دارای رتبه علمی -پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

e-ISSN: ۲۰۰۸-۴۰۸۰ p-ISSN: ۱۵۶۲-۴۷۶۵

با دسترسی آزاد

مجله دانشگاه علوم پزشکی گرگان

تابستان ۱۴۰۳ / دوره ۲۶ / شماره ۲ (پی در پی ۹۰)

تحقیقی

اثر ضدقارچی عصاره‌های اترنفت، دی‌کلرومتان، اتیل‌استات، اتانول و هیدرواتانول اندام هوایی گیاه درمنه‌های خراسانی، شرقی و معمولی

دکتر علی میکاییلی [۱]، دکتر سجاد ناصری [۲]، محمدمهدی حسینی [۳]

دکتر سیداحمد امامی [۴]، دکتر مهدی مجرب*[۵]

۱ دانشیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. ۲ استادیار فارماکوگنوزی، گروه فارماکوگنوزی - بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران ، ایران. ۳ دانشجوی رشته داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. ۴ استاد فارماکوگنوزی، گروه داروسازی سنتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. ۵ دانشیار فارماکوگنوزی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده سلامت، گروه فارماکوگنوزی و زیست‌فناوری دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: *یکی از بیماری‌های مهم جلدی انسان و حیوانات، درماتوفیتوزیس است که مقاومت آن به درمان‌های رایج رو به افزایش است. این مطالعه به منظور تعیین میزان فعالیت برون‌تنی ضدقارچی عصاره‌های اترنفت، دی‌کلرومتان، اتیل‌استات، اتانول و هیدرواتانول اندام هوایی گیاه درمنه‌های خراسانی (Artemisia khorassanica)، شرقی (Artemisia scopari) و معمولی (Artemisia vulgaris) علیه قارچ‌های شایع عامل بیماری درماتوفیتوزیس شامل تریکوفیتون روبروم (Trichophyton rubrum)، تریکوفیتون وروکوزوم (Trichophyton verrucosum)، اپیدرموفیتون فلوکوزوم (Epidermophyton floccosum) و میکروسپوروم کانیس (Microsporum canis) انجام شد.*

روش بررسی: *این مطالعه توصیفی روی عصاره‌های مختلف اندام هوایی درمنه‌های خراسانی، شرقی و معمولی علیه جدایه‌های قارچی Trichophyton rubrum، Trichophyton verrucosum، Microsporum canis و Epidermophyton floccosum انجام شد. اندام‌های هوایی سه گونه درمنه خراسانی، درمنه شرقی و درمنه معمولی با استفاده از پنج حلال اتر نفت، دی کلرومتان، اتیل استات، اتانول و هیدرواتانول (۵۰ درصد) عصاره‌گیری و عصاره‌های حاصل برای اثرات ضددرماتوفیتی علیه Trichophyton rubrum، Trichophyton verrucosum، Microsporum canis و Epidermophyton floccosum غربالگری شدند. سپس آزمایش حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) براساس روش رقیق‌سازی در آگار انجام شد. فعال‌ترین عصاره‌ها در آزمون‌های مقدماتی فیتوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند.*

یافته‌ها: *در غربالگری اولیه، میکروسپوروم کانیس و تریکوفیتون وروکوزوم به ترتیب حساسیت (۸۶/۶۶ درصد) و مقاومت (۱۰۰ درصد) بیشتری را به عصاره‌های مورد مطالعه نشان دادند. عصاره‌های حاصل از درمنه شرقی، از گسترده‌ترین دامنه فعالیت برخوردار بودند. موثرترین عصاره‌های به کار رفته در آزمایش‌ها نیز با MIC برابر با ۷۸/۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر از همین گیاه بودند. عصاره‌های هیدرواتانولی تمام گونه‌های گیاهی کمترین فعالیت ضددرماتوفیتی را بروز دادند. نتایج مطالعات مقدماتی فیتوشیمیایی، حضور مشترک ترپنوییدها را در تمام عصاره‌های اتر نفتی و دی کلرومتانی گونه‌های گیاهی نشان داد.*

نتیجه‌گیری: *برخی ترکیبات چربی دوست موجود در عصاره‌های مختلف به ویژه عصاره‌های اتر نفتی و دی کلرومتانی درمنه شرقی فعالیت قابل توجه برون‌تنی ضددرماتوفیتی دارد.*

واژه‌های کلیدی: *درمنه، تینه آ، تریکوفیتون روبروم، تریکوفیتون وروکوزوم، اپیدرموفیتون فلوکوزوم، میکروسپوروم کانیس*

* نویسنده مسؤول: دکتر مهدی مجرب ، پست الکترونیکی: mmojarrab@kums.ac.ir

نشانی: کرمانشاه، بلوار شهید شیرودی، خیابان دانشگاه، بلوار پرستار، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده داروسازی، تلفن (داخلی ۳۱۴) ۰۸۳-۳۴۲۷۶۴۸۹

وصول ۱۴۰۲/۷/۲۹ اصلاح نهایی ۱۴۰۲/۱۰/۳ پذیرش ۱۴۰۲/۱۰/۱۳ انتشار In Press

مقدمه

یکی از بیماری‌های مهم جلدی انسان و حیوانات، درماتوفیتوزیس است که گروهی از قارچ‌ها به نام درماتوفیت‌ها عامل آن هستند. در این بیماری درماتوفیت‌ها به بافت‌های کراتین‌دار بدن مانند پوست، مو و ناخن حمله کرده و باعث انواع بیماری‌های قارچی براساس محل درگیری عفونت با نام کچلی (Tinea) می‌شوند. این دسته از قارچ‌های عموماً در نواحی گرم و مرطوب رشد کرده و شیوع این بیماری در نواحی نیمه گرمسیری و مرطوب رایج است.[۱] عفونت‌های

درماتوفیتوزیسی جزء بیماری‌های مسری محسوب شده و می‌تواند به‌صورت مستقیم از شخصی به شخص دیگر و یا غیرمستقیم از طریق تماس با خاک و وسایل شخصی بیمار مانند شانه و لباس و نیز از طریق تماس با حیوان آلوده به انسان منتقل شود.[۲] طبق نتایج مطالعات مختلف شیوع این بیماری در میان مردان و جوامع روستایی با وضعیت بهداشتی نامطلوب نسبت به زنان و جوامع شهری بیشتر است.[۳و۴]

آلیل‌آمین‌ها، پلی‌ان‌ها و آزول‌ها از گروه‌های شاخص دارویی هستند که به‌صورت موضعی و سیستمیک برای درمان درماتوفیتوزیس استفاده می‌شوند.[۵] شکست درمان‌های رایج این بیماری به دلیل مقاومت دارویی رو به افزایش است.[۶] علاوه بر مقاومت روزافزون دارویی، محدودیت‌های دیگری نیز مانند بروز عوارض جانبی و ملاحظات هزینه اثربخشی در درمان‌های متداول ضددرماتوفیتی وجود دارد.[۷] از این رو برنامه‌ریزی برای دستیابی به منابع طبیعی حاوی ترکیبات ضددرماتوفیت با هدف غلبه احتمالی بر مشکلات فوق الذکر است.

درمنه (*Artemisia* sp.) نام جنس گیاهی از خانواده گل ستارگان (Asteraceae) است که به صورت گسترده در نواحی مختلف دنیا شامل اروپا، آسیا، شمال آفریقا، شمال و جنوب آمریکا و همچنین استرالیا پراکنش دارد.[۸] از قرن‌ها پیش گونه‌های مختلف آرتمیزیا به‌عنوان مرهم برای درمان بیماری‌های انگلی، تسکین ناراحتی‌های گوارشی ودرمان اختلالات پوستی در میان مردم کاربرد داشته است.[۹] حضور حدود ۳۴ گونه‌های مختلف درمنه در مناطق گسترده‌ای از دشت‌های پست تا ارتفاعات کوهستانی ایران گزارش شده است.[۱۰] حضور ترکیبات گوناگون فعال زیستی مانند فنل‌ها، ترپنوئیدها، استرول‌ها و پلی استیلن‌ها با اثراتی همچون ضدمیکروبی، ضدویروسی، ضدالتهابی و ضدقارچی از این جنس گزارش شده است.[۱۱] نتایج دو مطالعه، فعالیت ضدقارچی روغن فرار درمنه معمولی را در برابر *کاندیدا آلبیکنس* و *آسپرژیلوس نایجر* تایید کردند.[۱۲و۱۳] این مطالعه به منظور تعیین میزان فعالیت برون‌تنی ضدقارچی عصاره‌های اترنفت، دی‌کلرومتان، اتیل‌استات، اتانول و هیدرواتانول اندام هوایی گیاه درمنه‌های خراسانی (*Artemisia khorassanica*)، شرقی (*Artemisia scopari*) و معمولی (*Artemisia vulgaris*) علیه تریکوفیتون روبروم (*Trichophyton rubrum*)، تریکوفیتون وروکوزوم (*Trichophyton verrucosum*)، اپیدرموفیتون فلوکوزوم (*Epidermophyton floccosum*) و میکروسپوروم کانیس (*Microsporum canis*) انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی روی جدایه‌های قارچی *Trichophyton rubrum*، *Trichophyton verrucosum*، *Microsporum canis* و *Epidermophyton floccosum* در گروه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه در سال ۱۳۹۹ انجام شد. این مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه (IR.KUMS.REC.1398.877) قرار گرفت.

تهیه جدایه‌های قارچی و محیط کشت: سه قارچ میکروسپوروم کانیس (۵۰۶۹)، تریکوفیتون وروکوزوم (۵۰۵۶) و تریکوفیتون روبروم (۵۱۴۳) از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران، وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شدند. قارچ اپیدرموفیتون فلوکوزوم از بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه قارچ‌شناسی کلینیک مهدیه دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه جداسازی شدند. قارچ‌های فوق روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و سیکلوهگزآمید (شرکت مرک، آلمان) به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. بعد از طی زمان مذکور، از کنیدی‌های به‌دست آمده از کشت هریک از قارچ‌ها سوسپانسیون 10^6 (میلی‌لیتر/کلنی) تهیه گردید.[۱۴]

تهیه گونه‌های گیاهی: گونه‌های مختلف جنس درمنه شامل درمنه خراسانی (*Artemisia khorassanica*) (شماره هرباریوم ۱۲۵۷۶)، شرقی (*Artemisia scopari*) (شماره هرباریوم ۱۲۵۷۵) و معمولی (*Artemisia vulgaris*) (شماره هرباریوم ۱۲۵۷۴) در اواخر فصل رویشی به ترتیب از شهرستان‌های دره‌گز، کلات و مشهد در استان خراسان رضوی جمع‌آوری شدند. درمنه خراسانی در دانشگاه فردوسی مشهد و دو گونه دیگر در مرکز تحقیقات جنگل‌ها و مراتع ایران شناسایی و تایید هویت شدند. نمونه‌های هرباریومی در هرباریوم دانشکده داروسازی مشهد قرار گرفتند.

عصاره‌گیری: برای عصاره‌گیری و استخراج ترکیبات از پنج حلال با قطبیت‌های مختلف به صورت ترتیبی استفاده شد تا تمام ترکیبات غیرقطبی، نیمه‌قطبی و قطبی برای بررسی اثر ضددرماتوفیتی مورد ارزیابی قرار گیرند. برای استخراج عصاره‌ها از روش خیساندن یا ماسراسیون استفاده شد. اندام هوایی گیاهان تهیه شده پس از جمع‌آوری، حذف ضایعات گیاه و خشک کردن در سایه، آسیاب و درجای خشک و خنک نگهداری شدند. ۱۰۰ گرم از پودر هر گیاه، به نسبت یک به ده (وزنی: حجمی) به شکل متوالی با حلال‌های اترنفت، دی‌کلرومتان، اتیل‌استات، اتانول و هیدرواتانول (۱:۱) مخلوط شدند. اختلاط با هر یک از حلال‌ها سه نوبت به صورت جداگانه به مدت ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه تکرار شد. بعد از صاف کردن عصاره‌ها، حذف حلال آنها توسط دستگاه تقطیر در خلا (روتاری) تا خشک شدن کامل عصاره‌ها انجام شد. حذف کامل‌تر آب از عصاره‌های هیدرواتانولی با کمک دستگاه خشک‌کن سرمایشی (فریز درایر) صورت گرفت.

جدول ۱ : نتایج غربالگری اولیه اثر بازدارندگی عصاره‌های حاصل از درمنه خراسانی، شرقی و معمولی در غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر علیه چهار جدایه قارچی اپیدرموفیتون فلوکوزوم، تریکوفیتون روبروم، میکروسپوروم کانیس و تریکوفیتون وروکوزوم عامل درماتوفیتوزیس در سه بار تکرار کشت

نام گیاه	عصاره	بازده (درصد)	اپیدرموفیتون فلوکوزوم	تریکوفیتون روبروم	میکروسپوروم کانیس	تریکوفیتون وروکوزوم
درمنه خراسانی	اترنفتی	۲/۰۷	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	دی کلرومتانی	۶/۸۰	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	اتیل استاتی	۰/۴۹	رشد قارچ	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	اتانولی	۱/۷۱	رشد قارچ	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	هیدرواتانولی	۱۰/۱۱	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ
درمنه شرقی	اترنفتی	۱/۱۰	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	دی کلرومتانی	۷/۲۹	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	اتیل استاتی	۰/۸۷	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	اتانولی	۲/۵۷	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	هیدرواتانولی	۲۱/۱۷	رشد قارچ	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
درمنه معمولی	اترنفتی	۳/۴۶	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	دی کلرومتانی	۹/۳۴	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	اتیل استاتی	۰/۴۵	رشد قارچ	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	اتانولی	۲/۱۲	عدم رشد قارچ	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	هیدرواتانولی	۱۷/۱۳	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ
DMSO (۳/۱۲ v/v درصد)		-	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ
تربینافین (۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر)		-	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ

رشد قارچ و عدم رشد قارچ: دست کم دو بار تکرار از غلظت موردنظر

سپس پانزده عصاره خشک شده، تا انجام آزمایش‌های بعدی، در فریزر و دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اثر ضدقارچی به روش اختلاط با محیط کشت: به منظور غربالگری اولیه، عصاره‌های گیاهی در دی متیل سولفوکسید (DMSO) حل و سپس با محیط کشت مذاب سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید استریل مخلوط شدند تا غلظت نهایی ۱/۲۵ (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه شود. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون کنیدیای هر قارچ (میلی‌لیتر/کلنی $۱۰^۶$) روی محیط کشت مخلوط با عصاره یا شاهد تلقیح و لوله‌ها در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۴ روز نگهداری شدند. اثرات ضدقارچی هر عصاره با مشاهده مهار کامل رشد قارچ‌ها ارزیابی شد.

بررسی حداقل غلظت بازدارندگی (MIC): حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌ها با روش رقیق‌سازی در آگار تعیین شد. مقادیر غلظت نهایی هر عصاره در محیط کشت بین ۱۲۵۰~ ۳۹/۰۶ (میلی‌لیتر/میکروگرم) به‌کار رفت. حداقل غلظت بازدارندگی بعد از دوره ۱۴ روزه و نگهداری در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد با مشاهده عدم رشد قارچ‌ها تعیین گردید. از محلول DMSO (۳۱/۲۵ میلی‌لیتر/میکرولیتر) و تربینافین (۰/۰۰۳۹~ ۲/۰۰) (میلی‌لیتر/ میکروگرم) در محیط کشت، به ترتیب به عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده گردید. آزمایش فوق برای تمامی تیمارها و شاهدها در سه مرتبه تکرار انجام شد. همچنین به ازاء هر قارچ، سه محیط کشت خالص در سه لوله آزمایش، برای کنترل صحت رشد قارچ‌ها بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید، تهیه شد.[۱۵]

غربالگری فیتوشیمیایی اولیه: عصاره‌های اترنفتی و دی‌کلرومتانی از نظر فیتوشیمیایی برای تعیین وجود ترپنوئیدها، استرول‌ها و فلاونوئیدها طبق روش‌های استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند.

ردیابی استرول‌ها: برای این منظور از واکنش Liebermann–Burchard استفاده شد. ۲ میلی لیتر انیدرید استیک و ۲ قطره اسیدسولفوریک غلیظ به ۳ میلی‌لیتر از عصاره محلول در کلروفرم اضافه شد. تشکیل رنگ آبی یا سبز نشان‌دهنده وجود استروئیدها بود.[۱۶]

ردیابی ترپنوئیدها: ۰/۲ گرم از هر عصاره در ۶ میلی‌لیتر کلروفرم حل و صاف شد. سپس اسیدسولفوریک غلیظ به فیلتر اضافه شد تا یک لایه تشکیل شود. ایجاد رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز در حد فاصل دو فاز، برای حضور ترپنوئیدها مثبت در نظر گرفته شد.[۱۷]

ردیابی فلاونوئیدها: ۰/۲ گرم از هر عصاره در ۲ میلی‌لیتر اتانول محلول، حرارت داده و صاف شد. یک تراشه از فلز منیزیم به محلول اضافه و سپس چند قطره اسیدکلریدریک غلیظ به آن اضافه شد. بروز رنگ قرمز یا نارنجی نشان‌دهنده وجود فلاونوئیدها بود.[۱۸]

یافته‌ها

پانزده عصاره حاصل از اندام‌های هوایی سه گونه درمنه خراسانی، شرقی و معمولی، دامنه متفاوتی از فعالیت بازدارندگی را علیه چهار قارچ اپیدرموفیتون فلوکوزوم، تریکوفیتون روبروم، میکروسپوروم کانیس و تریکوفیتون وروکوزوم نشان دادند (جدول یک). میکروسپوروم کانیس حساسیت (۸۶/۶۶ درصد) و تریکوفیتون وروکوزوم مقاومت (۱۰۰ درصد) بیشتری را نسبت به عصاره‌های مورد آزمایش نشان دادند. دو قارچ اپیدرموفیتون فلوکوزوم و

جدول ۲ : حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌های حاصل از درمنه خراسانی، شرقی، معمولی و کنترل علیه چهار جدایه قارچی اپیدرموفیتون فلوکوزوم، تریکوفیتون روبروم، میکروسپوروم کانیس و تریکوفیتون وروکوزوم عامل درماتوفیتوزیس

متغیرها	عصاره	اپیدرموفیتون فلوکوزوم میکروگرم بر میلی‌لیتر	تریکوفیتون روبروم میکروگرم بر میلی‌لیتر	میکروسپوروم کانیس میکروگرم بر میلی‌لیتر	تریکوفیتون وروکوزوم میکروگرم بر میلی‌لیتر
درمنه خراسانی	اترنفتی	-	۶۲۵	۱۲۵۰	-
	دی کلرومتانی	-	۳۱۲/۵	۶۲۵	-
	اتیل استاتی	-	-	۱۵۶/۲۵	-
	اتانولی	-	-	۱۲۵۰	-
	هیدرواتانولی	-	-	-	-
درمنه شرقی	اترنفتی	۳۱۲/۵	۷۸/۱۲	۷۸/۱۲	-
	دی کلرومتانی	۳۱۲/۵	۷۸/۱۲	۷۸/۱۲	-
	اتیل استاتی	۶۲۵	۱۵۶/۲۵	۱۵۶/۲۵	-
	اتانولی	-	۶۲۵	۱۵۶/۲۵	-
	هیدرواتانولی	-	-	۱۲۵۰	-
درمنه معمولی	اترنفتی	۳۱۲/۵	۶۲۵	۱۵۶/۲۵	-
	دی کلرومتانی	۳۱۲/۵	۱۲۵۰	۱۲۵۰	-
	اتیل استاتی	-	-	۱۲۵۰	-
	اتانولی	۱۲۵۰	-	۳۱۲/۵	-
	هیدرواتانولی	-	-	-	-
کنترل	تربینافین	۰/۲۵	۰/۰۰۳۹	۰/۰۰۳۹	۰/۲۵

جدول ۳: نتایج غربالگری اولیه فیتوشیمیایی عصاره‌های اتر نفتی و دی کلرومتانی سه گونه گیاه درمنه

نام گیاه	نوع عصاره	استرول‌ها	ترپنوئیدها	فلاوونوئیدها
درمنه خراسانی	اتر نفتی	+	+++	-
درمنه خراسانی	دی کلرومتانی	+/-	++	+
درمنه شرقی	اتر نفتی	++	++++	-
درمنه شرقی	دی کلرومتانی	++	+	+++
درمنه معمولی	اتر نفتی	++	+++	-
درمنه معمولی	دی کلرومتانی	-	++	++

تریکوفیتون وروکوزوم مقاومت بالاتری را نسبت به تربینافین نشان دادند. به‌طوری که MIC ثبت شده برای آنها (۰/۲۵ μg/mL) در مقایسه با دو قارچ دیگر (۰/۰۰۳۹ μg/mL) بسیار بیشتر بود. در نتایج غربالگری اولیه، عصاره‌های مختلف درمنه خراسانی، شرقی و معمولی به ترتیب ۶ مورد، ۱۲ مورد و ۹ مورد مهار رشد قارچی را نشان دادند. عصاره‌های هیدرواتانولی علی‌رغم بیشترین بازدهی عصاره‌گیری، کمترین فعالیت ضددرماتوفیتی را در آزمایش‌ها نشان دادند. عصاره‌های اتر نفتی و دی کلرومتانی حاصل از هر سه گونه درمنه مورد مطالعه، اثر بازدارندگی علیه دو یا سه جدایه قارچی اعمال کردند که عصاره‌های دی‌کلرومتانی در تمام موارد حائز برتری نسبی بر عصاره‌های اتر نفتی از دید بازده عصاره‌گیری بودند. کمترین میزان غلظت بازدارنده (MIC) ۷۸/۱۲ میلی‌لیتر/میکروگرم از عصاره‌های اتر نفتی و دی کلرومتانی درمنه شرقی علیه دو قارچ تریکوفیتون روبروم و میکروسپوروم کانیس دیده شد (جدول ۲).

با توجه به جدول ۳، نتایج غربالگری فیتوشیمیایی اولیه عصاره‌های اتر نفتی و دی‌کلرومتانی عمدتاً حضور ترپنوئیدها را نشان داد. همچنین، میزان پاسخ به آزمون تشخیص حضور فلاونوییدها در عصاره‌های دی‌کلرومتانی درمنه‌های شرقی، معمولی و خراسانی به ترتیب کاهش یافت که این روند با تضعیف اثرات ضددرماتوفیتی این عصاره‌ها نسبتاً هم‌راستا بود (جدول ۲).

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، بیشترین بازده عصاره گیری به ترتیب متعلق به درمنه شرقی (۳۳ درصد)، درمنه معمولی (۳۲/۵ درصد) و درمنه خراسانی (۲۱/۱۸ درصد) تعیین شد. تمامی عصاره‌ها در مقایسه با نمونه کنترل (تربینافین) اثرات ضددرماتوفیتی ضعیف‌تری از خود نشان دادند. البته تربینافین نیز برای مهار رشد چهار درماتوفیت مورد بررسی اثر همانندی نداشت و اپیدرموفیتون فلوکوزوم و تریکوفیتون وروکوزوم مقاومت بیشتری به آن بروز دادند. عصاره‌های درمنه شرقی و درمنه خراسانی به ترتیب بیشترین و کمترین اثر مهار رشد قارچی را روی جدایه‌های قارچی مورد مطالعه نشان دادند.

گزارش‌هایی از افزایش ناگهانی در تعداد بیماران مبتلا به عفونت سرکش با میکروسپوروم کانیس وجود دارد.[۱۹] مقابله با پاتوژن یاد شده که در پژوهش کنونی گسترده‌ترین طیف حساسیت به

عصاره‌های گیاهی را نشان داد؛ دارای اهمیت زیادی در پزشکی و دامپزشکی است. چرا که به عنوان یک درماتوفیت حیوان دوست علاوه بر ایجاد بیماری در آنان، با حمله به میزبان انسانی باعث انواعی از کچلی در اندام‌ها مانند سر، بدن، ناخن و انگشتان می‌شود.[۲۰] اثربخشی داروهای شناخته شده نشانگر شکست درمان (تا ۴۰ درصد از بیماران مبتلا به این درماتوفیت) است که احتمالاً با پدیده مقاومت دارویی مرتبط است.[۲۱] حساسیت این پاتوژن به برخی عصاره‌ها و روغن فرار گونه‌های دیگری از درمنه در مطالعات اخیر گزارش شده است.[۲۲و۲۳] درمنه شرقی به عنوان موثرترین گونه علیه این درماتوفیت و سایر پاتوژن‌های بررسی شده در پژوهش حاضر، در یک مطالعه جامع در سنین مختلف رشد گیاه در ایران، اسانسی غنی از مونوترپن‌های اکسیژنه داشته است.[۲۴] این دسته از ترکیبات در اسانس گونه‌های دیگری از درمنه در مناطق دیگری از جهان مانند *A. frigida* و *A. cana* نیز به عنوان ترکیبات شاخص حضور داشته و احتمالاً نقش اصلی را در بروز اثرات ضددرماتوفیتی اسانس‌های یاد شده علیه میکروسپوروم کانیس و تریکوفیتون روبروم داشته‌اند.[۲۵]

به‌نظر می‌رسد با توجه به ساختار شیمیایی و قطبیت اندک مونوترپنوییدهای اکسیژنه، استخراج آنها توسط حلال‌های غیرقطبی و کم‌قطبی صورت پذیرفته و این موضوع نقش مهمی در اعمال اثرات ضددرماتوفیتی این عصاره‌ها داشته است که این نتایج هم‌راستا با مطالعه قبلی ما در مورد اثر ضددرماتوفیتی عصاره‌های مشابه سه گونه درمنه دیگر بود.[۱۵] نتایج بررسی فیتوشیمیایی اولیه در مطالعه کنونی نیز نشان از حضور ترکیبات ترپنوئیدی در این عصاره‌ها دارد. نتایج مثبت مطالعات مربوط به این دسته از ترکیبات برای ارزیابی فعالیت ضدقارچی نیز تایید کننده این مطلب است.[۲۶و۲۷] همچنین برتری عصاره‌های چربی دوست حاصل از گونه‌های مختلف این جنس در مقایسه با عصاره‌های قطبی‌تر در آزمون‌های زیستی مختلفی مانند ارزیابی سمیت سلولی و اثرات ضد مالاریا اثبات شده است.[۲۸و۲۹] در یک مطالعه ارزیابی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس تهیه شده از اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه درمنه معمولی، برتری اثرات اسانس تهیه شده از اندام‌هوایی را روی میکروارگانیسم‌های پاتوژن نشان داد که این اثرات رابطه مستقیمی با مقدار ترکیبات مونوترپنی اکسیژن‌دار شامل ۱،۸ سینئول و بتا-توجون موجود در اسانس اندام هوایی داشت.[۳۰]

عصاره‌های دی کلرومتانی درمنه‌های خراسانی، شرقی و معمولی مطالعه ما حضور مقادیری از فلاونوییدها را در غربالگری فیتوشیمیایی نشان دادند که این موضوع هم راستا با نتایج مطالعاتی مبنی بر اثر ضددرماتوفیتی فلاونوییدها است.[۳۰و۳۱] فلاونوییدها اغلب با مکانیسم‌های مختلف، همچون اختلال در غشای پلاسمایی و عملکرد میتوکندری و مهار تشکیل دیواره سلولی، تقسیم سلولی، ساخت RNA و پروتئین، رشد قارچ را مهار می‌کنند.[۳۲]

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، برخی ترکیبات چربی دوست مانند مونوترپنوییدهای اکسیژنه و فلاونوییدهای غیرگلیکوزیله در عصاره‌های مختلف به ویژه عصاره‌های اتر نفتی و دی کلرومتانی درمنه شرقی فعالیت برون‌تنی ضددرماتوفیتی وابسته به غلظت دارند. مطالعات تکمیلی و همچنین آنالیز دقیق فیتوشیمیایی این عصاره‌ها برای تعیین ساختار شیمیایی ترکیبات موثره برای بررسی بیشتر اثر ضددرماتوفیتی امری ضروری به‌نظر می‌رسد. با توجه به نتایج و بازده بیشتر عصاره‌های دی کلرومتانی نسبت به عصاره‌های اتر نفتی در سه گونه درمنه مورد مطالعه، بررسی ترکیبات موجود در عصاره دی‌کلرومتانی درمنه شرقی در اولویت است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که برخی ترکیبات چربی دوست موجود در عصاره‌های مختلف به ویژه عصاره‌های اتر نفتی و دی کلرومتانی درمنه شرقی فعالیت قابل توجه برون‌تنی ضددرماتوفیتی دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه آقای محمدمهدی حسینی برای اخذ درجه دکتری حرفه‌ای در رشته داروسازی از دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه بود. بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به خاطر حمایت مالی تشکر می‌نماییم. بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

References

1. Neji S, Makni F, Cheikhrouhou F, Sellami A, Sellami H, Marreckchi S, et al. Epidemiology of dermatophytoses in Sfax, Tunisia. Mycoses. 2009 Nov;52(6):534-38. doi: 10.1111/j.1439-0507.2008.01651.x.

2. Achterman RR, White TC. Dermatophyte virulence factors: identifying and analyzing genes that may contribute to chronic or acute skin infections. Int J Microbiol. 2012;2012:358305. doi: 10.1155/2012/358305.

3. Sharma V, Kumawat KT, Sharma A, Seth R, Chandra S. Dermatophytes: Diagnosis of dermatophytosis and its treatment. African Journal of Microbiology Research. 2015;9(19):1286-93. doi: 10.5897/AJMR2015.7374.

4. AL-Khikani FHO. Dermatophytosis a Worldwide Contiguous Fungal Infection: Growing Challenge and Few Solutions. Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ). 2020;4(2):117-22. doi:10.4103/bbrj.bbrj_1_20.

5. Bell-Syer SE, Hart R, Crawford F, Torgerson DJ, Tyrrell W, Russell I. Oral treatments for fungal infections of the skin of the foot. Cochrane Database Syst Rev. 2002;(2):CD003584. doi: 10.1002/14651858.CD003584.

6. Mikaeili A, Mahmodi A, Rezaei M, Ebrahimi A. [The dermatophytes species frequency in referral patients to medical mycology lab of Kermanshah-2012]. Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences. 2015;57(9):990-94. doi: 10.22038/mjms.2015.3876. [Article in Persian]

7. Gupta AK, Cooper EA. Update in antifungal therapy of dermatophytosis. Mycopathologia. 2008 Nov-Dec;166(5-6):353-

67. doi: 10.1007/s11046-008-9109-0.

8. Aglarova AM, Zilfikarov IN, Severtseva OV. Biological characteristics and useful properties of tarragon (Artemisia dracunculus L.) (review). Pharm Chem J. 2008;42:81-86. doi: 10.1007/s11094-008-0064-3.

9. The Herb Society of America. Artemesia: An Essential Guide 2014; The Herb Society of America: Kirtland, OH, USA, 2014.

10. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. 7th ed. Tehran: Farhang Moaser Publishers. 2013; pp. 190-210.

11. Bora KS, Sharma A. The genus Artemisia: a comprehensive review. Pharm Biol. 2011 Jan;49(1):101-109. doi: 10.3109/13880209.2010.497815.

12. Obistioiu D, Cristina RT, Schmerold I, Chizzola R, Stolze K, Nichita I, et al. Chemical characterization by GC-MS and in vitro activity against Candida albicans of volatile fractions prepared from Artemisia dracunculus, Artemisia abrotanum, Artemisia absinthium and Artemisia vulgaris. Chem Cent J. 2014 Jan;8(1):6. doi: 10.1186/1752-153X-8-6.

13. Blagojević P, Radulović N, Palić R, Stojanović G. Chemical composition of the essential oils of serbian wild-growing Artemisia absinthium and Artemisia vulgaris. J Agric Food Chem. 2006 Jun;54(13):4780-89. doi: 10.1021/jf060123o.

14. Monwar S, Hossain MA, Boby F, Begum H, Begum N. Diagnosis of Dermatophytosis by Conventional Methods and Comparatative analysis of Sabouraud Dextrose Agar and Dermatophyte Test Medium for Isolation of Dermatophytes. Mymensingh Med J. 2017 Apr;26(2):293-99.

15. Mikaeili A, Ghasemi S, Salmani S, Modarresi M, Mojarrab M. [Antifungal effects of various extracts from three Artemisia species against dermatophytosis fungal agents]. J Birjand Univ Med Sci. 2023;30(1):33-43. [Article in Persian]

16. Alamgir A. Therapeutic use of medicinal plants and their extracts. 1st ed. New York: Springer. 2017; pp: 721, 729, 790.

17. Patil AS. Plant Secondary Metabolites: Isolation, Characterization & Biological Properties. 1st ed. New Delhi: Studera Press. 2020; p:86.

18. Aiyegoro OA, Okoh AI. Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract of Helichrysum longifolium DC. BMC Complement Altern Med. 2010 May;10:21. doi: 10.1186/1472-6882-10-21.

19. Mahajan S, Tilak R, Kaushal SK, Mishra RN, Pandey SS. Clinico-mycological study of dermatophytic infections and their sensitivity to antifungal drugs in a tertiary care center. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2017 Jul-Aug;83(4):436-40. doi: 10.4103/ijdvl.IJDVL_519_16.

20. Ginter-Hanselmayer G, Weger W, Ilkit M, Smolle J. Epidemiology of tinea capitis in Europe: current state and changing patterns. Mycoses. 2007;50 Suppl 2:6-13. doi: 10.1111/j.1439-0507.2007.01424.x.

21. Aneke CI, Otranto D, Cafarchia C. Therapy and Antifungal Susceptibility Profile of Microsporum canis. J Fungi (Basel). 2018 Sep;4(3):107. doi: 10.3390/jof4030107.

22. Akhil GC, Usha NP, Madhavan UN. In vitro anti-dermatophytic activity of essential oil extracted from Artemisia japonica Thunb. The Pharma Innovation Journal. 2022; 11(1S): 862-64.

23. Razzaq Mohammed F, Hameed Abboud Z, Ali Hussein K. Effects of some plants extracts in growth of some dermatophytes. Journal of Kerbala University. 2023;20(1):99-114.

24. Mirjalili MH, Tabatabaei SMF, Hadian J, Nejad Ebrahimi S, Sonboli A. Phenological Variation of the Essential Oil of Artemisia scoparia Waldst. et Kit from Iran. Journal of Essential Oil Research. 2007;19(4):326-29. doi: 10.1080/10412905.2007.9699294.

25. Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS, Kolodziejczyk PP. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. Phytochemistry. 2008 May;69(8):1732-38. doi: 10.1016/j.phytochem.2008.02.014.

26. Vlatka V, Snežana T, Peđa J, Marina S, Slobodan M, Vele T. Antifungal activity of davanone-type sesquiterpenes from Artemisia lobelli var. conescens. Journal of the Serbian Chemical Society. 2004;69(11):969-72. doi: 10.2298/JSC0411969V.

27. Tan RX, Lu H, Wolfender JL, Yu TT, Zheng WF, Yang L, et al. Mono- and sesquiterpenes and antifungal constituents from Artemisia species. Planta Med. 1999 Feb;65(1):64-67. doi: 10.1055/s-1999-13965.

28. Mojarrab M, Shiravand A, Delazar A, Heshmati Afshar F. Evaluation of in vitro antimalarial activity of different extracts of Artemisia aucheri Boiss. and A. armeniaca Lam. and fractions of the most potent extracts. ScientificWorldJournal. 2014 Jan;2014:825370. doi: 10.1155/2014/825370.

29. Taghizadeh Rabe SZ, Mahmoudi M, Ahi A, Emami SA. Antiproliferative effects of extracts from Iranian Artemisia species on cancer cell lines. Pharm Biol. 2011 Sep;49(9):962-69. doi: 10.3109/13880209.2011.559251.

30. Zhou R, Dzomba P, Gwatidzo, L. Chemical profiling of antifungal Dicerocaryum senecioides and Diospyros mespiliformis extracts using TLC-p-iodonitrotetrazolium violet assay and GC–MS/MS. Futur J Pharm Sci. 2023;9:112. doi: 10.1186/s43094-023-00565-2.

31. Rajendra Prasad N, Anandi C, Balasubramanian S, Pugalendi KV. Antidermatophytic activity of extracts from Psoralea corylifolia (Fabaceae) correlated with the presence of a flavonoid compound. J Ethnopharmacol. 2004 Mar;91(1):21-24. doi: 10.1016/j.jep.2003.11.010.

32. Aboody MSA, Mickymaray S. Anti-Fungal Efficacy and Mechanisms of Flavonoids. Antibiotics (Basel). 2020 Jan;9(2):45. doi: 10.3390/antibiotics9020045.