

بررسی اثرات ضد درماتوفیتی عصاره متانولی ده گیاه دارویی

سیدامین آیت‌اللهی موسوی^۱، دکتر عبدالهی^۱ و نادیا کاظمی پور^۲

خلاصه

در این تحقیق اثرات ضد درماتوفیتی عصاره‌های ۱۰ گیاه دارویی شامل: مورد، ریواس، گل زرد، حنا، آب‌نیل، بومادران، سدر، ختمی (پتیرک)، گزنه و بابا آدم که در طب سنتی ایران مورد استفاده می‌باشند، بر روی سه قارچ درماتوفیت: تریکوفایتون منتاگروفیتیس، میکروسپوروم جیپسوم و میکروسپوروم کانیس در شرایط برون‌تنی (*in vitro*) بررسی شده است. عصاره‌های برگ، ریشه یا گل گیاهان بر حسب مورد، توسط متانول استخراج گردید و مقدار مناسبی از عصاره در اتانول ۷۰٪ حل شد و قبل از استریلیزاسیون به محیط کشت سابورد کستروز آگار اضافه گردید. سپس قارچ‌های مورد آزمایش، در لوله‌های حاوی محیط کشت و عصاره گیاه تلقیح شدند. با سنجش میزان حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده قارچ (MFC) برای هر عصاره و مقایسه آنها با داروی گریزوفلووین، همه عصاره‌های گیاهی اثرات ضد قارچی قابل توجهی از خود نشان دادند و عصاره گیاه "مورد" به عنوان مؤثرترین عصاره در این بررسی تشخیص داده شد. جهت تکمیل اهداف تحقیق، به منظور تعیین اثرات ضد قارچی عصاره گیاه "مورد" در شرایط درون‌تنی (*in vivo*) یک سری آزمایشات بر روی نه خوکچه هندی انجام شد. حیوانات مورد آزمایش توسط سوسپانسیون قارچی آلوده شدند و پس از بروز علائم بیماری هر یک جداگانه با پماد ۱٪ تهیه شده از عصاره گیاه "مورد"، داروی ۱٪ کلوتریمازول (به عنوان شاهد مثبت) یا وازلین (به عنوان شاهد منفی) تحت درمان قرار گرفتند، که میانگین طول درمان پماد ۱٪ عصاره مورد به مراتب کمتر از پماد ۱٪ کلوتریمازول بود، ضمن اینکه شاهد منفی (وازلین) تا پایان دوره درمان هیچ‌گونه اثر درمانی از خود نشان نداد.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، اثرات ضدقارچی، درماتوفیت‌ها

۱- عضو هیأت علمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان

۲- عضو هیأت علمی، دانشگاه آزاد اسلامی کرمان

مقدمه

گیاهان به عنوان منابع لایزال مواد آلی هدایای گرانبهای الهی هستند که انسان، حیوانات و بسیاری از میکروارگانیسم‌ها به آنها وابسته‌اند. در این میان داروهای مشتق شده از گیاهان و کاربرد آنها در تسکین دردهای بشری چه در طب سنتی و چه در پزشکی جدید ارزش آنها را صد چندان می‌کند، هر چند که رمز و راز نهفته در این مظاهر جمال خالق، شاید هرگز به طور کامل برای ما فاش نشود.

مدارک مربوط به بیش از ۹۲۰۰ نمونه گیاهی در مرکز آمار و اطلاعات دانشگاه ایلی‌نویز در آمریکا جمع‌آوری شده که شامل گیاهان تک‌لپه‌ای، دولپه‌ای، بازدانه‌ای، سرخس‌ها، خزها و گل‌سنگ‌ها می‌باشد. در طب سنتی چین نیز بین ۵۰۰۰ تا ۳۵۰۰۰ نوع گیاه به عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷).

سازمان بهداشت جهانی (W.H.O) استفاده از طب سنتی را به دلایل زیر لازم می‌داند:

الف) مراقبت‌های بهداشتی بسیاری از مردم دنیا وابسته به طب سنتی می‌باشد.

ب) پزشکان طب سنتی، منابع مهمی برای ارائه مراقبت‌های بهداشتی در جامعه هستند.

ج) گیاهان دارویی از مهم‌ترین منابع تأمین‌کننده بهداشت فرد و جامعه هستند.

طبق مطالعات سازمان بهداشت جهانی ۸۰٪ مردم دنیا به طب سنتی اعتماد دارند و قسمت وسیعی از درمان در طب سنتی با استفاده از عصاره‌های گیاهی و ترکیبات فعال آنها انجام می‌شود (۸).

بررسی‌های زیادی در زمینه اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی صورت گرفته است. از جمله تحقیق ناکوی (Naqvi) و همکارانش بر روی عصاره‌های ۱۷۶ گیاه دارویی مربوط به ۳۷ خانواده در هندوستان که جهت مطالعه اثرات ضد باکتری، ضد قارچی و ضد کرم در شرایط برون‌تنی انجام شده است و طی آن فعالیت ضد باکتریایی (غالباً علیه باکتری‌های گرم مثبت) در ۴۹ گیاه، اثرات ضد قارچی بر روی قارچ‌های سطحی، جلدی و زیر جلدی در ۸ گیاه و اثرات ضد کرمی فقط در ۲ گیاه اصلی دیده شده است. بیشترین اثر ضد قارچی از گیاه *Artemisia Scoparia* گزارش شده است و در نتیجه این بررسی، ده گیاه دارویی برای تحقیقات بیشتر و مطالعه در شرایط درون‌تنی معرفی شده‌اند (۱۰).

تحقیق دیگری توسط خان و همکارانش بر روی ۱۲۴ عصاره گیاهی که در آفریقای غربی برای درمان به کار می‌رفته، انجام شده

است که ۳۹٪ از این گیاهان مانع رشد قارچ‌های تریکوفایتون متاگروفیتیس و کاندیدا آلبیکنس شده‌اند و از بین آنها، گیاهان *Harrisonia abyssinia* و *Solanum inconum* دارای بیشترین اثر ضد قارچی بوده‌اند (۱۱).

تحقیق دیگری در هندوستان در باره اثرات ضد قارچی عصاره ۳۴ گیاه هندی بر روی قارچ‌های *Colletotrichum Falcatum*, *Helminthosporium sativum* و *Fusarium oxysporum* در شرایط برون‌تنی انجام گرفته که طی آن گیاهان را آب‌گیری کرده، پس از صاف نمودن و سانتریفوژ کردن، عصاره را با محیط کشت (PCA) Potato-Carrot Agar مخلوط کرده، سپس اتوکلاو نمودند.

نتایج به دست آمده از اثرات ضد قارچی این گیاهان نشان می‌دهد که عصاره گیاه *Thalicttrum javanicum* به طور کامل مانع رشد هر سه قارچ گردیده و عصاره گیاهان خارخسک، پیاز و نـخود، (*Argemone mexicana*, *Euphorbia tiracalli*)، *Opuntia delteni* تا حد زیادی مانع رشد قارچ‌های مذکور شده و تعدادی از عصاره‌های گیاهی مانع رشد دو قارچ و تعدادی دیگر از گیاهان تنها از رشد قارچ *H. Sativum* جلوگیری کرده‌اند. در مجموع از ۳۴ عصاره گیاهی ۲۵ مورد دارای اثرات ضد قارچی قابل ملاحظه‌ای بودند (۱۲).

تحقیق دیگری در مورد خواص گوناگون عصاره برگ آلاله نشان می‌دهد که این گیاه خواص ضد قارچی خود را تا یکصد درجه سانتی‌گراد حفظ نموده و حتی پس از اتمام زمان اتوکلاو، دارای اثرات ضد قارچی می‌باشد. این عصاره دارای خاصیت قارچ‌کشی بالا و فعالیت در طیف وسیعی از pH می‌باشد و هیچ گونه فعالیت فیتوتوکسی سیتی از آن دیده نشده است (۹).

در بیان اهمیت تحقیقات ضد قارچی همین بس که متأسفانه هنوز انسان به عوامل ضد قارچی ایده‌آل دست نیافته است. علاوه بر این، به علت بروز پدیده مقاومت قارچی، که خود جستجو و تولید داروهای ضد قارچی جدیدی را طلب می‌کند و به علت عوارض جانبی و سمیت اکثر داروهای ضد قارچ موجود، شایسته است از توان ضد قارچی ذاتی گیاهان در این زمینه بهره گرفته شود تا شاید بتوان داروهایی با منشأ گیاهی برای غلبه بر بیماری‌های قارچی به دست آورد (۱).

بنابراین امروزه دانشمندان در تلاشند با استخراج و تخلیص ترکیبات موجود در گیاهان، از اثرات متضاد فارماکولوژیکی مواد مختلف آنها (در صورت وجود) جلوگیری نمایند (۲).

تحقیق و بررسی حاضر با توجه به این نکته طراحی و انجام شده که عفونت‌های جلدی از شایع‌ترین بیماری‌های انسانی

در ابتدا هر گیاه از علف‌های هرز احتمالی و دیگر آلودگی‌های ظاهری که موقع جمع‌آوری و نگهداری گیاه به وجود می‌آید پاک شده، سپس با آسیاب برقی پودر شدند. ۱۰۰ گرم از گیاه پودر شده به دقت توزین و درون یک بشر بزرگ (یک لیتری) ریخته شد و ۵۰۰ میلی‌لیتر متانول (ساخت شرکت Merck) به آن اضافه گردید. مخلوط فوق توسط یک همزن لوری کاملاً هم‌زده شده، سپس ساکن و بی‌حرکت قرار داده شد. عمل مخلوط نمودن به مدت یک هفته هر روز چند دقیقه انجام گرفت. نهایتاً محلول رویی را از کاغذ صافی عبور داده و محلول به دست آمده توسط دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ شد.

قارچ‌های مورد آزمایش، شامل *تریکوفایتون متاگروفیتیس* (PTCC: ۵۰۵۴)، *میکروسپوروم جیپسوم* (PTCC: ۵۰۷۰) و *میکروسپوروم کانیس* (PTCC: ۵۰۶۹)، از مجموعه قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و پزشکی ایران وابسته به مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (Persian Type Culture Collection=PTCC) تهیه شدند.

تعیین میزان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد برای عصاره‌های تام بدین صورت انجام شد، که ابتدا ۷۰۰ میلی‌گرم از عصاره تام در ۱/۴ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ حل و محلولی با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ایجاد شد. سپس با افزودن ۰/۱ میلی‌لیتر از این محلول به لوله‌های آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر

محسوب می‌شوند که در میان آنها درماتوفیتوز یا کچلی جایگاه خاصی دارد. این عفونت‌ها توسط گروهی از قارچ‌های کراتینوفیلیک به نام درماتوفیت‌ها ایجاد می‌گردند که در تمام نقاط دنیا انتشار دارند و هیچ نقطه جغرافیایی، عاری از وجود آنها گزارش نشده است (۵). در این بررسی از قسمت‌های مختلف ۱۰ گیاه دارویی مورد استفاده در طب سنتی ایران که برای درمان بیماری‌های جلدی به کار می‌روند استفاده گردید (۱،۲،۴،۶).

روش بررسی

جهت بررسی اثرات ضد قارچی عصاره‌های متانولی حاصل از ده گیاه دارویی (جدول ۱) بر روی سه قارچ *تریکوفایتون متاگروفیتیس*، *میکروسپوروم جیپسوم* و *میکروسپوروم کانیس* (به عنوان مهمترین عوامل ایجاد کچلی) ابتدا با سنجش میزان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (Minimum Inhibitory Concentration=MIC) و میزان حداقل غلظت قارچ‌کش (Minimum Fungicidal Concentration= MFC) آنها و سپس با بررسی کارایی مؤثرترین عصاره گیاهی در شرایط درون‌تنی اهداف این تحقیق پی‌گیری شد. این گیاهان از مرکز فروش گل‌ها و گیاهان شفا بخش عطاری سنتی تهرانی در کرمان تهیه گردیده و توسط بخش گیاه‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید باهنر کرمان، مورد ارزیابی و تأیید قرار گرفتند.

جدول ۱: فهرست گیاهان مورد بررسی

ردیف	نام در بازار دارویی	قسمت مورد آزمایش	نام تیره	نام علمی
۱	مورد	برگ	Myrtaceae	<i>Myrtus communis</i>
۲	ریواس	میوه	Polygonaceae	<i>Rheum ribes</i>
۳	گل زرد	گل	Rosaceae	<i>Rosa factida</i>
۴	حنا	برگ	Lythraceae	<i>Lawsonia inermis</i>
۵	ابهل	دانه	Cupressaceae	<i>Juniperus sabina</i>
۶	بومادران	گل	Compositae	<i>Achillea millefolium</i>
۷	سدر	برگ	Rhamnaceae	<i>Zizyphus spina-christi</i>
۸	خنمی (بنبرک)	گل	Malvaceae	<i>Malva silvestris</i>
۹	بابا آدم	ریشه	Compositae	<i>Arctium lappa</i>
۱۰	گزنه	برگ	Urticaceae	<i>Urtica dioica</i>

قسمت اعظم الکل افزوده شده در طول اختلاط تبخیر گردید. در این بررسی خوکچه‌هندی (Guniea pig) به عنوان حیوان آزمایشگاهی انتخاب و مورد مطالعه قرار گرفت.

بدین منظور ۹ خوکچه‌هندی نر سالم با وزن تقریبی ۳۷۰ گرم و سنی حدود ۲ ماه از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان تهیه شد. خوکچه‌ها دقیقاً مورد مطالعه قرار گرفتند تا در صورت وجود هرگونه پلاک یا ریزش مو حذف شوند و هر خوکچه به طور مستقل در یک قفس کاملاً تمیز و ضد عفونی شده قرار داده شد. حیوانات مورد آزمایش به صورت اتفاقی به سه گروه سه تایی تقسیم و هر گروه برای یک قارچ اختصاص یافت. پس از کوتاه نمودن موهای قسمت پشت گردن (بین دو کتف) تمام خوکچه‌ها با یک فیچی استریل، و تراشیدن ناحیه مورد نظر، با لبه تیز یک اسکالپل استریل تعدادی خراش میکروسکوپی در جهات مختلف ایجاد گردید و به وسیله سوآپ استریل، سوسپانسیون قارچی تهیه شده به این ناحیه تلقیح شد. با پیدایش علائم بالینی، به منظور اثبات استقرار درماتوفیت‌ها در نواحی مربوط، نمونه برداری با دو روش زیر صورت گرفت:

الف) تعدادی از پوسته‌ها و موها با موچین استریل برداشته شده و در پلیت استریل جمع‌آوری گردیدند، پس از قرار دادن تعدادی از موها بر روی لام یک قطره پتاس ۱۰٪ یا لاکتوفنل بر روی آنها ریخته شد و بعد از پوشاندن آنها با لامل توسط میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ یا ۴۰۰ (برای مشاهده اسپور) مورد بررسی قرار گرفتند.

ب) یک قطعه گاز استریل خشک را چندین بار به شدت به پشت حیوان مالش داده و بلافاصله با تکان دادن آن در سطح محیط سابورودکستروزاگار حاوی سیکلوهگزامید و کلرامفنیکل (SCC) نمونه در پلیت کشت داده شد. پلیت‌های مربوط در ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و کشت‌ها به مدت سه هفته هر روز برای مشاهده کلنی قارچ مورد نظر، بررسی شدند.

پس از تأیید عفونت به وسیله دو روش فوق (بررسی مستقیم و کشت)، از هر گروه یک حیوان آلوده، با پماد "مورد" ۱٪، یک حیوان آلوده، با کرم کلوتریمازول ۱٪ (به عنوان شاهد مثبت) و یک حیوان آلوده نیز با وازلین (به عنوان شاهد منفی) تحت درمان قرار گرفتند.

پمادها و وازلین هر روز دو بار، صبح و عصر با آبسلانگ استریل به ناحیه آلوده حیوانات مذکور تا زمانی که آلودگی مشهود بود، مالیده شد که در صورت بهبودی کامل درمان قطع می‌گردید.

محیط کشت سابورودکستروزاگار مذاب (در درجه حرارت ۴۵ درجه سانتی‌گراد)، عصاره‌ای با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. برای تهیه غلظت‌های دیگر، میزان عصاره یا حجم محلول به طور متناسب تغییر داده شد در این آزمایش برای هر قارچ دو لوله (برای هر غلظت عصاره به صورت دوپل) و نیز دو لوله حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت سابورودکستروزاگار به عنوان شاهد ساده و دو لوله حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت و ۱/۰ میلی‌لیتر اتانول به عنوان شاهد هیدروالکلی تهیه گردید که پس از اتوکلاو نمودن برای تلقیح مورد استفاده قرار گرفتند.

تلقیح قارچ‌های مورد آزمایش بر روی محیط‌های کشت به روش اسپتیک و با رعایت اصول ایمنی صورت گرفت. لوله‌ها در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و کشت‌ها به مدت سه هفته هر روز بررسی شدند. بدین ترتیب نتایج میزان رشد قارچ‌ها به طور ظاهری به صورت ++++(۱۰۰٪)، +++(۷۵٪)، ++(۵۰٪)، +(۲۵٪) - (بدون هیچ گونه رشد) در مقایسه با شاهد (بدون حضور مواد بازدارنده) ثبت گردید (۱۲). پس از ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر روی سه قارچ مورد مطالعه، میزان MIC مربوط به هر گیاه و هر قارچ با توجه به آخرین رقت هر عصاره که از رشد قارچ ممانعت کامل کرده بود مشخص گردید. سپس از اولین لوله‌های ممانعت‌کننده از رشد قارچ و لوله‌های قبل از آن (به طرف غلظت بالا) دقیقاً از محلی که قارچ کشت داده شده بود در شرایط استریل توسط آتس‌سوزنی نمونه برداری و روی محیط کشت سابورودکستروزاگار تلقیح شد و پس از انکوباسیون در زمان مقرر میزان MFC برای هر مورد غلظتی که در نمونه مربوط هیچ گونه رشدی از قارچ مشاهده نگردید منظور شد.

به منظور مقایسه اثرات ضدقارچی عصاره‌های گیاهی با داروی شناخته شده گریزئوفولونین Griseofulvin، میزان MIC و MFC این دارو با استفاده از قرص‌های ۱۲۵ میلی‌گرمی آن مطابق روش فوق تعیین گردید. با توجه به نتایج به دست آمده از بررسی اثرات ضدقارچی عصاره‌های متانولی ۱۰ گیاه مورد آزمایش در شرایط برون‌تنی، بر روی سه درماتوفیت ذکر شده که نشانگر اثرات ضدقارچی وسیع‌تر عصاره برگ "مورد" (*myrtus communis*) نسبت به بقیه موارد بود، ادامه بررسی در شرایط درون‌تنی منحصرأ بر روی عصاره این گیاه صورت گرفت. برای تهیه پماد ۱٪ از عصاره برگ "مورد"، ۱ گرم از عصاره گیاه "مورد" به طور دقیق با ترازو وزن شده و در هاون شیشه‌ای با ۵ میلی‌لیتر اتانول کاملاً مخلوط گردید. پس از انحلال، با وازلین به گونه‌ای مخلوط شد که وزن کل به ۱۰۰ گرم رسید.

نتایج

نتایج به دست آمده از سنجش حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد قارچ و حداقل غلظت قارچ کش ۱۰ گیاه مورد آزمایش و داروی گریزئوفولین بر روی سه قارچ تریکوفایتون متناگروفیتیس، میکروسپوروم جیپسوم و میکروسپوروم کانیس در نمودار ۱ و ۲ نشان داده شده است.

در نمودار ۱ میزان MIC عصاره گیاه 'مورد' برای قارچ‌های فوق‌الذکر به ترتیب معادل ۱/۲۵، ۱/۲۵ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و میزان MIC داروی گریزئوفولین برای آنها به ترتیب معادل ۴، ۵ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است. همچنین در این نمودار میزان MIC عصاره گیاه بابا آدم بر روی این سه قارچ به ترتیب معادل ۳۱/۲۵، ۳۲/۵ و ۲۵/۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد. لازم به ذکر است که در تمام سنجش‌های MFC و MIC در لوله‌های ساده و الکلی هیچ‌گونه اختلافی از نظر رشد قارچ دیده نشد.

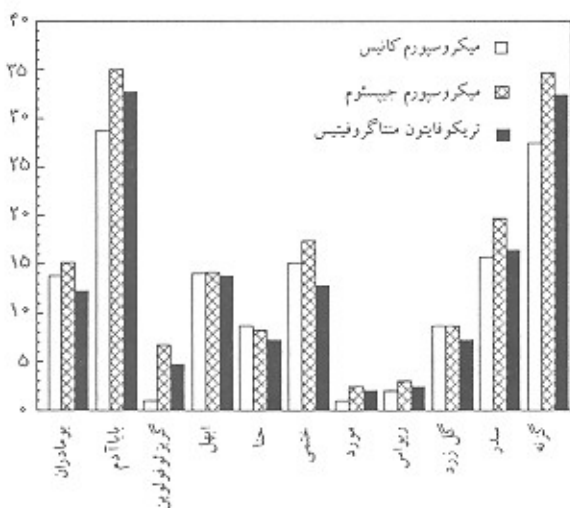
در نمودار ۲ میزان MFC عصاره گیاه 'مورد' بر روی این سه قارچ به ترتیب معادل ۲، ۲/۵ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و میزان MFC داروی گریزئوفولین بر روی آنها به ترتیب معادل ۴/۷۵، ۶/۷۵ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است. همچنین میزان MFC عصاره گیاه بابا آدم بر روی سه قارچ فوق به ترتیب معادل ۳۲/۷۵، ۳۵ و ۲۸/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد.

باید توجه داشت که میزان MIC و MFC در این نمودارها با شدت اثر ضد قارچی عصاره‌ها و داروی گریزئوفولین نسبت عکس دارد، بدین معنی که عصاره گیاه 'مورد' که دارای کمترین میزان MIC و MFC نسبت به بقیه گیاهان و داروی گریزئوفولین است، دارای بیشترین اثر ضد قارچی، و گیاه بابا آدم که دارای بیشترین میزان MIC و MFC است دارای کمترین اثر ضد قارچی می‌باشد.

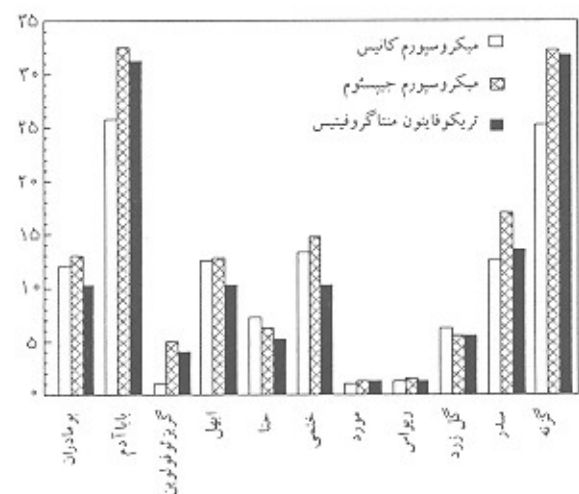
جدول ۲ نتایج ایجاد آلودگی قارچی در ناحیه پشت خوکچه هندی و بررسی اثر درمانی پماد ۱٪ عصاره برگ 'مورد' را نشان می‌دهد.

در این بررسی میانگین زمان بروز علائم بیماری در خوکچه‌هایی که با تریکوفایتون متناگروفیتیس و میکروسپوروم‌ها آلوده شده بودند به ترتیب ۹ روز و ۱۲ روز بود.

نتایج درمانی نشان می‌دهد که مدت زمان ظهور اثر پماد 'مورد' ۱٪ در خوکچه‌هایی که به تریکوفایتون متناگروفیتیس آلوده بودند ۲۲ روز، برای میکروسپوروم کانیس ۱۲ روز و برای میکروسپوروم جیپسوم ۱۰ روز می‌باشد، در صورتی که این زمان برای کلوتریمازول در تریکوفایتون متناگروفیتیس ۲۶ روز، میکروسپوروم کانیس ۱۹ روز و میکروسپوروم جیپسوم ۱۰ روز بود و وازلین تا پایان این دوره هیچ اثر درمانی نداشت.



نمودار ۲: نتایج سنجش میزان حداقل غلظت قارچ‌کش عصاره‌های ده گیاه مورد آزمایش و داروی گریزئوفولین بر روی سه قارچ تریکوفایتون متناگروفیتیس، میکروسپوروم جیپسوم و میکروسپوروم کانیس



نمودار ۱: نتایج سنجش میزان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد عصاره‌های ده گیاه مورد آزمایش و داروی گریزئوفولین بر روی سه قارچ تریکوفایتون متناگروفیتیس، میکروسپوروم جیپسوم و میکروسپوروم کانیس

جدول ۲: نتایج ایجاد آلودگی قارچی در ناحیه پشت خوکچه هندی و بررسی اثر درمانی پماد عصاره "مورد" ۱٪

نوع قارچ	میانگین زمان بروز علائم بیماری پس از تلقیح (روز)	بهبودی با پماد مورد (روز)	بهبودی با کرم کلوتریمازول (روز) (شاهد مثبت)	درمان با وازلین پس از یک ماه (شاهد منفی)
تریکوفایتون متاگروفیتیس	۹	۲۲	۲۶	*
میکروسپوروم کانیس	۱۲	۱۲	۱۹	*
میکروسپوروم جیبسوم	۱۲	۱۰	۱۰	*

* هیچ‌گونه بهبودی مشاهده نگردید.

بحث و نتیجه گیری

عفونت‌های درماتوفیتی از شایع‌ترین بیماری‌های قارچی در دنیا هستند که درمان آنها عموماً با داروهای صنایع خوراکی و موضعی صورت می‌گیرد. مقاومتی که گونه‌های مختلف درماتوفیت‌ها در مقابل این داروها از خود نشان داده‌اند، همچنین بروز اثرات جانبی ناشی از مصرف این داروها، طولانی بودن مدت درمان و بار مالی نسبتاً سنگین آنها توجه محققان را به یافتن داروهای ثمربخش با اثرات جانبی کمتر معطوف نموده است، تا شاید داروهای تهیه شده از گیاهان بتوانند جانشین مناسبی برای درمان این بیماری‌ها باشند. در حال حاضر از مجموع قریب ۵۰۰۰۰۰۰ گونه گیاهی تنها بر روی تعداد کمی از آنها که دارای فعالیت ضدقارچی هستند بررسی صورت گرفته است و احتیاج به بررسی‌های بیشتر بر روی گیاهان به شدت احساس می‌شود (۱۲).

هدف اصلی این تحقیق بررسی اثرات ضدقارچی عصاره‌های گیاهی بر روی سه قارچ درماتوفیت مورد آزمایش بود که به این منظور روش رقت لوله‌ای برگزیده شد.

از آنجاکه در این بررسی احتمال داشت متانول (حلال مورد استفاده در عصاره گیری) در جلوگیری از رشد قارچ‌ها مؤثر باشد، جهت خارج نمودن کامل متانول و بالابردن دقت عمل، ابتدا توسط دستگاه تقطیر در خلاء و سپس با باز نگه داشتن درب ظروف حاوی عصاره‌ها، متانول از محیط خارج گردید. همانطور که در روش کار بیان گردید برای حل کردن عصاره از اتانول ۷۰٪ استفاده شده، تا عصاره به طور یکنواخت و با غلظت مشخص در محیط کشت پخش گردد که در این مرحله نیز اتانول متعاقب اتوکلاو خارج شدند. بنابراین نقش و عمل حلال‌های مورد استفاده به صورت مقطعی بوده و در نهایت از محیط (عصاره‌ها) خارج می‌شدند. با این وجود برای هر سوش قارچی یک شاهد

هیدروالکلی و یک شاهد ساده قرار داده شد، تا هیچ‌گونه شک و شبهه‌ای در ارزیابی نتایج پدید نیاید.

نتایج به دست آمده از اثرات ضد قارچی ۱۰ گیاه دارویی مورد استفاده در این بررسی که بر روی سه قارچ در شرایط برون‌تنی صورت گرفت، بیانگر اثرات قابل ملاحظه این گیاهان بر روی قارچ‌های ذکر شده بود (نمودار ۱ و ۲).

هر چند میزان اثر هر عصاره بر روی یک قارچ متفاوت از شماره دیگر بوده است اما با توجه به نتایج حاصل می‌توان اذعان نمود که تفاوت چشمگیری بین شدت اثر یک عصاره خاص بر قارچ‌های متفاوت مورد آزمایش وجود ندارد.

مؤثرترین عصاره گیاهی با کمترین میزان MIC و MFC در مقایسه با بقیه گیاهان و داروی گریزوفولونین، عصاره برگ "مورد" بود.

میزان MIC و MFC این عصاره گیاهی برای قارچ میکروسپوروم کانیس دقیقاً برابر میزان MIC و MFC حاصل از داروی گریزوفولونین ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود، اما بر روی دو قارچ تریکوفایتون متاگروفیتیس و میکروسپوروم جیبسوم، عصاره گیاه "مورد" مؤثرتر از داروی گریزوفولونین بود.

بعد از عصاره گیاه "مورد" به ترتیب گیاهان: ریواس، گل زرد، حنا، بومادران، ابله، پنیرک (ختمی)، سدر، گزنه و ریشه بابا آدم دارای اثرات ضد قارچی بودند.

با توجه به نتایج به دست آمده در شرایط برون‌تنی لازم بود که اثرات عصاره گیاهی (پماد ۱٪ عصاره برگ "مورد") در مقایسه با داروی کلوتریمازول در شرایط درون‌تنی بررسی شود.

لذا در ادامه این تحقیق که با روش تلقیح جلدی بر روی خوکچه هندی انجام شد، تنها ناحیه پشت حیوانات آلوده گردید. انتخاب این ناحیه به دلیل ناتوانی حیوان در لیسیدن یا پاک کردن محل ضایعه و نداشتن تماس با دست و پا و نیز به علت داشتن

کمتر از پماد کلوتریمازول ۱٪ بود و وازلین به تنهایی تا پایان دوره درمان هیچ اثر درمانی نداشت.

با در نظر گرفتن اثرات خوب عصاره‌های گیاهی مختلف در حیوانات آزمایش شده و توصیه می‌شود که تحقیقات بیشتری صورت گیرد تا در صورت اثبات نتایج رضایت بخش در درمان بیماری‌های درماتوفیتی و بررسی این مواد در انسان، بتوان به صورت فرآورده‌های صنعتی عصاره‌های گیاهی مناسب را مورد استفاده قرار داد.

بر اساس نتایج به دست آمده از بررسی‌های انجام شده در این طرح که در شرایط برون تنی و درون تنی صورت گرفته، عصاره "مورد" دارای اثرات ضد درماتوفیتی چشمگیری می‌باشد و لازم است بررسی تا تعیین ماده مؤثر موجود در این گیاه ادامه یابد.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر اسکندری و سرکار خانم نظریان و خانم دکتر عطاپور به خاطر امکاناتی که در اختیار ما گذاشتند و همچنین از آقای دکتر بهرام‌پور و آقای مؤمنی به خاطر آنالیز کامپیوتری و نیز از آقای دهقانی، خانم دهقان و آقای کیانی به خاطر همکاری در انجام مراحل مختلف طرح، صمیمانه تشکر می‌کنیم.

سطح قابل رؤیت برای ارزیابی وضعیت عفونت بود. از این رو ایجاد خراش در ناحیه مورد نظر به گونه‌ای صورت گرفت که خراش‌ها عمیق نبوده و باعث عفونت‌های ثانویه نمی‌گردیدند (۳).

لازم به ذکر است که در گذشته نیز تحقیقات مشابهی بر روی گیاهان و قارچ‌های دیگر صورت پذیرفته که از آن جمله بررسی اثرات ضد قارچی تعدادی از عصاره‌های گیاهی و مواد شیمیایی بر روی قارچ *تریکوفایتون متاگروفیتیس* در شرایط درون تنی می‌باشد، که در این بررسی عفونت تجربی در گوساله‌ها با استفاده از سوسپانسیون قارچ مورد نظر در پنج نقطه به وجود آمده و برای درمان از عصاره‌های کلروفومی ۱۰٪ سیر، ۱۰٪ زردچوبه، لوکوس اسپرا ۵/۵٪ (*Leucos aspera*) در پارافین و تیموسال ۱/۰/۰۱٪ (*thiomersal*)، تئورید ۷٪ و اسید سالیسیلک ۲٪ به صورت موضعی استفاده شده است. در نتیجه پس از گذشت ۲۰ روز تمام حیوانات به جز آنها که با تیموسال ۱/۰/۰۱٪ درمان شده بودند، بهبود یافتند (۱۳).

در بررسی حاضر نیز مشابه تحقیق فوق به منظور ایجاد آلودگی از سوسپانسیون قارچی و برای درمان از عصاره گیاهی مخلوط شده با وازلین استفاده شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهند که میانگین مدت زمان ظهور اثر درمانی پماد ۱٪ "مورد" به مراتب

Summary

Investigation of Antifungal Activity of 10 Methanol Extracts of Medicinal Herbs

S.A. Ayatollahi Mousavi, MSPH¹; H. Abdollahi, PhD¹; and N. Kazemipour, MS²

1. Faculty Member, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran

2. Faculty Member, Kerman Open University, Kerman, Iran

An In vitro investigation was carried out to determine the antifungal activity of 10 methanol extracts of herbs which are commonly used in Iranian traditional medicine. These include: Myrtus communis, Rheum ribes, Rosa Faetida, Lawsonia inermis, Juniperus sabina, Achillea millefolium, Zizyphus spina-christi, Malva silvestris, Arctium lappa and Utrica dioica. The fungi tested In vitro were three dermatophytes including: Trichophyton mentagrophytes, Microsporum gypseum and Microsporum canis. Methanol extracts of the plants were dissolved in 70% ethanol and added to the sab-dex agar medium before sterilization. Evaluation of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) for each extract, and comparison of tested cases with Griseofulvin, indicated that Myrtus extract was the most effective of all plant extracts. However other plant extracts have also shown significant antifungal activity. Therefore, further investigation was carried out to check the antifungal activity of Myrtus extract under In vivo condition. For this purpose Guinea pigs were inoculated with fungi suspension. After The appearance of infection's sings, each animal was treated with either 1% Myrtus

extract ointment, 1% clotrimazol (positive control) or vaseline (negative control). The average time for treatment with 1% Myrtus extract ointment was shorter than that of 1% clotrimazol, while vaseline had no therapeutic effect during the treatment period at all.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 1996; 3(3): 115-122

Key Words: Herbal medicine, Myrtus, Antifungal, Dermatophytes

منابع

۱. امین، غلامرضا: گیاهان دارویی سنتی ایران. نشر معاونت پژوهشی وزارت بهداشت و درمان آموزش پزشکی، تهران، چاپ اول، جلد اول، ۱۳۷۰، ص ۶۶، ۶۷ و ۷۸.
۲. آئینه چی، یعقوب: مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، چاپ دوم، ۱۳۷۰، ص ۱۰۱۲.
۳. تاجبخش، حسن و سناری، محمد: پرورش حیوانات آزمایشگاهی. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، چاپ اول، ۱۳۶۹، ص ۱۳۵-۱۶۷ و ۲۳۴-۲۳۵. ۱۱۷-۱۲۳.
۴. زرگری، علی: گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، چاپ چهارم، جلد اول، ۱۳۶۹، ص ۳۵۲.
۵. شادزی، شهلا: فارح شناسی پزشکی. چاپ نشاط، اصفهان، چاپ سوم، ۱۳۶۷، ص ۱۱۱-۱۷۲.
۶. گل‌گلاب، حسین: گیاه‌شناسی. انتشارات بوذرجمهری، تهران، چاپ دوم، ص ۳۰۴-۱۱۳.
۷. میرشمسی، حسین: گیاهان دارویی سنتی. مجله سنبله، ۱۳۷۲، سال ششم، شماره ۵۷، ص ۳۰-۳۲.
8. AKercle Co: Report on the intercountry expert meeting on traditional medicine and primary Health care, I st ed. Word Health Organization, Regional office for the eastern Mediteranean, Egypt, 1992; pp2-3.
9. Misra SB and Dixit SN. Antifungal properties of leaf extract of Ranunculus sceleratus L. *Experientia* 1978; 34(11): 1442-3.
10. Naqvi SAH, Khan MSY and Vohora SB. Antibacterial, antifungal and anthelmintic investigations on India medicinal plants. *J Fitoterapia* 1991; 62(3): 221-228.
11. Sawhney AN, Khan MR, Ndaliio G, Nkunya MHH and Wevers H. studies on the rationale of African traditional medicine. *PAK J SCI IND RES* 1978; 21(5-6): 193-6.
12. Singh L and Sharma M. Antifungal properties of some plant extract. *J Geobios* 1978; 5(2): 49-53.
13. Thakur DK, Misra SK and Choudhuri PC. Trial of some the plant-extracts and chemicals for their anti-fungal Activity in claves. *Indian Veterinary Journal* 1983; 60(10): 199-801.