفاوت آماری معناداری داشتند ($P < 0/0001$). بیشترین میانگین قطر هاله عدم رشد مربوط به تیمار ترکیبی آویشن و شنبلیله بود. همچنین، میانگین قطر هاله عدم رشد در تیمار آویشن به تنهایی بیشتر از تیمار شنبلیله به تنهایی بود. آزمون *t* استیودنت نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد تیمار عصاره‌های آبی و الکلی، به تفکیک نوع گیاه با یکدیگر تفاوت آماری معناداری داشتند ($P < 0/0001$). میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره‌های الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب بیشتر از عصاره‌های آبی تیمارها بود. نتایج نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد تیمار عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب به تفکیک حجم عصاره‌های مختلف با یکدیگر تفاوت آماری معناداری داشتند ($P < 0/0001$). بیشترین تأثیر عصاره‌های مورد بررسی علیه *کاندیدا آلبیکانس* مربوط به حجم ۸۰ میکرولیتر عصاره‌های الکلی ترکیبی آویشن معمولی و شنبلیله، (میانگین قطر هاله عدم رشد ۰/۲۵ ± ۱۴/۶۲ میلی‌متر) و کمترین تأثیر مربوط به حجم ۲۰ میکرولیتر عصاره آبی شنبلیله به تنهایی (میانگین قطر هاله عدم رشد ۶/۴۸ ± ۰/۰۳ میلی‌متر) مشاهده شد. همچنین، نتایج تحلیل واریانس نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد تحت تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب، به تفکیک جدایه‌های مختلف با یکدیگر تفاوت آماری معناداری داشتند ($P < 0/0001$). نتایج WHONET نشان داد که نرخ مقاومت جدایه‌های بالینی *کاندیدا آلبیکانس* به فلوکونازول ۹۰٪ (۹ از ۱۰ جدایه) بود (جدول ۲).

جدول ۳. نتایج MIC (میکروگرم/ میلی‌لیتر) و \sum FIC سلول‌های پلانکتونی کاندیدا/آلبیکانوس تیمار شده با عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب به روش میکرودايلوشن برات

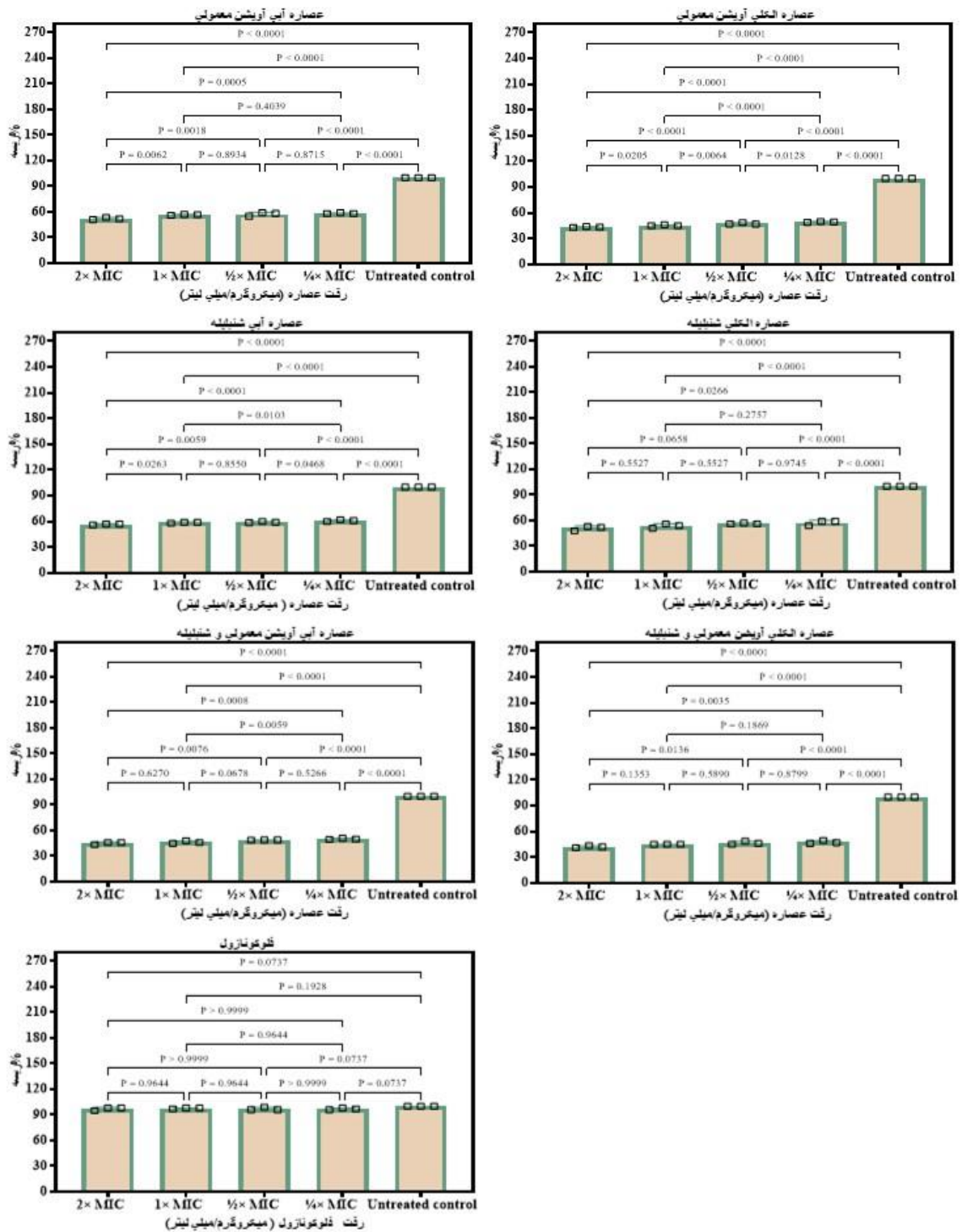
| عصاره‌ها/ جدایه‌ها | کاندیدا | | جدایه ۱ | جدایه ۲ | جدایه ۳ | جدایه ۴ | جدایه ۵ | جدایه ۶ | جدایه ۷ | جدایه ۸ | جدایه ۹ | جدایه ۱۰ |
|------------------------|------------------------|-----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|
| | آلبیکانوس PTCC 5027 | آلبیکانوس CBS 5982 | | | | | | | | | | |
| آویشن | MIC90 | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۱۲/۵۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ |
| | MIC50 | ۱۲/۵۰ | ۳/۱۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۱۲/۵۰ | ۶/۲۵ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۱۲/۵۰ |
| معمولی | MIC90 | ۱۲/۵۰ | ۳/۱۲۵ | ۱۲/۵۰ | ۶/۲۵ | ۱۲/۵۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۱۲/۵۰ | ۲۵/۰۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ |
| | MIC50 | ۶/۲۵ | ۱/۵۶ | ۶/۲۵ | ۳/۱۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۱۲/۵۰ | ۳/۱۲۵ | ۱۲/۵۰ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ |
| شنبلیله | MIC90 | ۵۰/۰۰ | ۱۲/۵۰ | ۵۰/۰۰ | ۱۲/۵۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۵۰/۰۰ | ۵۰/۰۰ |
| | MIC50 | ۲۵/۰۰ | ۳/۱۲۵ | ۱۲/۵۰ | ۶/۲۵ | ۱۲/۵۰ | ۲۵/۰۰ | ۲۵/۰۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۲۵ | ۱۲/۵۰ |
| آویشن معمولی و شنبلیله | MIC90 | ۱۲/۵۰ | ۶/۲۵ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ |
| | MIC50 | ۶/۲۵ | ۳/۱۲۵ | ۶/۲۵ | ۳/۱۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ |
| عصاره آبی | MIC90 | ۱۲/۵۰ | ۶/۲۵ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۱۲/۵۰ | ۲۵/۰۰ | ۱۲/۵۰ |
| | MIC50 | ۶/۲۵ | ۱/۵۶ | ۳/۱۲۵ | ۳/۱۲۵ | ۳/۱۲۵ | ۶/۲۵ | ۳/۱۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ***۰/۷۵ | ***۰/۷۵ |
| عصاره الکلی | MIC90 | ۶/۲۵ | ۱/۵۶ | ۶/۲۵ | ۳/۱۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۶/۲۵ | ۱/۲۵ | ۶/۲۵ |
| | MIC50 | ۳/۱۲۵ | ۰/۷۶ | ۳/۱۲۵ | ۱/۵۶ | ۳/۱۲۵ | ۱/۵۶ | ۱/۵۶ | ۱/۵۶ | ۱/۵۶ | ***۰/۷۵ | ***۰/۷۵ |
| فلوکونازول | MIC90 | ۱۶ | ۰/۲۵ | ۴ | ۱۶ | ۱۶ | ۱۶ | ۱۶ | ۱۶ | ۱۶ | ۳۲ | ۳۲ |
| | MIC50 | ۲ | ۰/۰۶۲۵ | ۰/۲۵ | ۲ | ۲ | ۴ | ۱ | ۴ | ۲ | ۲ | ۲ |

MIC: حداقل رقت مهار؛ FIC: رقت مهار کسری

*: اثر هم‌افزایی $\sum FIC \leq 0.5$

** : $0.5 < \sum FIC < 1$ اثر هم‌افزایی جزئی

***: $\sum FIC = 1$ اثر افزایشی

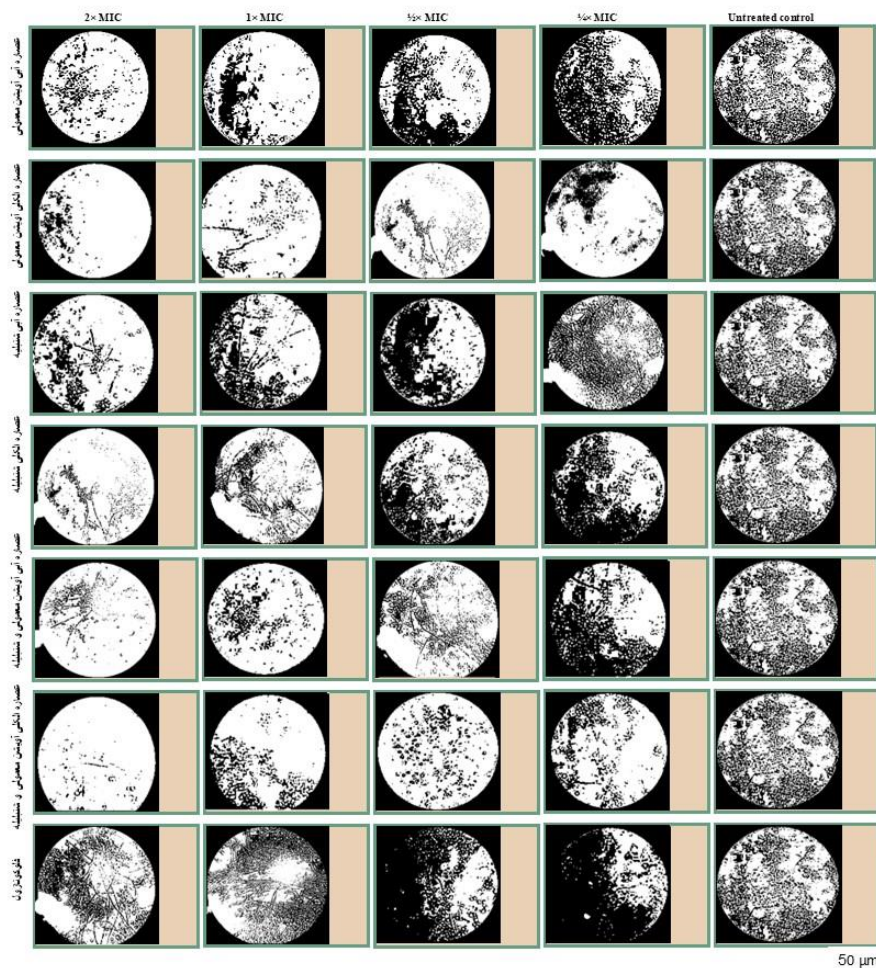


شکل ۱. اثر ضد ریشه عصاره‌های آبی و الکی آویشن معمولی و سنبله به‌تنهایی و در ترکیب در رقت‌های معادل 2x MIC، 1x MIC، 1/2x MIC و 1/4x MIC علیه کاندیدا آلبیکانس PTCC 5027 با استفاده از روش کریستال ویولت. آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند و نمودارها بر اساس میانگین و انحراف معیار داده‌ها رسم شدند.

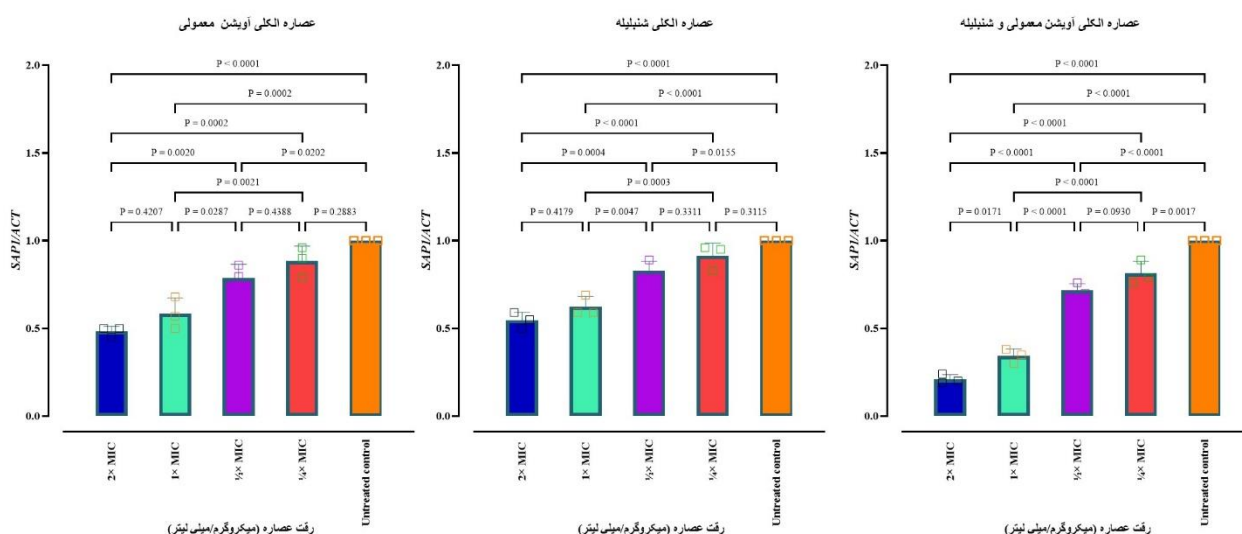
شکل ۲ نتایج حاصل از مشاهدات میکروسکوپی تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب در رقت‌های معادل $2 \times MIC$ ، $1 \times MIC$ ، $1/2 \times MIC$ و $1/4 \times MIC$ عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب، به‌طور معناداری متفاوت بود ($P < 0.0001$). بیان *SAPI* در مدل ریشه کاندیدا *آلبیکاناس* PTCC 5027 تیمار شده با رقت‌های $2 \times MIC$ ، $1 \times MIC$ ، $1/2 \times MIC$ و $1/4 \times MIC$ عصاره الکلی آویشن معمولی و شنبلیله در ترکیب، در مقایسه با گروه کنترل بدون تیمار، به ترتیب $4/16$ ، $2/91$ ، $1/39$ و $1/23$ برابر کاهش معناداری داشت ($P < 0.01$ ، $P < 0.05$ ، $P < 0.0001$). در حالی که بیان *SAPI* در عصاره الکلی آویشن، به ترتیب $1/71$ ، $1/27$ و $1/13$ برابر به ترتیب در رقت‌های $2 \times MIC$ ، $1 \times MIC$ و $1/2 \times MIC$ و $1/4 \times MIC$ کاهش یافت ($P < 0.01$ ، $P < 0.05$ ، $P < 0.0001$). همچنین، بیان ژن *SAPI* در رقت‌های $2 \times MIC$ ، $1 \times MIC$ و $1/2 \times MIC$ عصاره الکلی شنبلیله به ترتیب $1/83$ ، $1/60$ و $1/21$ برابر کاهش یافت ($P < 0.01$ ، $P < 0.05$ ، $P < 0.0001$). محصولات PCR با روش توالی‌یابی DNA تایید شدند. ($P < 0.0001$). مشابه توالی با استفاده از نرم‌افزار BLAST نوکلئوتید در پایگاه داده بانک ژنی NCBI تایید شد.

شکل ۲ نتایج حاصل از مشاهدات میکروسکوپی تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب در رقت‌های معادل $2 \times MIC$ ، $1 \times MIC$ ، $1/2 \times MIC$ و $1/4 \times MIC$ علیه ریشه کاندیدا *آلبیکاناس* PTCC 5027 را نمایش داده است. نتایج حاصل از مشاهدات میکروسکوپی نشان‌دهنده کاهش قابل ملاحظه تعداد سلول‌های پلانکتونی و کاهش تبدیل سلول‌های پلانکتونی به ریشه بود. هر چه رقت عصاره‌های مورد استفاده بیشتر شود، تعداد سلول‌ها کمتر شده، در حالی که در کنترل بدون تیمار تغییری مشاهده نشد و ریشه رشد کرده متشکل از چندین لایه فشرده از سلول‌های پلانکتونی و ریشه بود. همچنین، کاندیدا *آلبیکاناس* PTCC 5027 مقاوم به فلوکونازول بوده و تیمار مدل ریشه با فلوکونازول تغییری در شکل مرفولوژی ایجاد نکرد.

به طور تجربی نشان داده شد که عصاره‌های الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب، احتمالاً با کاهش بیان ژن مرتبط با تولید ریشه، بر تشکیل ریشه در کاندیدا *آلبیکاناس* PTCC 5027 تأثیر می‌گذارد (شکل ۳). بیان ژن *SAPI* (ژن مرتبط با ریشه) در مدل ریشه کاندیدا *آلبیکاناس* PTCC 5027 تیمار شده با رقت‌های مختلف



شکل ۲. مورفولوژی مدل ریشه کاندیدا *آلبیکاناس* PTCC 5027 تیمار شده با عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به تنهایی و در ترکیب در رقت‌های معادل $2 \times MIC$ ، $1 \times MIC$ ، $1/2 \times MIC$ و $1/4 \times MIC$ بزرگمایی $40 \times$. MIC: حداقل رقت مهاری.



شکل ۳. میزان بیان ژن SAPI1 در مدل ریشه کاندیدا، آلبیکانس PTCC 5027 پس از تیمار با عصاره‌های الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب در رقت‌های 1x MIC، 2x MIC، 1/2x MIC و 1/4x MIC، با استفاده از روش Real-Time PCR. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار سه تکرار نشان داده شده‌اند. MIC: حداقل رقت مهاری.

تأثیر آماری معناداری داشتند. آزمون میکروداپلوشن چکربرد تأثیر هم‌افزایی و هم‌افزایی جزئی عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله در ترکیب باهم را تأیید کرد. مکانیسم‌های سلولی و مولکولی خواص ضدقارچی ترکیبات شیمیایی طبیعی گیاه‌های شامل آسیب دیواره سلولی و غشای سلولی، مهار پمپ‌های خروج غشای سلولی، القای اختلال عملکرد میتوکندری، و مهار عوامل بیماری‌زایی است (۳۰، ۳۱). خواص ضد میکروبی آویشن به دلیل ترکیبات شیمیایی طبیعی اوزنول، تیمول و کارواکرول است (۳۲). همچنین، سایونین‌ها و الکل‌ئیدها، موجود در شنبلیله، نفوذپذیری غشای سلولی را تغییر می‌دهند و به‌طور بالقوه منجر به لیز سلولی و آزاد شدن محتویات درون سلولی می‌شوند. فزون‌بر این، شنبلیله دارای پپتید ضدقارچی شبه دفنسین است که مهار مؤثر رشد قارچ‌ها را به دنبال دارد (۳۳). ترکیب عصاره‌های مختلف گیاهان می‌تواند اثربخشی بهبود یافته، طیف وسیع‌تر عمل و کاهش مدت درمان را به همراه داشته باشد که منجر به غلبه بر مقاومت دارویی می‌شود. از طرفی میکروارگانیسم‌ها نمی‌توانند به راحتی در برابر ترکیبات ضد میکروبی گیاهی مقاومت کسب کنند (۲۷، ۳۴، ۳۵).

عصاره الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب علیه مدل ریشه کاندیدا، آلبیکانس PTCC 5027 تأثیر آماری معناداری داشت، با این حال، نتایج حاصل از سنجش کریستال ویولت و مشاهدات میکروسکوپی مرفولوژی تأثیر مهار ریشه در ترکیب آویشن معمولی و شنبلیله چشمگیرتر نشان داد. فزون‌بر این، کاهش قابل توجهی در بیان ژن مرتبط با ریشه در ترکیب عصاره الکلی آویشن معمولی و شنبلیله مشاهده شد.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر بیانگر کاهش بیان ژن SAPI1 در کاندیدا آلبیکانس تیمار شده با عصاره الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب بود. ترکیب عصاره الکلی آویشن معمولی و شنبلیله تأثیر قابل ملاحظه‌تری در مقایسه با تیمار تکی عصاره‌ها در مهار ریشه کاندیدا آلبیکانس نشان داد. یک توضیح منطقی برای اثربخشی بیشتر در ترکیب عصاره الکلی آویشن معمولی و شنبلیله می‌تواند آسیب بیشتر به ساختار ریشه در مقایسه با عصاره الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی باشد.

بحث

در این مطالعه، تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب بر مهار رشد سلول‌های پلانکتونی و تشکیل ریشه کاندیدا آلبیکانس بررسی شد. مطالعات پیشین تأثیر ضدکاندیدیایی و ضد ریشه‌ای آویشن معمولی و شنبلیله را به‌تنهایی (۲۱-۲۵) و در ترکیب با سایر عصاره‌های گیاهی مانند نعناع، زنجبیل، چریش، کاسنی معمولی و یا فلوکونازول (۲۱، ۲۶، ۲۷) نشان داده‌اند. با این حال ترکیب دو گانه آویشن معمولی و شنبلیله علیه کاندیدا آلبیکانس تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است.

در این پژوهش، اثربخشی عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب در مدل ریشه کاندیدا آلبیکانس بررسی شد و نتایج نشان داد که ترکیب این دو عصاره در مهار رشد سلول‌های پلانکتونی و تشکیل ریشه کاندیدا آلبیکانس موثرتر از استفاده جداگانه آن‌هاست. همچنین، ژن SAPI1 می‌تواند به‌عنوان یک ژن هدف در اثر هم‌افزایی عصاره الکلی آویشن معمولی و شنبلیله علیه ریشه کاندیدا آلبیکانس معرفی کرد.

نتایج حاصل از روش‌های دیسک دیفیوژن و میکروداپلوشن براث نشان داد که ۹۰٪ سلول‌های پلانکتونی جدایه‌های کاندیدا آلبیکانس مقاومت قابل توجهی در برابر فلوکونازول نشان دادند. مکانیسم‌های سلولی و مولکولی احتمالی مقاومت به آزول‌ها در کاندیدا آلبیکانس شامل القاء پمپ‌های خروج غشای سلولی، تغییر آیزیم هدف کدگذاری شده توسط ژن ERG و جایگزینی ارگوسترول با استرول دیگری است (۲۸، ۲۹). از دست دادن هتروزیگوسیتی و آنوپلوئیدی، تریزومی در کروموزوم‌ها، توانایی تولید ریشه و گسترش بیوفیلم، توسعه واکوئل‌های وزیکولی و تولید سلول‌های پرسیس‌تر با افزایش مقاومت کاندیدا آلبیکانس به فلوکونازول مرتبط است (۲۸).

نتایج حاصل از روش‌های دیسک دیفیوژن و میکروداپلوشن براث و آزمون میکروداپلوشن چکربرد نشان داد که عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب علیه جدایه‌های کاندیدا آلبیکانس

احتمالی ژن *SAPI* برای تأثیر عصاره‌های الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب در مدل ریسه *کاندیدا/آلبیکانس* باشد. دانش گسترده از شناسایی اهداف مولکولی مناسب می‌تواند راهکار مفیدی در توسعه درمان جدید واقع شود. مطالعات مدل حیوانی و بالینی برای ارزیابی پتانسیل درمانی و همچنین، مسائل مربوط به سمیت و ایمنی عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب برای درمان عفونت‌های مرتبط با تولید ریسه و گسترش بیوفیلم *کاندیدا/آلبیکانس* مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مسؤلین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

سهم نویسندگان

همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بوده‌اند و تمامی نویسندگان با تأیید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله حاضر هیچگونه تعارض منافی نداشته‌اند.

Essid و همکاران، مشاهده کردند که اسانس دارچین و ثومون (گونه‌ای از آویشن) و ترکیب آن‌ها با آمفوتریسین B رشد سلول‌های پلانکتونی و بیوفیلم *کاندیدا/آلبیکانس* را مهار کرد (۳۶). همچنین این اسانس دارچین و ثومون و ترکیب آنها با آمفوتریسین B به‌طور قابل توجهی بیان ژن‌های عامل بیماری‌زایی اتصال و اسپارتیل پروتئیناز ترشحی را مهار کردند. کاهش بیان ژن‌های اسپارتیل پروتئیناز ترشحی از جمله *SAP2* و *SAP4-6* در *کاندیدا/آلبیکانس* تیمار شده با اسانس دارچین و ثومون به‌تنهایی و در ترکیب با آمفوتریسین B نشان دادند. ترکیبات حاوی منتول باعث آسیب غشای سلولی اشکال ریسه *کاندیدا/آلبیکانس* می‌شوند و می‌توانند منجر به مهار تولید ریسه و گسترش بیوفیلم شوند. مطالعات نشان داده‌اند که منتول قادر به کاهش سلول‌های پلانکتونی و ریسه *کاندیدا/آلبیکانس* شده و میزان بیان *SAPI* را کاهش دهد (۱۹، ۳۷، ۳۸).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، عصاره‌های آبی و الکلی آویشن معمولی و شنبلیله به‌تنهایی و در ترکیب با هم فعالیت ضدپلانکتونی و ضد ریسه‌ای علیه *کاندیدا/آلبیکانس* نشان دادند. این نتایج نشان داد که عصاره‌های گیاهی می‌توانند برای درمان عفونت‌های ناشی از *کاندیدا*، به ویژه جدایه‌های مقاوم، استفاده شوند. در حال حاضر، عوامل ضدقارچی موجود به‌طور فزاینده‌ای علیه عفونت‌های *کاندیدا/آلبیکانس* بی‌اثر می‌شوند. بنابراین، درمان‌های گیاهی رویکردی قابل استفاده برای درمان این قارچ ارائه می‌دهند. فزون‌بر این، تجزیه و تحلیل بیان ژن *SAPI* می‌تواند تأیید کننده هدف مولکولی

References

- Miranda S, Lassnig C, Schmidhofer K. Lack of TYK2 signaling enhances host resistance to *Candida albicans* skin infection. *Nat Commun*. 2024;15(1):10493. [pmid: 39622833](#) [doi: 10.1038/s41467-024-54888-6](#)
- Du Toit A. Hyphae promote *Candida albicans* fitness and commensalism in the gut. *Nat Rev Microbiol*. 2024;22(5):258. [pmid: 38472546](#) [doi: 10.1038/s41579-024-01040-2](#)
- Abdulghani M, Zore G. Clinical significance, molecular formation, and natural antibiofilm agents of *Candida albicans*. In: *Advances in Antifungal Drug Development: Natural Products with Antifungal Potential*. Singapore: Springer Nature Singapore; 2024. P. 251-91.
- Bu QR, Bao MY, Yang Y, Wang TM, Wang CZ. Targeting virulence factors of *Candida albicans* with natural products. *Foods*. 2022;11(19):2951. [pmid: 36230026](#) [doi: 10.3390/foods11192951](#)
- Bras G, Satala D, Juszczak M, Kulig K, Wronowska E, Bednarek A, et al. Secreted aspartic proteinases: key factors in *Candida* infections and host-pathogen interactions. *Int J Mol Sci*. 2024;25(9):4775. [pmid: 38731993](#) [doi: 10.3390/ijms25094775](#)
- Katsipoulaki M, Stappers MHT, Malavia-Jones D, Brunke S, Hube B, Gow NAR. *Candida albicans* and *Candida glabrata*: global priority pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2024;88(2):e0002123. [pmid: 38832801](#) [doi: 10.1128/membr.00021-23](#)
- Varshan GA, Namasiyayam SKR. A critical review on sustainable formulation of anti-quorum sensing compounds using nanotechnology principles against *Candida albicans*. *BioNanoSci*. 2025;15(1):161. [doi: 10.1007/s12668-024-01685-6](#)
- Barbosa PF, Gonçalves DS, Ramos LS, Mello TP, Braga-Silva LA, R Pinto M, et al. Saps1-3 antigens in *Candida albicans*: differential modulation following exposure to soluble proteins, mammalian cells, and infection in mice. *Infect Dis Rep*. 2024;16(4):572-86. [pmid: 39051243](#) [doi: 10.3390/idr16040043](#)
- Silva NC, Nery JM, Dias AL. Aspartic proteinases of *Candida* spp.: role in pathogenicity and antifungal resistance. *Mycoses*. 2014;57(1):1-11. [pmid: 23735296](#) [doi: 10.1111/myc.12095](#)
- Khodavandi A, Alizadeh F, Khezrian F. Inhibition of *Candida albicans* yeast-hyphal transition by combination of fluconazole with amphotericin B. *Physiol Pharmacol*. 2018;22(3):195-204.
- Hosseini SS, Yadegari MH, Rajabibazl M, Ghaemi EA. Inhibitory effects of carvacrol on the expression of secreted aspartyl proteinases 1-3 in fluconazole-resistant *Candida albicans* isolates. *Iran J Microbiol*. 2016;8(6):401-9. [pmid: 28491252](#)
- Wirtu SF, Ramaswamy K, Maitra R, Chopra S, Mishra AK, Jule LT. Isolation, characterization and antimicrobial activity study of *Thymus vulgaris*. *Sci Rep*. 2024;14(1):21573. [pmid: 39284874](#) [doi: 10.1038/s41598-024-71012-2](#)
- Katnoria H, Kaushal S, Hunjan MS, Kaur V, Sharma P, Jangra R. Chemical characterization and antifungal potential of *Trigonella foenum-graecum* L. followed by molecular docking studies. *J Essent Oil Bear Pl*. 2024;27(1):57-72. [doi: 10.1080/0972060X.2024.2302110](#)
- Khodavandi A, Alizadeh F, Hakimizadeh S. Inhibitory effect of aqueous and ethanolic extracts of chavill leaf and stem on aspartyl proteinase secreted from *Candida albicans* [in Persian]. *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2018;9(4):91-9. [doi: 10.29252/nkjmd-090413](#)

15. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A3, third ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008; Wayne, PA, USA.
16. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; fourth informational supplement, M27-S4. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012; Wayne, PA, USA.
17. Khodavandi A, Alizadeh F, Marashi N. Antibiofilm Activity of fluconazole/terbinafine combination in *Candida albicans* *HWP1* gene expression [in Persian]. *J Arak Uni Med Sci*. 2018;20(11):22-33.
18. Khodavandi A, Harmal NS, Alizadeh F, Scully OJ, Sidik SM, Othman F, et al. Comparison between allicin and fluconazole in *Candida albicans* biofilm inhibition and in suppression of *HWP1* gene expression. *Phytomedicine*. 2011;19(1):56-63. **pmid:** 21924600 **doi:** 10.1016/j.phymed.2011.08.060
19. Norouzi N, Alizadeh F, Khodavandi A, Jahangiri M. Antifungal activity of menthol alone and in combination on growth inhibition and biofilm formation of *Candida albicans*. *J Herb Med*. 2021;29:100495. **doi:** 10.1016/j.hermed.2021.100495
20. Esfahani MB, Khodavandi A, Alizadeh F, Bahador N. Possible molecular targeting of biofilm-associated genes by nano-Ag in *Candida albicans*. *Appl Biochem Biotechnol*. 2024;196(7):4205-33. **pmid:** 37922031 **doi:** 10.1007/s12010-023-04758-6
21. Khodavandi A, Alizadeh F, Abrahe Z. Comparison of *ERG11* gene expression profiles of *Candida albicans* treated with *Thymus vulgaris* extracts alone and in combination with *Mentha spicata* [in Persian]. *J Microbial Biol*. 2018;7(25):87-99. **doi:** 10.22108/bjm.2018.21758
22. Khodavandi A, Alizadeh F, Shahinpor M. Relative quantitation of hyphae-specific gene *HWP1* expression in inhibition of *Candida albicans* biofilm [in Persian]. *J Microb World*. 2016;9(1):22-33.
23. Khan S, Imran M, Imran M, Pindari N. Antimicrobial activity of various ethanolic plant extracts against pathogenic multi drug resistant *Candida* spp. *Bioinformation*. 2017;13(3):67-72. **pmid:** 28584446 **doi:** 10.6026/97320630013067
24. Sadoon Abd H, Al Haidar AHM. Comparison of antifungal activity of thymus vulgaris essential oil and triple antibiotic paste against *Candida albicans* isolated from root canal (in vitro study). *F1000Research*. 2024;13:381.
25. Sindhusa VB, Rajasekar A. Preparation and evaluation of antimicrobial property and anti-inflammatory activity of fenugreek gel against oral microbes: an invitro study. *Cureus*. 2023;15(10):e47659. **pmid:** 38022270 **doi:** 10.7759/cureus.47659
26. Maxwell SY, Gadallah MAEA. Comparison between the anti-*Candida* activity of fenugreek and ginger rhizome extracts and their synergism with fluconazole and nystatin. *Egyptian J Med Microbio*. 2023;32(2): 59-64. **doi:** 10.21608/ejmm.2023.285225
27. Yadav SK, Jain GK, Mazumder A, Khar RK. Antimicrobial activity of a novel polyherbal combination for the treatment of vaginal infection. *J Adv Pharm Technol Res*. 2019;10(4):190-4. **pmid:** 31742120 **doi:** 10.4103/japtr.JAPTR_3_19
28. Sharma K, Parmanu PK, Sharma M. Mechanisms of antifungal resistance and developments in alternative strategies to combat *Candida albicans* infection. *Arch Microbiol*. 2024;206(3):95. **pmid:** 38349529 **doi:** 10.1007/s00203-023-03824-1
29. Zobi C, Algul O. The significance of mono-and dual-effective agents in the development of new antifungal strategies. *Chem Biol Drug Des*. 2025;105(1): e70045. **doi:** 10.1111/cbdd.70045
30. Yue D, Zheng D, Bai Y, Yang L, Yong J, Li Y. Insights into the anti-*Candida albicans* properties of natural phytochemicals: An in vitro and in vivo investigation. *Phytother Res*. 2024;38(5):2518-2538. **pmid:** 38450815 **doi:** 10.1002/ptr.8148
31. Long N, Li F. Antifungal mechanism of natural products derived from plants: a review. *Nat Prod Commun*. 2024;19(8):1934578X241271747. **doi:** 10.1177/1934578X241271747
32. Ben Miri Y. Essential oils: chemical composition and diverse biological activities: a comprehensive review. *Nat Prod Commun*. 2025;20(1):1934578X241311790. **doi:** 10.56027/JOASD282023
33. Sultan S, Zoofeen U, Shah I, Shah Bukhari SM, Sharif N, Shah Bukhari SK, et al. Enhanced inflammatory and oxidative response mitigation by acetyl-L-carnitine in a rat model of pelvic inflammatory disease. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2025. **pmid:** 39912899 **doi:** 10.1007/s00210-025-03858-w
34. Chouhan S, Sharma K, Guleria S. Antimicrobial activity of some essential oils-present status and future perspectives. *Medicines (Basel)*. 2017;4(3):58. **pmid:** 28930272 **doi:** 10.3390/medicines4030058
35. Ivanova S, Gvozdeva Y, Staynova R, et al. Essential oils—a review of the natural evolution of applications and some future perspectives. *Pharmacia*. 2025;72:1-12. **doi:** 10.3897/pharmacia.72.e140059
36. Essid R, Gharbi D, Abid G, Karkouch I, Hamouda TB, Nadia Fares N, et al. Combined effect of *Thymus capitatus* and *Cinnamomum verum* essential oils with conventional drugs against *Candida albicans* biofilm formation and elucidation of the molecular mechanism of action. *Ind Crops Prod*. 2019;140:111720. **doi:** 10.1016/j.indcrop.2019.111720
37. Benzaid C, Belmadani A, Djeribi R, Rouabhia M. The effects of *Mentha × piperita* essential oil on *C. albicans* growth, transition, biofilm formation, and the expression of secreted aspartyl proteinases genes. *Antibiotics (Basel)*. 2019;8(1):10. **pmid:** 30704020 **doi:** 10.3390/antibiotics8010010
38. Shaygan S, Khodavandi A. Inhibitory effect of menthol on expression of aspartyl proteinase 1 in fluconazole-resistant *Candida albicans*. *J Herbmed Pharmacol*. 2019;8(1):35-40. **doi:** 10.15171/jhp.2019.06