



Anti-candida potential of cinnamon extract in animal model

Fahimeh Alizadeh ¹, Maryam Rahimi Foroudi ², Sadegh Barazesh ³, Elham Pishgar ², Alireza Khodavandi ¹

¹ Associate Professor, Department of Biology, Gachsaran Branch, Islamic Azad University, Gachsaran, Iran.

² PhD Student, Department of Microbiology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.

³ MSc, Department of Biology, Gachsaran Branch, Islamic Azad University, Gachsaran, Iran.

Abstract

Background and Objectives: Candidiasis is a common fungal infection caused by *Candida albicans*. The increasing resistance to conventional antifungal drugs has posed significant challenges in treating this condition. Consequently, plant-derived compounds, such as cinnamon, have gained attention as potential alternatives. This study aimed to investigate the antifungal potential of cinnamon extract in an animal model of candidiasis.

Materials and methods: Clinical isolates and the standard strain *C. albicans* PTCC5027 were used. Aqueous and alcoholic extracts of cinnamon were prepared, and their antifungal effects were evaluated through disk diffusion assays, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum fungicidal concentration (MFC). Mice infected with *C. albicans* were treated with varying concentrations of the extracts and fluconazole. Microbial load in feces and kidney tissues was measured.

Results: Cinnamon extract significantly inhibited the growth of *C. albicans* under both *in vitro* and *in vivo* conditions. The MIC₅₀ and MIC₉₀ values for the aqueous extract were determined to be 6.25–6.82 mg/mL and 11.24–12.24 mg/mL, respectively, while those for the alcoholic extract ranged from 6.15–6.90 mg/mL (MIC₅₀) and 11.07–12.42 mg/mL (MIC₉₀). The MFC values for the aqueous and alcoholic extracts were 12.51–13.64 mg/mL and 12.30–13.80 mg/mL, respectively. A significant reduction in colony-forming units (CFU) was observed in the feces and kidneys of mice treated with the extracts and fluconazole.

Conclusion: Cinnamon extract demonstrated notable antifungal potential against *C. albicans* and could serve as a complementary or alternative therapeutic agent for candidiasis.

Key words: Candidiasis, *Candida albicans*, drug resistance, cinnamon extract, Animal model.

Received: 30 August 2024

Revised: 6 October 2024

Accepted: 30 November 2024

Correspondence to: Alireza Khodavandi

Tel: +98 9176570060

E-mail: khodavandi@iaug.ac.ir

Journal of Microbial World 2024, 17 (3): 152 - 164



Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.



پتانسیل ضد کاندیدیایی عصاره دارچین در مدل حیوانی

فهمیه علیزاده^۱، مریم رحیمی فرودی^۲، صادق برازش^۳، الهام پیشگر^۲، علیرضا خداوندی^{*۱}

^۱ دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران. ^۲ دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران. ^۳ کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: کاندیدیازیس یک عفونت قارچی شایع است که توسط مخمر *Candida albicans* ایجاد می‌شود. با افزایش مقاومت به داروهای ضد قارچی، درمان این بیماری با چالش‌های جدی مواجه شده است. بدین ترتیب، امروزه استفاده از ترکیبات گیاهی مانند دارچین به عنوان جایگزین‌های احتمالی مورد توجه قرار گرفته است. این پژوهش با هدف بررسی پتانسیل ضدقارچی عصاره دارچین در مدل حیوانی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه جدایه‌های *Candida albicans* و سویه استاندارد PTCC5027 استفاده شدند. عصاره آبی و الکلی دارچین تهیه و اثرات ضدقارچی آن‌ها با روش دیسک گذاری و تعیین MIC و MFC ارزیابی شد. موش‌های آلوده با غلظت‌های مختلف عصاره و فلوکونازول درمان شدند و بار میکروبی در مدفوع و کلیه آن‌ها اندازه گیری شد.

یافته‌ها: عصاره دارچین رشد *Candida albicans* را در شرایط برون و درون تنی مهار کرد. همچنین، مقادیر MIC50 و MIC90 عصاره آبی دارچین به ترتیب در محدوده ۶/۸۲ - ۶/۲۵ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم و ۱۲/۲۴ - ۱۱/۲۴ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم تعیین شدند، این مقادیر برای عصاره الکلی دارچین به ترتیب در محدوده ۶/۹۰ - ۶/۱۵ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم و ۱۲/۴۲ - ۱۱/۰۷ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم به‌دست آمدند. میزان MFC عصاره‌ها به ترتیب در ۱۳/۶۴ - ۱۲/۵۱ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم و ۱۳/۸۰ - ۱۲/۳۰ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم محاسبه شد. کاهش معنادار CFU در مدفوع و کلیه موش‌های تیمار شده با عصاره و فلوکونازول مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: عصاره دارچین پتانسیل ضدقارچی قابل توجهی در برابر *Candida albicans* نشان داد و می‌تواند به عنوان جایگزین یا مکمل در درمان کاندیدیازیس مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: کاندیدیازیس، *Candida albicans*، مقاومت دارویی، عصاره دارچین، مدل حیوانی.

پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۹/۱۰

ویرایش مقاله: ۱۴۰۳/۷/۱۵

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۶/۹

مقدمه

اخیر به یکی از چالش‌های مهم در حوزه سلامت عمومی تبدیل شده‌اند (۱و۲). این قارچ‌ها به‌طور طبیعی در بدن انسان، به‌ویژه در دستگاه گوارش، پوست و غشاهای مخاطی، وجود دارند و در حالت عادی مشکلی ایجاد نمی‌کنند. با این حال، در شرایط خاصی مانند ضعف سیستم ایمنی، استفاده طولانی مدت

عفونت‌های قارچی ناشی از گونه‌های مختلف قارچ کاندیدا، به‌ویژه *Candida albicans* و *Candida tropicalis*، در سال‌های

(*) آدرس برای مکاتبه: گروه زیست شناسی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران.

پست الکترونیک: khodavandi@iaug.ac.ir

تلفن: ۰۹۱۷۶۵۷۰۰۶۰



از جمله کاندیدا/آلبیکانوس در مطالعات آزمایشگاهی از خود نمایش داده‌اند ارزیابی اثرات این ترکیبات گیاهی در مدل‌های حیوانی (شرایط درون‌تنی) برای تعیین اثربخشی و ایمنی آن‌ها در شرایط واقعی‌تر ضروری است (۱۹). از این رو، با توجه به افزایش مقاومت دارویی در گونه‌های کاندیدا و نیاز به یافتن درمان‌های موثر و کم‌عوارض، در این مطالعه به ارزیابی پتانسیل ضد قارچی عصاره دارچین در مدل حیوانی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

الف) جدایه بالینی کاندیدا/آلبیکانوس: در این مطالعه مقطعی، از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گچساران تعداد ۱۰ جدایه کاندیدا/آلبیکانوس مورد استفاده قرار گرفت. برای تایید، جدایه‌ها بر روی محیط کشت کاندیدا کروم آگار به صورت سه قسمتی کشت و در دمای ۳۲ درجه سلسیوس به مدت ۴۸-۲۴ ساعت نگهداری شدند. همچنین، سویه استاندارد قارچ مخمری کاندیدا/آلبیکانوس PTCC5027 از مرکز کلکسیون باکتری و قارچ‌های بیماریزا سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه گردید و بر روی محیط کشت سابرو دکستروز براث (SDB) کشت داده شد و ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس با بهم زدن ملایم گرم‌خانه‌گذاری شد. کلیه نمونه‌ها به منظور نگهداری طولانی مدت در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. تمامی پروتکل‌های مورد استفاده در مطالعه مطابق با دستورالعمل‌های پزشکی مندرج در بیانیه هلسینکی ۲۰۲۱ بوده و تاییدیه اخلاقی از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون (IR.IAU.KAU.REC.1403.074) اخذ شد.

ب) حساسیت انتشار دیسک عوامل ضد قارچی: ۱. مراحل رشد و آماده سازی میکروارگانیسم: جدایه‌های کاندیدا/آلبیکانوس از محیط ذخیره شده به محیط کشت مایع SDB (Sabouraud Dextrose Broth) منتقل و به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در انکوباتور شیکردار (۱۵۰-۱۸۰ دور در دقیقه) گرم‌خانه‌گذاری شدند. برای تهیه ماده تلقیحی، کشت تازه قارچ ۲ تا ۳ بار در محیط کشت سابرو

از آنتی‌بیوتیک‌ها، بیماری‌های مزمن (مانند دیابت یا ایدز)، یا استفاده از داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی (مانند کورتیکواستروئیدها)، می‌توانند به عوامل بیماری‌زای فرصت‌طلب تبدیل شوند و عفونت‌های جدی ایجاد کنند (۳-۵). یکی از چالش‌های اصلی در درمان عفونت‌های ناشی از کاندیدا، افزایش مقاومت دارویی در این قارچ‌ها است (۶). گونه‌هایی مانند کاندیدا/آلبیکانوس و کاندیدا/تروپیکالیس به‌طور فزاینده‌ای در برابر داروهای ضد قارچی رایج مانند آزول‌ها (مانند فلوکونازول) و پلی‌ان‌ها (مانند آمفوتریسین B) مقاومت نشان می‌دهند (۷-۱۱). این مقاومت دارویی، درمان عفونت‌های قارچی را دشوارتر کرده و نیاز به یافتن جایگزین‌های موثر و کم‌عوارض را بیش از پیش ضروری ساخته است (۶).

در این راستا، استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان منابع طبیعی با خواص ضد میکروبی و ضد قارچی مورد توجه قرار گرفته است (۲ و ۱۳). گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن ترکیبات فعال زیستی، می‌توانند به عنوان گزینه‌های امیدوارکننده در مهار رشد قارچ‌های بیماری‌زا عمل کنند (۱۴). یکی از این گیاهان، دارچین است که به دلیل دارا بودن ترکیبات فعالی مانند سینامالدهید و سایر ترکیبات فنولی، به‌عنوان یک عامل ضد قارچی قوی شناخته شده است (۱۵). دارچین (*Cinnamomum spp.*) یک گیاه دارویی شناخته‌شده است که به‌طور گسترده در طب سنتی برای درمان انواع بیماری‌ها استفاده می‌شود (۱۶). ترکیب اصلی فعال در دارچین، سینامالدهید، مسئول خواص ضدقارچی، ضد باکتریایی و ضد التهابی آن است (۱۷). مطالعات درون و برون‌تنی بسیاری نشان داده‌اند که سینامالدهید می‌تواند با اختلال در ساختار دیواره سلولی قارچ‌ها و مهار آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم قارچ، رشد قارچ‌های بیماری‌زا مانند کاندیدا/آلبیکانوس را مهار کند (۱۲ و ۱۸). با وجود پتانسیل بالای ترکیبات گیاهی مانند دارچین، هنوز چالش‌هایی در استفاده از این ترکیبات وجود دارد. از جمله این چالش‌ها می‌توان به تعیین دوز موثر، بررسی سمیت، و فرمولاسیون مناسب برای استفاده بالینی اشاره کرد. علیرغم پتانسیل بالایی که ترکیبات گیاهی در مهار رشد قارچ‌ها

پس از خشک شدن دیسک‌ها (دو ساعت زیر هود)، با فاصله ۲۴ میلی‌متر از مرکز روی پلیت قرار داده شدند. دیسک‌های حاوی فلوکونازول ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان کنترل مثبت و دیسک‌های خالی استریل به عنوان کنترل منفی استفاده شدند. پلیت‌ها پس از ۱۵ دقیقه وارونه شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند. قطر هاله‌های عدم رشد (مناطق مهار رشد قارچ) اطراف دیسک‌ها با دقت ثبت شدند. اندازه‌گیری هاله‌ها بر اساس نزدیک‌ترین نقطه‌هایی که کاهش قابل توجهی در رشد مشاهده شد، انجام گرفت. داده‌های حاصل مطابق جداول استاندارد دستورالعمل CLSI نسخه ۲۰۲۱ تفسیر شدند (۲۲).

ج) حساسیت میکروبیولوژیک برآش عوامل ضد قارچی: مطابق مطالعه خداوندی و همکاران، برای ارزیابی اثر ضد قارچی عصاره دارچین بر کاندیدا/آلبیکانسی، ماده تلقیحی با تراکم $5 \times 10^3 - 0.5 \times 10^3$ سلول بر میلی‌لیتر (بهینه‌سازی شده برای میکروبیولوژی) از سوسپانسیون ۰/۵ مک‌فارلند با رقت متوالی در بافر فسفات نمکی و محیط RPMI-1640 تهیه شد. در مرحله سنجش، به هر چاهک از میکروپلیت ۹۶ چاهکی، ۱۰۰ میکرو لیتر از عامل ضد قارچی (شامل عصاره‌ها یا فلوکونازول) در محیط RPMI-1640 و ۱۰۰ میکرو لیتر ماده تلقیحی قارچی اضافه شد. پس از مخلوط سازی، میکروپلیت به مدت ۲ ساعت در یخچال و سپس ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شد. ترکیبی از محیط کشت RPMI-1640 و ماده تلقیحی به عنوان کنترل مثبت و به همین ترتیب، ترکیب از محیط کشت RPMI-1640 و عامل ضد قارچی به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند. جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر با دستگاه خوانش الیزا اندازه‌گیری شد. کمترین غلظت مهارکننده MIC (Minimum Inhibitory Concentration) به عنوان پایین‌ترین غلظتی تعریف شد که ۵۰٪ (MIC_{50}) و ۹۰٪ (MIC_{90}) رشد قارچ را نسبت به کنترل مهار کند. برای تعیین کمترین غلظت کشنده برای تعیین کمترین غلظت کشنده (Minimum Fatal Concentration (MFC)، ۱۰۰ میکرو لیتر از

دکستروز آگار (SDA) تکثیر و پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، تعداد ۵ کلنی ۱ میلیمتری به محلول استریل (آب یا بافر فسفات) افزوده و همگن شد. غلظت سوسپانسیون با تنظیم جذب نوری در طول موج ۵۳۰ نانومتر به استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند (معادل $1/5 \times 10^6$) سلول مخمری در میلی‌لیتر) رسید. صحت شمارش سلول‌ها با روش رقت‌سازی متوالی و کشت چمنی روی محیط SDA تایید گردید (۲۰).

۲. استخراج عصاره آبی و متانولی دارچین: پوسته گیاه دارچین که به تایید مرکز رشد دارویی و طب سنتی دانشگاه علوم پزشکی شیراز رسیده بود پس از شست و شو، در فور و تاریکی تا رسیدن به جرم ثابت خشک گردید. نمونه پودر شده از الک شماره ۸۰ عبور داده شد. برای عصاره‌گیری آبی و متانولی، ۱۰۰ گرم پودر با ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر یا متانول ۸۰٪ مخلوط و به مدت ۴-۳ روز در دمای محیط همزده شد. عصاره‌ها پس از فیلتراسیون با کاغذ واتمن شماره ۱، در بن‌ماری با دمای ۶۰ درجه سلسیوس تا ۵٪ حجم ابتدایی تغلیظ و با فیلتر استریل شدند. در نهایت، عصاره‌ها در ظروف تیره و دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند (۲۱).

۳. آماده‌سازی عوامل ضد قارچی: غلظت‌های فلوکونازول (شاهد دارویی) مطابق دستورالعمل CLSI 2021 تنظیم شد. برای عصاره دارچین، غلظت‌های ۰/۱۰۲-۱۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با pH=7 تهیه شد. لازم به ذکر است که به جهت جلوگیری از تشکیل ریسه قارچی، کلیه آزمایش‌ها بلافاصله پس از آماده‌سازی ماده تلقیحی انجام گرفت.

۴. سنجش حساسیت انتشار دیسک عوامل ضد قارچی: ابتدا ۱۰۰ میکرو لیتر از ماده تلقیحی کاندیدا/آلبیکانسی (با تراکم $1/5 \times 10^6$ سلول مخمری در میلی‌لیتر) به صورت کشت چمنی روی محیط کشت SDA (Sabouraud Dextrose Agar) در پلیت‌های ۹ سانتی‌متری کشت داده شدند و برای خشک شدن به مدت ۱۵ دقیقه زیر هود قرار گرفتند. سپس دیسک‌های استریل (تجاری یا کاغذ واتمن شماره ۱ با قطر ۶ میلی‌متر) با ۳۰ تا ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره‌های گیاهی استریل آغشته شدند.

طرحی کاملاً تصادفی به صورت ۳ تکرار ۳ تایی انجام گرفته است، با بهره از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ و آزمون‌های واریانس، Tukey و T-Student تجزیه و تحلیل شده است. برای تمامی محاسبات آماری استفاده شده مقدار p-value کمتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

الف) حساسیت انتشار دیسک غلظت های مختلف عصاره گیاه دارچین علیه کاندیدا آلبیکانس: نتایج حاصل از غلظت‌های تهیه شده دیسک‌های عصاره گیاه دارچین پس از اندازه‌گیری هاله ممانعت از رشد در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است. همان طور که ملاحظه می‌شود نتایج نشان دهنده تاثیر عصاره گیاه دارچین علیه کاندیدا آلبیکانس بوده است که با افزایش غلظت عصاره ها تاثیر مطلوب‌تری ایجاد شده است. همچنین نتایج نشان داد که عصاره‌های آبی تاثیر بهتری در مقایسه با عصاره‌های الکلی علیه کاندیدا آلبیکانس داشته اند (شکل ۱).

ب) حساسیت میکرودايلوشن براث عصاره های آبی و الکلی دارچین علیه کاندیدا آلبیکانس: سنجش حساسیت میکرودايلوشن براث و تعیین میزان MIC_{50,90} و MFC عصاره‌های آبی و الکلی دارچین علیه کاندیدا آلبیکانس نشان دهنده حساس بودن تمامی جدایه‌های جمع آوری شده و نمونه‌های استاندارد مورد آزمایش بود (جدول ۳).

میزان MIC_{50,90} و MFC داروی استاندارد فلوکونازول علیه کاندیدا آلبیکانس در جدول ۴ نمایش داده شده است که نشان دهنده حساسیت تمامی جدایه‌های مورد استفاده در برابر این دارو می‌باشد.

ج) نتایج حاصل از مطالعات درون‌تنی: جهت مطالعه اثر عصاره‌های گیاهی دارچین در شرایط درون‌تنی، با توجه به نتایج حاصل از دیسک گذاری، از میان عصاره‌های آبی و متانولی این گیاه، عصاره آبی به علت عملکرد نسبی بهتر انتخاب شد و جهت القا عفونت به موش‌ها از سویه استاندارد کاندیدا آلبیکانس PTCC5027 استفاده گردید. پس از القا عفونت کاندیدیایی از طریق سیاهرگ جانبی دم به هر موش و

چاهک‌های MIC روی محیط SDA کشت و پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری، تعداد کلونی‌ها شمارش شدند. MFC به کمترین غلظتی اطلاق گردید که ۹۹/۹٪ سلول‌ها را از بین برد (۲۳).

د) حساسیت عوامل ضد قارچی در شرایط بدن حیوان با کاندیدیازیس منتشره: ۱. ایجاد کاندیدیازیس منتشره در مدل حیوانی و تیمار با عوامل ضد میکروبی: تعداد ۵۰ موش سوری ماده ۶-۴ هفته‌ای (با وزن تقریبی ۲۵ گرم) به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه‌های تیمار با عصاره دارچین (غلظت‌های MIC و 2x MIC)، کنترل دارویی (فلوکونازول)، کنترل آلوده بدون تیمار، و گروه سالم. عفونت با تزریق وریدی ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون کاندیدا آلبیکانس (۵×۱۰^۶ سلول/میلی‌لیتر) به سیاهرگ جانبی دم موش‌ها القا شد. تیمارها به مدت ۵ روز (شروع یک هفته پس از عفونت برای عصاره‌ها و یک ساعت پس از عفونت برای فلوکونازول) با دوز ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن انجام شد. علائم بالینی و مرگ و میر تا ۳۰ روز پایش گردید (۲۴و۲۵).

۲. بررسی بار قارچی: در روزهای ۱، ۷، ۱۲، ۲۰ و ۳۰، دو موش از هر گروه به صورت تصادفی معدوم شدند. کلیه‌ها به صورت آسپتیک جدا و برای اندازه‌گیری میزان سلول‌های کاندیدا در بافت و مطالعات بافت‌شناسی استفاده شدند. بار میکروبی مدفوع نیز با روش پورپلیت و رقت‌سازی متوالی ارزیابی گردید (۲۴).

۳. مطالعات بافت‌شناسی: کلیه حیوانات مورد مطالعه پس از بیهوشی به روش جابه‌جایی سومین مهره گردنی از سطح شکمی خارج و در فرمالین ۱۰٪ فیکس و پس از آب‌گیری، شفاف‌سازی و قالب‌گیری پارافینی، مقاطع ۴ میکرومتری از کلیه موش‌ها با دستگاه میکروتوم تهیه شد. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین و پرئودیک اسید شیف برای شناسایی آسیب‌های بافتی و عناصر قارچی انجام شد. تصاویر با میکروسکوپ نوری (بزرگ‌نمایی ۴۰×) از سه میدان تصادفی ثبت و تحلیل شدند.

ه) محاسبات آماری: نتایج حاصل از این مطالعه که به صورت

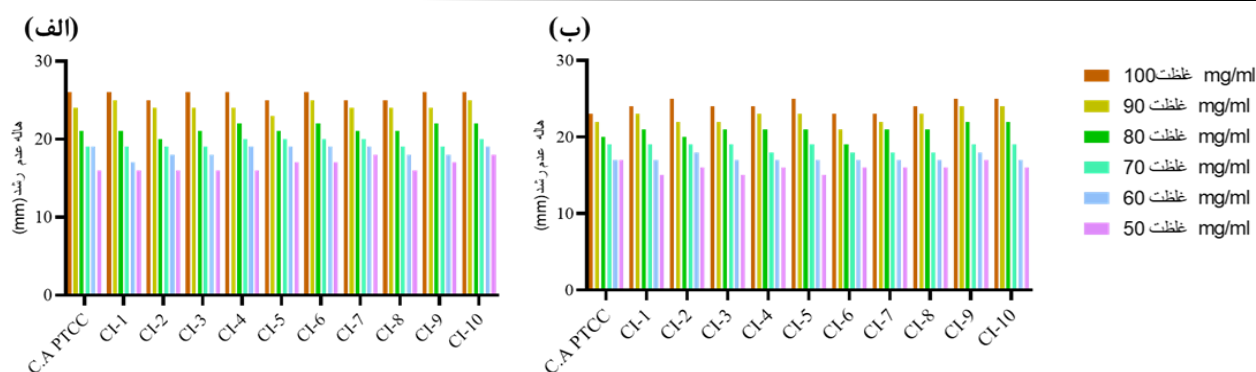
تزریق شکمی داروی استاندارد فلوکونازول وضعیت دفع کاندیدا/آلبیکاناس از مدفوع و بافت کلیه آنان پس از خارج نمودن کلیه‌ها در مدت ۳۰ روز مورد مطالعه قرار گرفتند (شکل ۲).

جدول ۱: نتایج حاصل از سنجش حساسیت انتشار دیسک غلظت‌های مختلف عصاره آبی دارچین علیه جدایه‌های کاندیدا/آلبیکاناس. C.A PTCC: کاندیدا/آلبیکاناس، PTCC₅₀₂₇: CI. نمونه کلینیکی کاندیدا/آلبیکاناس.

غلظت ۱۰۰ mg/ml	غلظت ۹۰ mg/ml	غلظت ۸۰ mg/ml	غلظت ۷۰ mg/ml	غلظت ۶۰ mg/ml	غلظت ۵۰ mg/ml	نوع مخمر
واحد هاله‌ی عدم رشد بر حسب میلی‌متر						
۲۶±۱/۷۹	۲۴±۲/۰۰	۲۱±۲/۱۱	۱۹±۲/۲۱	۱۹±۱/۹۱	۱۶±۱/۹۵	C.A PTCC
۲۶±۲/۲۰	۲۵±۲/۰۸	۲۱±۱/۴۵	۱۹±۱/۳۱	۱۷±۱/۶۰	۱۶±۱/۰۵	CI-1
۲۵±۱/۱۴	۲۴±۲/۱۲	۲۰±۱/۹۹	۱۹±۱/۲۹	۱۸±۱/۵۵	۱۶±۱/۳۸	CI-2
۲۶±۱/۰۹	۲۴±۱/۹۹	۲۱±۲/۰۹	۱۹±۱/۶۶	۱۸±۱/۵۵	۱۶±۱/۴۴	CI-3
۲۶±۱/۹۹	۲۴±۱/۱۱	۲۲±۲/۰۳	۲۰±۱/۹۹	۱۹±۰/۰۱	۱۶±۰/۹۹	CI-4
۲۵±۱/۷۷	۳۲±۱/۹۹	۲۱±۱/۱۱	۲۰±۰/۸۸	۱۹±۱/۷۷	۱۷±۰/۹۹	CI-5
۲۶±۲/۰۹	۲۵±۱/۴۶	۲۲±۰/۲۲	۲۰±۱/۳۳	۱۹±۱/۲	۱۷±۱/۰۰	CI-6
۲۵±۱/۵۶	۲۴±۱/۳۸	۲۱±۱/۸۸	۲۰±۱/۱۲	۱۹±۱/۳۳	۱۸±۱/۵۵	CI-7
۲۵±۱/۸۹	۲۴±۱/۲۲	۲۱±۱/۲۲	۱۹±۰/۷۷	۱۸±۱/۳۲	۱۶±۱/۱۱	CI-8
۲۶±۱/۶۸	۲۴±۱/۰۴	۲۲±۰/۶۸	۱۹±۱/۳۴	۱۸±۱/۱۰	۱۷±۱/۰۹	CI-9
۲۶±۱/۹۹	۲۵±۱/۶۵	۲۲±۱/۹۹	۲۰±۱/۳۲	۱۹±۱/۱۶	۱۸±۱/۰۰	CI-10

جدول ۲: نتایج حاصل از سنجش حساسیت انتشار دیسک غلظت‌های مختلف عصاره الکلی دارچین علیه جدایه‌های کاندیدا/آلبیکاناس. C.A PTCC: کاندیدا/آلبیکاناس، PTCC₅₀₂₇: CI. نمونه کلینیکی کاندیدا/آلبیکاناس.

غلظت ۱۰۰ mg/ml	غلظت ۹۰ mg/ml	غلظت ۸۰ mg/ml	غلظت ۷۰ mg/ml	غلظت ۶۰ mg/ml	غلظت ۵۰ mg/ml	نوع مخمر
واحد هاله‌ی عدم رشد بر حسب میلی‌متر						
۲۳±۱/۸۷	۲۲±۲/۱۱	۲۰±۰/۹۹	۱۹±۲/۰۰	۱۷±۱/۲۲	۱۷±۱/۱۵	C.A PTCC
۲۴±۲/۰۰	۲۳±۲/۱۲	۲۱±۱/۹۹	۱۹±۱/۶۹	۱۷±۱/۳۴	۱۵±۱/۲۱	CI-1
۲۵±۱/۰۰	۲۲±۲/۵۶	۲۰±۱/۴۵	۱۹±۱/۷۹	۱۸±۱/۸۰	۱۶±۱/۴۴	CI-2
۲۴±۱/۴۸	۲۲±۱/۰۹	۲۱±۲/۱۱	۱۹±۱/۵۷	۱۷±۱/۲۵	۱۵±۱/۳۷	CI-3
۲۴±۱/۰۲	۲۳±۱/۳۳	۲۱±۲/۱۱	۱۸±۱/۱۲	۱۷±۰/۸۸	۱۶±۱/۱۲	CI-4
۲۵±۱/۵۰	۳۲±۱/۰۰	۲۱±۱/۶۰	۱۹±۸۸/۰	۱۷±۱۲/۱	۱۵±۰/۹۹	CI-5
۲۳±۲/۰۳	۲۱±۱/۱۴	۱۹±۰/۹۸	۱۸±۱/۵۸	۱۷±۱/۱۱	۱۶±۱/۱۱	CI-6
۲۳±۱/۴۴	۲۲±۱/۲۲	۲۱±۱/۹۹	۱۸±۱/۶۷	۱۷±۱/۵۵	۱۶±۱/۱۱	CI-7
۲۴±۱/۴۴	۲۳±۱/۴۵	۲۱±۱/۶۷	۱۸±۰/۹۹	۱۷±۱/۶۶	۱۶±۱/۲۵	CI-8
۲۵±۱/۵۵	۲۴±۱/۵۸	۲۲±۱/۶۸	۱۹±۱/۵۶	۱۸±۱/۲۴	۱۷±۱/۱۶	CI-9
۲۵±۱/۴۳	۲۴±۱/۴۵	۲۲±۱/۲۶	۱۹±۱/۷۷	۱۷±۱/۶۷	۱۶±۱/۲۸	CI-10



شکل ۱: مقایسه هاله‌های عدم رشد کاندیدا/آلبیکاناس تحت تاثیر (الف) عصاره آبی دارچین و عصاره الکلی دارچین. C.A PTCC: کاندیدا/آلبیکاناس، PTCC₅₀₂₇: CI. نمونه کلینیکی کاندیدا/آلبیکاناس.

جدول ۳: میزان $MIC_{50,90}$ و MFC جدایه‌های کاندیدا آلبیکانوس تیمار شده با عصاره آبی و الکلی دارچین (میلی گرم بر میلی لیتر). C.A PTCC: کاندیدا آلبیکانوس، CI: نمونه کلینیکی کاندیدا آلبیکانوس.

جدایه‌ها	عصاره آبی دارچین			عصاره الکلی دارچین		
	MIC_{50}	MIC_{90}	MFC	MIC_{50}	MIC_{90}	MFC
C.A PTCC	$6/27 \pm 0/32$	$11/28 \pm 1/12$	$12/54 \pm 0/56$	$6/78 \pm 0/25$	$12/20 \pm 1/11$	$13/56 \pm 0/99$
CI-1	$6/25 \pm 0/45$	$11/26 \pm 1/31$	$12/51 \pm 1/09$	$6/30 \pm 0/45$	$11/30 \pm 1/14$	$12/56 \pm 1/01$
CI-2	$6/80 \pm 0/66$	$12/24 \pm 0/89$	$13/60 \pm 1/11$	$6/55 \pm 0/33$	$11/79 \pm 1/09$	$13/10 \pm 0/88$
CI-3	$6/82 \pm 0/56$	$12/27 \pm 0/99$	$13/64 \pm 1/15$	$6/90 \pm 0/56$	$12/42 \pm 0/97$	$13/80 \pm 0/98$
CI-4	$6/57 \pm 0/45$	$11/82 \pm 0/67$	$13/14 \pm 0/98$	$6/25 \pm 0/57$	$11/25 \pm 1/13$	$13/50 \pm 0/78$
CI-5	$6/55 \pm 0/44$	$11/80 \pm 1/12$	$13/10 \pm 1/09$	$6/25 \pm 0/22$	$11/25 \pm 0/99$	$12/50 \pm 0/48$
CI-6	$6/36 \pm 0/29$	$11/44 \pm 1/18$	$12/72 \pm 1/45$	$6/15 \pm 0/43$	$11/07 \pm 1/25$	$12/30 \pm 1/13$
CI-7	$6/80 \pm 0/48$	$12/24 \pm 1/56$	$13/60 \pm 1/12$	$6/25 \pm 0/45$	$11/25 \pm 0/58$	$12/50 \pm 0/98$
CI-8	$6/42 \pm 0/34$	$11/55 \pm 1/13$	$12/84 \pm 0/96$	$6/27 \pm 0/59$	$11/28 \pm 0/89$	$12/54 \pm 1/37$
CI-9	$6/75 \pm 0/69$	$12/15 \pm 1/66$	$13/50 \pm 1/03$	$6/23 \pm 0/71$	$11/21 \pm 0/76$	$12/46 \pm 0/76$
CI-10	$6/57 \pm 0/68$	$11/82 \pm 0/99$	$13/14 \pm 0/87$	$6/35 \pm 0/29$	$11/43 \pm 1/01$	$12/70 \pm 0/88$



شکل ۲: نحوه جراحی و خارج نمودن بافت کلیه حیوان آزمایشگاهی عفونی تحت تیمار جهت سنجش بار میکروبی.

میان گروه‌های تحت تیمار نشان می‌دهد که در گروه‌های دوم و سوم پس از طی این مدت درمان بطور کامل موثر بوده و در گروه اول نیز بطور نسبی این قضیه در مقایسه با گروه شاهد ۱ مشاهده می‌شود.

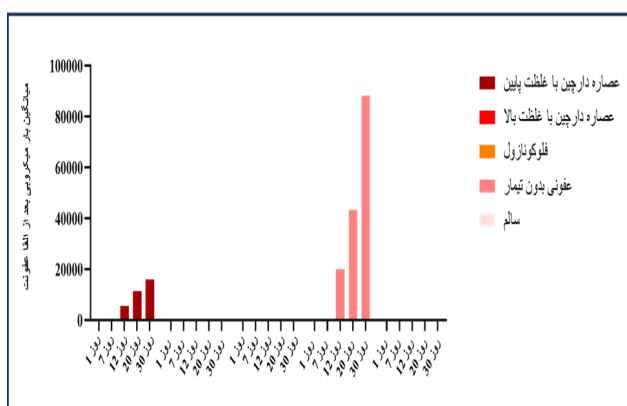
د) یافته‌های مطالعات بافت شناسی حیوانات مورد مطالعه: به منظور مطالعات بافت شناسی، پس از بیهوشی، ضمن باز کردن شکم حیوانات مورد مطالعه کلیه‌ها خارج و در فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند. پس از رنگ‌آمیزی اختصاصی پریودیک اسید شیف وجود میکرو آبسه‌های حاوی عناصر قارچی و ریشه کاندیدا آلبیکانوس در بافت کلیه‌ها تایید شد (شکل ۵ الف).

جدول ۴: میزان $MIC_{50,90}$ و MFC جدایه‌های کاندیدا آلبیکانوس تیمار شده با فلوکونازول (میلی گرم بر میلی لیتر). C.A PTCC: کاندیدا آلبیکانوس، CI: نمونه کلینیکی کاندیدا آلبیکانوس.

جدایه‌ها	فلوکونازول		
	MIC_{50}	MIC_{90}	MFC
C.A PTCC	$0/8 \pm 0/09$	$2/5 \pm 0/2$	$3/3 \pm 0/25$
CI-2	$0/6 \pm 0/1$	$3/3 \pm 0/2$	$4/4 \pm 0/32$
CI-3	$0/5 \pm 0/0$	$2/6 \pm 0/3$	$3/2 \pm 0/24$
CI-4	$0/7 \pm 0/08$	$3/5 \pm 0/2$	$4/5 \pm 0/33$
CI-5	$0/5 \pm 0/02$	$2/5 \pm 0/3$	$3/25 \pm 0/33$
CI-6	$0/6 \pm 0/1$	$3/6 \pm 0/1$	$4/4 \pm 0/33$
CI-7	$0/5 \pm 0/2$	$3/5 \pm 0/4$	$4/5 \pm 0/35$
CI-8	$0/7 \pm 0/1$	$2/5 \pm 0/2$	$3/35 \pm 0/42$
CI-9	$0/8 \pm 0/07$	$2/9 \pm 0/3$	$3/3 \pm 0/25$
CI-10	$0/5 \pm 0/08$	$3/5 \pm 0/1$	$4/2 \pm 0/15$

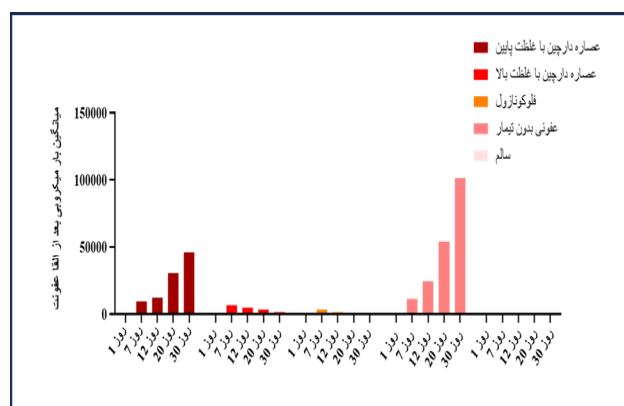
میانگین بار عفونت قارچی در مدفوع و کلیه هر پنج گروه موش مورد مطالعه در بازه‌های زمانی انتخاب شده تفاوت معناداری را نشان دادند (شکل ۳ و ۴). بنابراین، می‌توان بیان کرد که هر دو متغیر تیمار و زمان بر روی میزان بار میکروبی در مدفوع و بافت کلیه تاثیر قابل توجهی دارند. در خصوص مقایسه گروه‌های مورد مطالعه با هم نیز می‌توان اذعان نمود که تفاوت معنی داری در سه گروه تحت درمان مشاهده نشده است که این خود نشان دهنده تاثیر مثبت عصاره دارچین در کاهش بار میکروبی در این حیوانات می‌باشد و از این نظر با فلوکونازول برابری می‌کند. روند کاهش بار میکروبی در بازه ۳۰ روزه در

اندکی ازدحام و تراکم سلولی به همراه کمی التهاب بافتی در بافت کلیه منتشره مشاهده گردید (شکل ۵). شایان ذکر است که در حیوانات درمان شده هیچ یک از موارد ذکر شده در تصاویر ۵ (الف)، عناصر قارچی و التهاب بافتی مشاهده نشد.



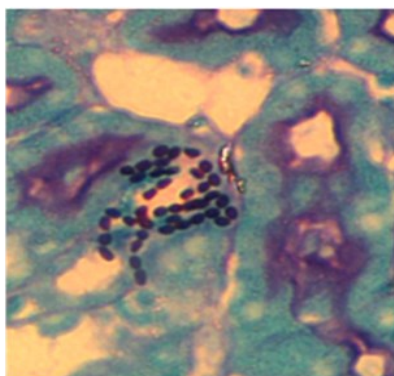
شکل ۴: تفاوت میانگین بار میکروبی کلیه گروه‌های مختلف مورد مطالعه در بازه زمانی ۳۰ روزه پس از القای عفونت.

به شیوه مشابه، پس از رنگ آمیزی بافت کلیه موش‌های مورد مطالعه با همتوکسین-ئوزین وجود عناصر قارچی و ریشه کاندیدا/آلبیکانوس در بافت کلیه موش آزمایشگاهی مبتلا به کاندیدیازیس منتشر شده مشخص شد. علاوه بر این، وجود

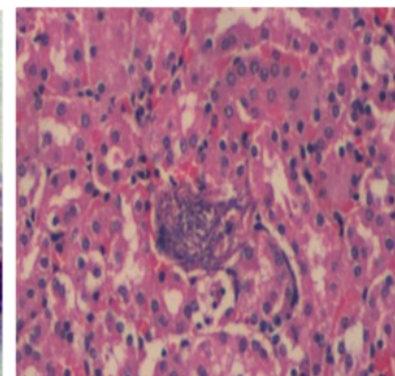
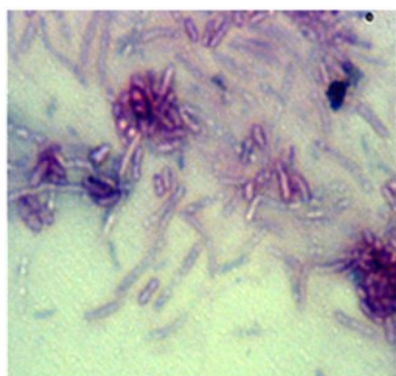


شکل ۳: تفاوت میانگین بار میکروبی مدفوع گروه‌های مختلف مورد مطالعه در بازه زمانی ۳۰ روزه پس از القای عفونت.

(الف)



(ب)



شکل ۵: (الف) میکرو آبسه‌های حاوی عناصر قارچی و ریشه کاندیدا/آلبیکانوس بافت کلیه موش آزمایشگاهی مبتلا به کاندیدیازیس منتشر شده با استفاده از رنگ آمیزی اختصاصی پرئودیک اسید شیف و (ب) عناصر قارچی و ریشه کاندیدا/آلبیکانوس بافت کلیه موش آزمایشگاهی مبتلا به کاندیدیازیس منتشر شده با استفاده از رنگ آمیزی همتوکسین-ئوزین و همچنین وجود اندکی ازدحام و تراکم سلولی به همراه کمی التهاب بافتی (بزرگ نمایی ۴۰).

بحث

نشان داده‌اند که این ترکیبات دارای خواص ضد قارچی قوی هستند و می‌توانند در مهار رشد و تکثیر طیف وسیعی از قارچ‌های بیماری‌زا مؤثر باشند. به‌ویژه، سینامالدهید به‌عنوان ترکیب اصلی دارچین، با اتصال به ارگوسترول در غشای سلولی قارچ، نفوذ پذیری آن را افزایش داده و نشت یون‌های ضروری را موجب می‌شود؛ بنابراین اختلال در ساختار دیواره سلولی و غشای سلولی قارچ‌ها، موجب مهار رشد آن‌ها می‌شود (۲۹).

کاندیدا/آلبیکانوس یک قارچ فرصت‌طلب است که می‌تواند در شرایط خاص (مانند ضعف سیستم ایمنی) باعث عفونت‌های مخاطی یا سیستمیک شود (۲۶ و ۲۷). دارچین به دلیل دارا بودن ترکیبات فعال زیستی متعدد، از جمله سینامالدهید، اوجنول، و پلی‌فنول‌ها، به‌عنوان یکی از قوی‌ترین عوامل ضد قارچی طبیعی شناخته شده است (۲۸). مطالعات علمی گسترده‌ای

به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر، توانایی رقابتی در کاهش بار میکروبی مدفوع و بافت کلیه نشان داد. هرچند تفاوت معناداری بین گروه‌های تحت درمان با عصاره و فلوکونازول مشاهده نشد ($P_{\text{value}}=0.257$)، اما این نتایج حاکی از پتانسیل دارچین به‌عنوان یک عامل مکمل یا جایگزین در درمان عفونت‌های قارچی است. نبود مقاومت دارویی در جدایه‌های مورد مطالعه، مزیت قابل توجهی در مقایسه با محدودیت‌های مرتبط با داروهای شیمیایی مانند فلوکونازول محسوب می‌شود. در مطالعه‌ای تأثیر مهاری دارچین بر کاندیدا آلبیکانز در محیط آزمایشگاهی تأیید شد، هرچند در این مطالعه مقایسه با کلرگزیدین (به جای فلوکونازول) انجام شده بود (۳۷). همچنین، یافته‌های مربوط به تأثیر زمان بر کاهش بار میکروبی (با الگوی کاهشی طی ۳۰ روز) با پژوهشی در همین راستا که بر نقش زمان در اثربخشی ترکیبات طبیعی تأکید داشت، همسوست (۳۸). علاوه بر این، در مطالعه‌ای فعالیت ضد قارچی قوی تر روغن میخک در محیط آبی گزارش شد که نتایج مرتبط با برتری عصاره آبی دارچین نسبت به عصاره الکلی با آن همسو می‌باشد (۳۹).

نتیجه‌گیری

این پژوهش که نه تنها ظرفیت‌های پنهان طبیعت را در مبارزه با عفونت‌های قارچی مقاوم آشکار می‌کند، گامی مهم در جهت معرفی دارچین به‌عنوان یک جایگزین طبیعی، کم هزینه و کم عارضه برای داروهای شیمیایی ضدقارچی است. با توجه به افزایش نگران‌کننده مقاومت دارویی (به‌ویژه به آزول‌ها)، در گونه‌های کاندیدا استفاده از عصاره‌های گیاهی مانند دارچین می‌تواند راه کاری امیدوار کننده در مدیریت عفونت‌های فرصت‌طلب باشد. ترکیب دارچین با داروهای رایج (مانند فلوکونازول) نه تنها اثربخشی درمان را افزایش می‌دهد، بلکه با کاهش دوز مصرفی، احتمال بروز مقاومت را نیز کاهش می‌دهد. با این حال، انتقال این یافته‌ها به کاربردهای بالینی نیازمند پژوهش‌های بیشتر در زمینه فارماکوکینتیک، دوز گذاری و آزمایشات انسانی است.

مطالعات مولکولی نشان می‌دهند که سینامالدهید همچنین با مهار بیان ژن‌های *SAP1-3* و *ALS3*، که در چسبندگی و تهاجم قارچ نقش کلیدی دارند، بیماری‌زایی کاندیدا آلبیکانز را کاهش می‌دهد (۳۰). همچنین، اوجنول و پلی‌فنول‌ها با ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب به سیستم آنزیمی قارچ‌ها، مکانیسم‌های دفاعی آن‌ها را تضعیف می‌کنند (۳۱). علاوه بر این، دارچین با مهار تبدیل فرم مخمری به هایفا از طریق تنظیم منفی ژن‌های *UME6* و *EFG1*، توانایی قارچ در نفوذ به بافت‌های میزبان را محدود می‌کند. این مکانیسم دوگانه (تخریب ساختاری و تعدیل ژنتیکی) نشان می‌دهد که دارچین نه تنها به‌عنوان یک عامل ضدقارچی مستقیم، بلکه به عنوان یک تعدیل‌کننده پاسخ ایمنی میزبان نیز عمل می‌کند (۲۹ و ۳۲). در مقایسه با عوامل ضد قارچی شیمیایی مانند نیستاتین، دارچین به‌عنوان یک جایگزین طبیعی و کم عوارض مطرح شده است. نیستاتین، اگرچه یک داروی ضد قارچی قوی و پر کاربرد است، اما ممکن است با عوارض جانبی و مقاومت دارویی همراه باشد. در مقابل، دارچین به دلیل منشأ طبیعی و سمیت کم‌تر، گزینه‌ای ایمن‌تر و سازگارتر با محیط زیست محسوب می‌شود (۱۲ و ۳۳).

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌های آبی و الکلی دارچین به‌طور معناداری از رشد کاندیدا آلبیکانز در شرایط برون و درون‌تنی (کاهش بار میکروبی در مدفوع و کلیه) جلوگیری می‌کنند. این یافته‌ها با نتایج حاصل از مطالعات زیادی که بر عصاره‌های آبی، الکلی و حتی روغن دارچین انجام شد همسو است (۳۴ و ۳۵). اثربخشی این عصاره‌ها به‌صورت وابسته به غلظت (تعیین MIC و MFC) مشاهده شد، به‌طوری که افزایش غلظت عصاره‌ها منجر به کاهش قابل توجه بار میکروبی گردید. جالب توجه آن که عصاره آبی در مقایسه با عصاره الکلی عملکرد ضد قارچی قوی‌تری از خود نشان داد، که احتمالاً ناشی از تفاوت در حلالیت و پایداری ترکیبات فعال (مانند سینامالدهید و اوجنول) در محیط آبی است. این یافته با مطالعات پیشین که بر برتری ترکیبات پلی‌فنولی در محیط‌های آبی تأکید داشتند، همسو است (۱۸ و ۳۶). در مقایسه با فلوکونازول (داروی استاندارد ضد قارچی)، عصاره دارچین

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمامی نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گچساران و بیمارستان شهید رجایی گچساران انجام شده است. بدین وسیله از مسئولین این مراکز تشکر و قدردانی می‌نماییم.

تعارض منافع

وجود ندارد.

References

1. Katsipoulaki, M., et al., *Candida albicans* and *Candida glabrata*: global priority pathogens. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2024. 88.
2. Baghiat Esfahani, M., et al., Biofilm-associated genes as potential molecular targets of nano-Fe₃O₄ in *Candida albicans*. Pharmacological Reports, 2023. 75(3): p. 682-694.
3. Swidergall, M. and S. LeibundGut-Landmann, Immunosurveillance of *Candida albicans* commensalism by the adaptive immune system. Mucosal immunology, 2022. 15(5): p. 829-836.
4. Zhou, Y., et al., The interactions between *Candida albicans* and mucosal immunity. Frontiers in microbiology, 2021. 12: p. 652725.
5. Khodavandi, A., F. Alizadeh, and M. Shahinipor, RELATIVE QUANTITATION OF HYPHAE-SPECIFIC GENEHP1 EXPRESSION IN INHIBITION OF CANDIDA ALBICANS BIOFILM. 2016.
6. Kaur, J. and C.J. Nobile, Antifungal drug-resistance mechanisms in Candida biofilms. Current opinion in microbiology, 2023. 71: p. 102237.
7. Alabi, P.E., et al., Small molecules restore azole activity against drug-tolerant and drug-resistant Candida isolates. Mbio, 2023. 14(4): p. e00479-23.
8. Ahmady, L., et al., Antifungal drug resistance in Candida: a special emphasis on amphotericin B. APMIS, 2024. 132(5): p. 291-316.
9. Jothi, R., et al., Catechol thwarts virulent dimorphism in *Candida albicans* and potentiates the antifungal efficacy of azoles and polyenes. Scientific Reports, 2021. 11(1): p. 21049.
10. Yasaman Faghih Nasiri , A.S., zohreh momeni , Somayeh Talebi In vitro comparative survey of the effect of aqueous and alcoholic extracts of Rosa canina hips on *Trichomonas vaginalis* and *Candida albicans* Journal of Microbial World, 2024. 17(2): p. 84-95.
11. Majdi, M., Z. Khazaei Koohpar, and A. Nasrolahi Omran, Investigation of mutations in hotspot regions of ERG11 gene in fluconazole-resistant isolates of *Candida albicans* in the west of Mazandaran. Journal of Microbial World, 2018. 11(3): p. 258-268.
12. Bakhtiari, S., et al., The effects of cinnamaldehyde (Cinnamon derivatives) and nystatin on *candida albicans* and *Candida glabrata*. Open access Macedonian journal of medical sciences, 2019. 7(7): p. 1067.
13. Yanakiev, S., Effects of cinnamon (Cinnamomum spp.) in dentistry: A review. Molecules, 2020. 25(18): p. 4184.
14. Hsu, H., C.C. Sheth, and V. Veses, Herbal extracts with antifungal activity against *Candida albicans*: A systematic review. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2021. 21(1): p. 90-117.
15. de Lima Carvalho, P.C., et al., Anti-candida activity of cinnamon inhibition of virulence factors of clinical strains of *Candida albicans* by essential oil of Cinnamomum zeylanicum. PSM Microbiology, 2018. 3(1): p. 4-12.

16. Błaszczuk, N., A. Rosiak, and J. Kałużna-Czaplińska, The potential role of cinnamon in human health. *Forests*, 2021. 12(5): p. 648.
17. Lee, H.-G., et al., Optimization of green extraction methods for cinnamic acid and cinnamaldehyde from Cinnamon (*Cinnamomum cassia*) by response surface methodology. *Food science and biotechnology*, 2018. 27: p. 1607-1617.
18. Saracino, I.M., et al., Antifungal activity of natural compounds vs. candida spp.: a mixture of cinnamaldehyde and eugenol shows promising in vitro results. *Antibiotics*, 2022. 11(1): p. 73.
19. Wang, G.-S., et al., Mechanisms, clinically curative effects, and antifungal activities of cinnamon oil and pogostemon oil complex against three species of *Candida*. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2012. 32(1): p. 19-24.
20. Humphries, R.M., et al., CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. *Journal of clinical microbiology*, 2018. 56(4): p. 10.1128/jcm. 01934-17.
21. Shan, B., et al., Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2005. 53(20): p. 7749-7759.
22. Humphries, R., et al., Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100. *Journal of clinical microbiology*, 2021. 59(12): p. 10.1128/jcm. 00213-21.
23. Khodavandi, A., et al., In vitro investigation of antifungal activity of allicin alone and in combination with azoles against *Candida* species. *Mycopathologia*, 2010. 169: p. 287-295.
24. Council, N.R., et al., Guide for the care and use of laboratory animals. 2010.
25. Pfaller, M.A. and D. Diekema, Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical microbiology reviews*, 2007. 20(1): p. 133-163.
26. Al-Abdalall, A.H.A., Effect of plants extracts on the growth of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2016. 10(16): p. 337-345.
27. Mirabadi, M., H. Azadegam Ghomi, and M. Didehdar, Evaluation of antifungal effects of garlic essential oil (*Alliumstadium*) in *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Candida tropicalis* in vitro. *Applied Biology*, 2018. 7(28): p. 11-19.
28. Rawal, A., et al., Antifungal effects of natural extracts on *Candida albicans*. *Bioinformation*, 2024. 20(9): p. 1142.
29. Radwan, I., et al., Effect of thyme, clove and cinnamon essential oils on *Candida albicans* and moulds isolated from different sources. 2014.
30. Abdullah, F.M. and L.A. Al Obaidi, Efficiency of Alcoholic Cinnamon Extract on ERG3 and ERG11 Genes in *Candida Albicans* Isolated From Oral Children Candediasis. *International journal of health sciences*. 6(S5): p. 9774-9785.

31. Prajapati, M., et al., Antifungal effects of tulsi, garlic, cinnamon and lemongrass in powder and oil form on *Candida albicans*: An: in vitro: study. Journal of Oral and Maxillofacial Pathology, 2021. 25(2): p. 306-312.
32. Saffarieh, E., et al., The effects of (ethanolic, methanolic, and aqueous) extracts of Cinnamomum zeylanicum and Thymus vulgaris with clotrimazol ointment in preventing the growth of *Candida albicans* fungus. Journal of Fundamental and Applied Sciences, 2016. 8 (3): p. 668-676.
33. de Araújo, M.R.C., et al., Efficacy of essential oil of cinnamon for the treatment of oral candidiasis: A randomized trial. Special Care in Dentistry, 2021. 41(3): p. 349-357.
34. Allemailem, K.S., Aqueous Extract of Artemisia annua Shows In Vitro Antimicrobial Activity and an In Vivo Chemopreventive Effect in a Small-Cell Lung Cancer Model. Plants (Basel), 2022. 11(23).
35. Shahidi, F., et al. Antimicrobial Activity of Lepidium draba Extract on some Pathogenic Microorganisms “in vitro”. 2019.
36. Didehdar, M., et al., Cinnamomum: The new therapeutic agents for inhibition of bacterial and fungal biofilm-associated infection. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022. 12: p. 930624.
37. Satthanakul, P., et al., In vitro method for studying the penetration of cinnamon oil and chlorhexidine through Candida albicans biofilm using Franz diffusion apparatus. Songklanakarin Journal of Science & Technology, 2020. 42(2).
38. KI, S., Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. J Appl Microbiol, 2003. 94: p. 665-674.
39. Ahmad, I. and A.Z. Beg, Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. Journal of ethnopharmacology, 2001. 74 (2): p. 113-123.