Journal of Gorgan University of Medical Sciences

e-ISSN: 2008-4080 p-ISSN: 1562-4765

2024 / Vol 26 / No 4

OPEN ACCESS

Original Paper

Anti-Fungal Effects of Aerial Part Extracts of *Artemisia biennis*, *Artemisia ciniformis*, and *Artemisia turanica*

Ali Mikaeili (Ph.D)[1], **Samira Ghasemi (Ph.D)**[2], **Nastaran Ghiasvand**[3]

Abdolmajid Valadbeigi (Pharm.D)[4], **Mahdi Mojarrab (Ph.D)***[5]

1 Professor of Mycology, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. 2 Ph.D in Plant Pathology, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kurdistan University, Sanandaj, Iran. 3 M.Sc in Plant Physiology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Research Institute for Health, Kermanshash University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. 4 Doctor of Pharmacy, Students Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. 5 Associate Professor of Pharmacognosy, Pharmaceutical Sciences Research Center, Research Institute for Health, Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

Abstract

Background and Objective: Dermatophytosis is a significant skin disease in both humans and animals. Its resistance to common treatments is on the rise. Allylamines, polyenes, and azoles are prominent groups of anti-fungal drugs used to treat dermatophytosis. Various species of Artemisia, which are widely distributed in Iran, are regarded as a rich source of natural compounds with valuable biological activities. This research aimed to determine the anti-fungal effects of aerial part extracts of *Artemisia biennis*, *Artemisia ciniformis*, and *Artemisia turanica*.

Methods: This descriptive study examined the petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, ethanolic, and hydroalcoholic aerial part extracts of *Artemisia biennis*, *Artemisia ciniformis*, and *Artemisia turanica* against fungi causing dermatophytosis. The investigated fungi included Trichophyton rubrum, Trichophyton verrucosum, Epidermophyton floccosum, and Microsporum cannis. The minimum inhibitory concentration (MIC) test was performed based on the agar dilution method. The most active extracts were investigated in preliminary phytochemical tests.

Results: In the initial screening, Epidermophyton floccosum and Microsporum cannis exhibited the highest resistance (11 out of 15) and sensitivity (12 out of 15), respectively, to the tested extracts. Petroleum ether extracts from all three Artemisia species were the most active extracts used in the tests. Hydroalcoholic extracts showed the least anti-dermatophytic activity. The lowest MIC (78.1 µg/mL) was recorded for the petroleum ether extract of *Artemisia ciniformis* against Trichophyton rubrum. Preliminary phytochemical studies showed the common presence of terpenoids in all plant species extracts.

Conclusion: Some lipophilic compounds present in petroleum ether extracts of *Artemisia biennis* and *Artemisia ciniformis*, as well as dichloromethane extract of *Artemisia biennis*, exhibited significant in vitro anti-dermatophytic activities.

Keywords: Artemisia, Antifungal Agents, Dermatophytes

***Corresponding Author:** Mahdi Mojarrab, **E-mail:** mmojarrab@kums.ac.ir

Received 8 Jan 2024
Final Revised 8 Apr 2024
Accepted 17 Apr 2024
Published Online 23 Dec 2024

Cite this article as: Mikaeili A, Ghasemi S, Ghiasvand N, Valadbeigi A, Mojarrab M. [Anti-Fungal Effects of Aerial Part Extracts of *Artemisia biennis*, *Artemisia ciniformis*, and *Artemisia turanica*]. J Gorgan Univ Med Sci. 2024; 26(4): 70-77. [Article in Persian]

10.21859/JGorganUnivMedSci.26.4.70

© The author(s)

Owned: Golestan University of Medical Sciences **Publisher:** Deputy of Research and Technology

Journal of Gorgan University of Medical Sciences

Extended Abstract

2024 / Vol 26 / No 4

Introduction

Dermatophytosis is a significant cutaneous disease affecting both humans and animals, with increasing resistance to conventional treatments. Dermatophytes invade keratinized tissues, such as skin, hair, and nails, causing various fungal infections known as tinea, depending on the site of infection. The primary symptoms of the disease are not due to direct fungal invasion of the tissue but rather to the production of secondary metabolites, secretory enzymes, and toxins by the pathogenic fungi, which degrade keratinized tissues and cause damage. Primary drug classes, such as allylamines, polyenes, and azoles, are used topically and systemically for the treatment of dermatophytosis. In recent years, griseofulvin has been used to treat clinical forms of dermatophytosis in Iran; however, limitations, such as limited efficacy, adverse effects, cost-effectiveness considerations, and increasing drug resistance, in common anti-dermatophytic treatments, exist. Therefore, it is logical to plan for the discovery of natural sources containing anti-dermatophyte compounds to potentially overcome these challenges.

Artemisia species (*Artemisia sp.*), belonging to the *Asteraceae* family, are widely distributed across various regions worldwide, including Europe, Asia, North Africa, North and South America, and Australia. These plants produce a spectrum of bioactive compounds, such as phenols, terpenoids, sterols, and polyacetylenes, which exhibit antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory, and anti-fungal properties. Extracts from different parts of these plants have been traditionally used in Korea and China to treat fever, tumors, malaria, and hepatitis. The present study aimed to determine the anti-fungal activity of petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, ethanol, and hydroalcoholic extracts of the aerial parts of *Artemisia biennis*, *Artemisia ciniformis*, and *Artemisia turanica* against dermatophyte fungi, including *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton verrucosum*, *Epidermophyton floccosum*, and *Microsporum cannis*.

Methods

This experimental descriptive study examined the petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, ethanolic, and hydroalcoholic aerial part extracts of *Artemisia biennis*, *Artemisia ciniformis*, and *Artemisia turanica* against fungi causing dermatophytosis.

Fungal Isolates and Culture Media: Three fungal isolates, *Microsporum cannis* (5069), *Trichophyton verrucosum* (5056), and *Trichophyton rubrum* (5143), were obtained from the Iranian Industrial Mycology and Bacteriology Collection Center, affiliated with the Iranian Research Organization for Science and Industry. *Epidermophyton floccosum* was isolated from patients referring to the Mycology Laboratory of Mahdieh Clinic, Kermanshah University of Medical Sciences. These fungi were cultured on Sabouraud dextrose agar containing chloramphenicol and cyclohexamide (Merck, Germany) for 14 days at 25±2°C. After this period, a suspension of 10^6 (mL/colony) conidia was prepared from the culture of each fungus.

Plant Species Collection: Various species of *Artemisia biennis*, *Artemisia ciniformis*, and *Artemisia turanica* were collected at the end of the growing season from Zoshak region in the city of Mashhad, Tandoureh National Park in Daregaz County, and Sami' Abad in Torbat-e Jam County, respectively.

Anti-fungal Effect Evaluation by Culture Media Incorporation Method: For primary screening, plant extracts were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO). Subsequently, they were mixed with molten Sabouraud dextrose agar containing chloramphenicol and cycloheximide to achieve a final concentration of 1.25 mg/mL. After that, 100 µL of conidia suspension of each fungus (10^6 mL/colony) was inoculated onto the culture media supplemented with either extract or control, and the tubes were incubated at 25±2°C for 14 days. The anti-fungal effect of each extract was evaluated by observing the complete inhibition of fungal growth.

Evaluation of Minimum Inhibitory Concentration (MIC): The MIC of the extracts was determined using the agar dilution method. Final concentrations of each extract in the culture medium ranged from 39.06~1250 mL/µg. The MIC was determined after a 14-day period at 25±2°C by observing the absence of fungal growth. The DMSO solution (31.25 mL/µL) and terbinafine (2.00~0.0039 mL/µg) were used as negative and positive controls, respectively, in the culture medium. The above experiment was repeated three times for all treatments and controls. Additionally, for each fungus, three pure culture media in three test tubes were prepared as controls to verify fungal growth on Sabouraud dextrose agar containing chloramphenicol and cyclohexamide.

Preliminary Phytochemical Screening: Petroleum ether and dichloromethane extracts were subjected to preliminary phytochemical screening to determine the presence of terpenoids, sterols, and flavonoids using standard procedures.

Sterol Detection: The Liebermann-Burchard reaction was employed to detect sterols. Two mL of acetic anhydride and two drops of concentrated sulfuric acid were added to 3 mL of the chloroform extract. The formation of a blue or green color indicated the presence of steroids.

Terpenoid Detection: An amount of 0.2 g of each extract was dissolved in 6 mL of chloroform and filtered. Concentrated sulfuric acid was then added to the filtrate to form a layer. The development of a reddish-brown color at the interface of the two phases was considered positive for the presence of terpenoids.

Flavonoid Detection: An amount of 0.2 g of each extract was dissolved in 2 mL of ethanol, heated, and filtered. A magnesium metal chip was added to the solution, followed by a few drops of concentrated hydrochloric acid. The appearance of a red or orange color indicated the presence of flavonoids.

Results

Fifteen extracts obtained from the aerial parts of *Artemisia biennis*, *Artemisia ciniformis*, and *Artemisia turanica* exhibited a variable range of inhibitory activity against four dermatophytes: *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum cannis*, and *Trichophyton verrucosum*.

Epidermophyton floccosum and *Microsporum cannis* demonstrated the highest resistance (11 out of 15) and sensitivity (12 out of 15), respectively, to the tested extracts. Petroleum ether extracts from all three Artemisia species were the most active extracts employed in the assays, exhibiting inhibitory effects against all four fungi (except for the observed resistance of *Trichophyton verrucosum* to the petroleum ether extract of *Artemisia turanica*). Hydroalcoholic extracts exhibited the least anti-dermatophytic activity in the assays. According to the preliminary screening results, various extracts of *Artemisia biennis*, *Artemisia ciniformis*, and *Artemisia turanica* exhibited 15, 14, and 9 cases of inhibition of fungal growth, respectively. Ethyl acetate extracts from all three species demonstrated identical results in priliminary screening so that resistance to these extracts was observed exclusively in *Epidermophyton floccosum*.

The MIC results demonstrated that all tested fungi were sensitive to all or some concentrations of the extracts used in this experiment, within a concentration range of 39.06 to 1250 mL/µg, as indicated by the absence of fungal growth. Among the extracts used, the lowest MIC belonged to the petroleum ether extract of *Artemisia ciniformis* at 78.12 mL/µg against *Trichophyton rubrum*. Additionally, the lowest MIC of *Artemisia turanica* extracts was found in the petroleum ether extract at 156.25 mL/µg against *Trichophyton rubrum* and *Microsporum cannis*. The lowest MIC of *Artemisia biennis* extracts was determined to be 156.25 mL/µg for the petroleum ether and dichloromethane extracts against *Trichophyton rubrum*, *Microsporum cannis*, and *Trichophyton verrucosum*. On the other hand, the highest inhibitory activity belonged to the petroleum ether and dichloromethane extracts obtained from *Artemisia ciniformis* and *Artemisia turanica*. Preliminary phytochemical screening results of the petroleum ether and dichloromethane extracts primarily indicated the presence of sterols and terpenoids.

Conclusion

Some lipophilic compounds present in petroleum ether extracts of *Artemisia biennis* and *Artemisia ciniformis*, as well as dichloromethane extract of *Artemisia biennis*, exhibited significant in vitro concentration-dependent anti-dermatophytic activities.

Ethical Statement

This study was approved by the Research Ethics Committee of Kermanshah University of Medical Sciences (IR.KUMS.REC.1398.080).

Funding

This article has been extracted from the doctoral dissertation of Mr. Abdolmajid Valadbeigi for a specialty degree in Pharmacy at Kermanshah University of Medical Sciences.

Conflicts of Interest

No conflict of interest.

Acknowledgement

The authors would like to thank the financial support provided by the Research and Technology Vice-Chancellor of Kermanshah University of Medical Sciences (No. 980105).

Some lipophilic compounds present in petroleum ether extracts of Artemisia biennis and Artemisia ciniformis, as well as dichloromethane extract of Artemisia biennis, exhibited significant in vitro concentration-dependent anti-dermatophytic activities.

مجله دانشگاه علوم پزشکی گرگان

زمستان ۱۴۰۳ / دوره ۲۶ / شماره ۴ (پی در پی ۹۲)

دارای رتبه علمی -پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

e-ISSN: ۲۰۰۸-۴۰۸۰ p-ISSN: ۱۵۶۲-۴۷۶۵

با دسترسی آزاد

تحقیقی

اثر ضدقارچی عصاره‌های حاصل از اندام هوایی درمنه‌های دو ساله، طلایی و قرمز

دکتر علی میکائیلی [۱]، دکتر سمیرا قاسمی [۲]، نسترن قیاسوند [۳]، دکتر عبدالمجید ولدبیگی [۴]، دکتر مهدی مجرب* [۵]

۱ استاد قارچ شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. ۲ دکتری تخصصی بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. ۳ کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. ۴ دکتری داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، 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: *درماتوفیتوزیس یک بیماری جلدی مهم در انسان و حیوانات به‌شمار می‌رود که مقاومت آن به درمان‌های رایج رو به افزایش است. آلیل‌آمین‌ها، پلی‌ان‌ها و آزول‌ها از گروه‌های شاخص دارویی ضدقارچ هستند که برای درمان درماتوفیتوزیس مصرف می‌شوند. گونه‌های مختلف جنس گیاهی درمنه که پراکندگی زیادی در ایران دارند به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات طبیعی با فعالیت ارزشمند زیستی مورد توجه هستند. این مطالعه به منظور تعیین اثر ضد قارچی عصاره‌های حاصل از اندام هوایی درمنه‌های دو ساله، طلایی و قرمز انجام شد.*

روش بررسی: *این مطالعه توصیفی روی عصاره‌های اترنفت، دی کلرومتانی، اتیل استاتی، اتانولی و هیدرواتانولی اندام هوایی درمنه‌های دو ساله (Artemisia biennis)، طلایی (Artemisia ciniformis) و قرمز (Artemisia turanica) علیه قارچ‌های عامل بیماری درماتوفیتوزیس انجام شد. قارچ‌های مورد بررسی شامل تریکوفیتون روبروم (Trichophyton rubrum)، تریکوفیتون وروکوزوم (Trichophyton verrucosum)، اپیدرموفیتون فلوکوزوم (Epidermophyton floccosum) و میکروسپوروم کانیس (Microsporum cannis) بودند. 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، اپیدرموفیتون فلوکوزوم و میکروسپوروم کانیس به ترتیب مقاومت (۱۱ از ۱۵) و حساسیت (۱۲ از ۱۵) بیشتری را به عصاره‌های مورد آزمایش نشان دادند. عصاره‌های اتر نفتی حاصل از هر سه گونه درمنه، فعال‌ترین عصاره‌های به‌کار رفته در آزمایش‌ها بودند. عصاره‌های هیدرواتانولی کمترین فعالیت ضددرماتوفیتی را بروز دادند. کمترین میزان غلظت بازدارنده (MIC) ۷۸/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای عصاره اتر نفتی حاصل از درمنه طلایی علیه تریکوفیتون روبروم ثبت شد. نتایج مطالعات مقدماتی فیتوشیمیایی، حضور مشترک ترپنوییدها را در تمام عصاره‌های گونه‌های گیاهی نشان داد.*

نتیجه‌گیری: *برخی ترکیبات چربی دوست موجود در عصاره‌های مختلف به‌ویژه عصاره‌های اترنفتی درمنه‌های دوساله و طلایی و عصاره دی‌کلرومتانی درمنه دوساله فعالیت قابل توجه برون‌تنی ضددرماتوفیتی نشان دادند.*

واژه‌های کلیدی: *درمنه ، عوامل ضدقارچی ، درماتوفیتوزیس*

* **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 ۱۴۰۲/۱۰/۱۸ اصلاح نهایی ۱۴۰۳/۱/۲۰ پذیرش ۱۴۰۳/۱/۲۹ انتشار ۱۴۰۳/۱۰/۳

مقدمه

درماتوفیتوزیس یکی از بیماری‌های مهم جلدی انسان و حیوانات است که مقاومت آن به درمان‌های رایج رو به افزایش است.[۱] 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 بیماری عفونت قارچی پوست، مو و ناخن است که در نتیجه استقرار قارچ‌هایی موسوم به درماتوفیت بین نسوج کراتین‌دار، تکثیر و ترشح متابولیت‌های آنها حاصل می‌گردد. اصولاً علائم بیماری به‌دلیل حمله مستقیم قارچ به بافت نبوده؛ بلکه قارچ‌های بیمارگر با تولید متابولیت‌های ثانویه، آنزیم‌های ترشحی و توکسین‌ها موجب تجزیه بافت‌های کراتینه شده و سبب آسیب به آنها می‌گردند. گروه‌های شاخص دارویی مانند آلیل‌آمین‌ها، پلی‌ان‌ها و آزول‌ها به‌صورت موضعی و سیستمیک برای درمان درماتوفیتوزیس استفاده می‌شوند.[۲] در سال‌های اخیر در ایران برای درمان اشکال بالینی درماتوفیتوزیس از داروی گریزئوفولین استفاده می‌شد؛ اما محدودیت‌هایی مانند اثرگذاری محدود، ایجاد

عوارض جانبی، ملاحظات هزینه - اثربخشی و مقاومت روزافزون دارویی در درمان‌های متداول ضددرماتوفیتی وجود دارد.[۳] از این رو برنامه‌ریزی برای دستیابی به منابع طبیعی حاوی ترکیبات ضددرماتوفیت با هدف غلبه احتمالی بر مشکلات فوق‌الذکر، منطقی است.

درمنه (*Artemisia sp.*) گیاهی متعلق به خانواده گل ستارگان (*Asteraceae*) است که به‌صورت گسترده در نواحی مختلف دنیا شامل اروپا، آسیا، شمال آفریقا، شمال و جنوب آمریکا و همچنین استرالیا پراکنش دارد.[۴و۵] از قرن‌ها پیش گونه‌های مختلف آرتمیزیا به‌عنوان مرهم برای درمان بیماری‌های انگلی، تسکین ناراحتی‌های گوارشی و درمان اختلالات پوستی در میان مردم کاربرد داشته است.[۶] امروزه گونه‌های مختلف درمنه علاوه بر مصارف دارویی، در صنایع آرایشی - بهداشتی و همچنین در صنعت عطرسازی کاربرد دارند. حدود ۳۴ گونه از آن در ایران در مناطق گسترده‌ای از دشت‌های پست تا ارتفاعات کوهستانی شناسایی شده‌اند.[۷] این دسته از گیاهان طیفی از ترکیبات فعال زیستی شامل فنل‌ها، ترپنوئیدها، استرول‌ها و پلی‌استیلن‌ها را با اثراتی همچون ضدمیکروبی، ضدویروسی، ضدالتهابی و ضدقارچی تولید می‌کنند.[۸] عصاره قسمت‌های مختف این گیاهان به‌طور سنتی در درمان تب، تومورها، مالاریا و هپاتیت در کره و چین استفاده می‌گردد.[۹] پژوهشگران مختلف گزارش کرده‌اند که عصاره گونه‌های درمنه دارای اثرات ضدمیکروبی علیه بیمارگرهای مختلف انسانی هستند. گزارش شده است که اسانس گیاه درمنه قرمز جمع‌آوری شده از شرق ایران، رشد قارچ‌های درماتوفیت تریکوفیتون روبروم (*Trichophyton rubrum*) و میکروسپوروم جیپسوم (*Microsporum gypseum*) را به‌صورت کامل مهار می‌کند.[۱۰] Lopes-Lutz و همکاران گزارش نمودند که روغن فرار استخراج شده از درمنه دو ساله فعالیت مهارگری رشد را به میزان بیش از ۷۰ درصد در برابر تعدادی از درماتوفیت‌ها نشان داده است.[۱۱] بنابرآنچه ذکر شد و با توجه به حضور برخی ترکیبات ضدقارچی در درمنه‌های دوساله و طلایی[۱۲-۱۴] و اثر مشابه گزارش شده از برخی گونه‌های دیگر درمنه[۱۵] از ایران؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر ضدقارچی عصاره‌های اترنفت، دی کلرومتانی، اتیل استاتی، اتانولی و هیدرواتانولی اندام هوایی درمنه‌های دوساله (*Artemisia biennis*)، طلایی (*Artemisia ciniformis*) و قرمز (*Artemisia turanica*) علیه قارچ‌های عامل بیماری درماتوفیتوزیس شامل تریکوفیتون روبروم (*Trichophyton rubrum*)، تریکوفیتون وروکوزوم (*Trichophyton verrucosum*)، اپیدرموفیتون فلوکوزوم (*Epidermophyton floccosum*) و میکروسپوروم کانیس (*Microsporum cannis*) انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی روی عصاره‌های اترنفت، دی کلرومتانی، اتیل استاتی، اتانولی و هیدرواتانولی اندام هوایی درمنه‌های دو ساله، طلایی و قرمز علیه قارچ‌های عامل بیماری درماتوفیتوزیس انجام شد.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه (IR.KUMS.REC.1398.080) 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 شد. 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.[۱۶]

تهیه گونه‌های گیاهی: گونه‌های مختلف گیاه درمنه دوساله، طلایی و قرمز در اواخر فصل رویشی به ترتیب از زشک واقع در شهرستان مشهد، پارک ملی تندوره در شهرستان دره گز و سمیع‌آباد در شهرستان تربت‌جام جمع‌آوری شدند. نمونه‌های گیاهی در مرکز تحقیقات جنگل‌ها و مراتع ایران شناسایی و تایید هویت شدند. نمونه‌های هرباریومی با شماره‌های ۱۲۵۷۰، ۱۲۵۶۹ و ۱۲۵۷۲ به ترتیب برای سه گونه در هرباریوم دانشکده داروسازی مشهد نگهداری شدند.

عصاره‌گیری: 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 در جای خشک و خنک نگهداری شدند. ۱۰۰ گرم از پودر هر گیاه، به نسبت یک به ده (وزنی:حجمی) به شکل متوالی با حلال‌های اترنفت، دی کلرومتان، اتیل استات، اتانول و هیدرواتانول (۱:۱) مخلوط شدند. اختلاط با هر یک از حلال‌ها سه نوبت به صورت جداگانه به مدت ۲۴، ۴۸، 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 گرفت. حذف کامل‌تر آب از عصاره‌های هیدرواتانولی با کمک دستگاه خشک‌کن سرمایشی (فریز درایر) صورت گرفت. سپس پانزده عصاره خشک و تا انجام آزمایشات بعدی در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جدول ۱: نتایج غربالگری اولیه اثر بازدارندگی عصاره‌های حاصل از درمنه‌های دوساله، طلایی و قرمز 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 دوساله	اترنفتی	۲/۸۹	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ
	دی کلرومتانی	۶/۹۵	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ
	اتیل استاتی	۰/۶۸	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ
	اتانولی	۱/۰۶	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ
	هیدرواتانولی	۱۶/۵۷	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	عدم رشد قارچ
درمنه طلایی	اترنفتی	۳/۱۶	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ
	دی کلرومتانی	۱۲/۴۰	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ
	اتیل استاتی	۰/۴۲	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ
	اتانولی	۱/۸۹	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ
	هیدرواتانولی	۱۶/۹۰	رشد قارچ	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
درمنه قرمز	اترنفتی	۱/۸۳	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	رشد قارچ
	دی کلرومتانی	۷/۳۲	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ
	اتیل استاتی	۰/۹۳	رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ
	اتانولی	۲/۶۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ
	هیدرواتانولی	۱۵/۷۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ
DMSO (۳/۱۲ v/v درصد)		-	عدم 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

ارزیابی اثر ضدقارچی به روش اختلاط با محیط کشت: به منظور غربالگری اولیه، عصاره‌های گیاهی در دی‌متیل‌سولفوکسید (DMSO) حل شدند. سپس با محیط کشت مذاب سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید استریل مخلوط شدند تا غلظت نهایی ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون کنیدیای هر قارچ (میلی‌لیتر/کلنی 10^6) روی محیط کشت مخلوط با عصاره یا شاهد تلقیح و لوله‌ها در دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۴ روز نگهداری شدند. اثرات ضدقارچی هر عصاره با مشاهده مهار کامل رشد قارچ‌ها ارزیابی گردید.

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 ۲۵±۲ 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 به‌ترتیب به‌عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده گردید. آزمایش فوق برای تمامی تیمارها و شاهدها در سه مرتبه تکرار انجام شد. همچنین به ازای 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.[۱۷]

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. میزان ۲ میلی‌لیتر انیدرید استیک و دو قطره اسید سولفوریک غلیظ به ۳ میلی‌لیتر از عصاره محلول در کلروفرم اضافه شد. تشکیل رنگ آبی یا سبز نشان‌دهنده وجود استروئیدها بود.[۱۸]

ردیابی ترپنوئیدها: میزان ۰/۲گرم از هر عصاره در ۶ میلی‌لیتر کلروفرم حل و صاف شد. سپس اسید سولفوریک 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.[۱۹]

ردیابی فلاونوئیدها: میزان 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 اسید کلریدریک غلیظ به آن اضافه شد. بروز رنگ قرمز یا نارنجی نشان‌دهنده وجود فلاونوئیدها بود.[۲۰]

یافته‌ها

با توجه به جدول یک، پانزده عصاره حاصل از اندام‌های هوایی درمنه‌های دو ساله، طلایی و قرمز، دامنه متفاوتی از فعالیت بازدارندگی را علیه چهار قارچ اپیدرموفیتون فلوکوزوم، تریکوفیتون روبروم، میکروسپوروم کانیس و تریکوفیتون وروکوزوم نشان دادند.

اپیدرموفیتون فلوکوزوم و میکروسپوروم کانیس به ترتیب مقاومت (۱۱ از ۱۵) و حساسیت (۱۲ از ۱۵) بیشتری را به عصاره‌های مورد آزمایش نشان دادند. عصاره‌های اتر نفتی حاصل از هر سه گونه

جدول ۲ : حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌های حاصل از درمنه‌های دوساله، طلایی و قرمز 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 دوساله	اترنفتی	۳۱۲/۵	۱۵۶/۲۵	۱۵۶/۲۵	۶۲۵
	دی کلرومتانی	۶۲۵	۱۵۶/۲۵	۱۵۶/۲۵	۱۵۶/۲۵
	اتیل استاتی	–	۶۲۵	۶۲۵	۳۱۲/۵
	اتانولی	–	۶۲۵	۱۲۵۰	۳۱۲/۵
	هیدرواتانولی	–	–	–	۱۲۵۰
درمنه طلایی	اترنفتی	۶۲۵	۷۸/۱۲	۱۵۶/۲۵	۱۲۵۰
	دی کلرومتانی	–	۱۵۶/۲۵	۳۱۲/۵	۶۲۵
	اتیل استاتی	–	۳۱۲/۵	۳۱۲/۵	۶۲۵
	اتانولی	–	۶۲۵	۱۲۵۰	۱۲۵۰
	هیدرواتانولی	–	–	۱۲۵۰	–
درمنه قرمز	اترنفتی	۱۲۵۰	۱۵۶/۲۵	۱۵۶/۲۵	–
	دی کلرومتانی	–	۳۱۲/۵	۶۲۵	۳۱۲/۵
	اتیل استاتی	–	۱۲۵۰	۶۲۵	۱۲۵۰
	اتانولی	–	–	–	–
	هیدرواتانولی	–	–	–	–
کنترل	تربینافین	۰/۰۰۷۸	۰/۰۰۷۸	۰/۰۰۷۸	۰/۰۰۷۸

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

نام گیاه	نوع عصاره	استرول‌ها	ترپنوئیدها	فلاوونوئیدها
درمنه دوساله	اتر نفتی	+	++	–
	دی کلرومتانی	+/–	+++	+
درمنه طلایی	اتر نفتی	+	++++	–
	دی کلرومتانی	+++	+	++
درمنه قرمز	اتر نفتی	–	++++	+/–
	دی کلرومتانی	++	+/–	++

علامت مثبت (+) به معنی رشد قارچ در دست کم دو تکرار و علامت منفی (–) به معنی عدم رشد قارچ در دست کم دو تکرار از غلظت مورد نظر است.

درمنه، با نشان دادن اثر بازدارندگی علیه هر چهار قارچ فوق (به استثنای مقاومت مشاهده شده از تریکوفیتون وروکوزوم در برابر عصاره اتر نفتی درمنه قرمز)، فعال‌ترین عصاره‌های به‌کار رفته در آزمایشات بودند. عصاره‌های هیدرواتانولی کمترین فعالیت ضددرماتوفیتی را در آزمایشات نشان دادند. در نتایج غربالگری اولیه، عصاره‌های مختلف درمنه دوساله، طلایی و قرمز به ترتیب ۱۵، ۱۴ و ۹ مورد مهار رشد قارچی را نشان دادند. عصاره‌های اتیل استاتی حاصل از هر سه گونه، نتایج یکسانی در غربالگری اولیه نشان دادند. به‌طوری که مقاومت نسبت به آنها صرفاً در قارچ اپیدرموفیتون فلوکوزوم مشاهده گردید.

نتایج حداقل غلظت بازدارندگی نشان داد که همه قارچ‌های آزمایش شده به همه یا تعدادی از غلظت‌های عصاره‌های به‌کار رفته در این آزمایش در طیف غلظتی ۳۹/۰۶ تا ۱۲۵۰ میلی‌لیتر/میکروگرم حساس بودند. به‌طوری که عدم رشد قارچ مشاهده شد (جدول ۲). از مجموع عصاره‌های به‌کار رفته کمترین غلظت مهارکنندگی مربوط به عصاره اتر نفتی حاصل از درمنه طلایی به میزان ۷۸/۱۲ میلی‌لیتر/ میکروگرم علیه تریکوفیتون روبروم بود. همچنین کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره‌های درمنه قرمز مربوط به عصاره اتر نفتی به میزان ۱۵۶/۲۵ میلی‌لیتر/ میکروگرم علیه تریکوفیتون روبروم و میکروسپوروم کانیس بود. کمترین غلظت بازدارندگی عصاره‌های درمنه دو ساله مربوط به عصاره اتر نفتی و دی کلرومتانی به میزان ۱۵۶/۲۵ میلی‌لیتر/ میکروگرم علیه تریکوفیتون روبروم، میکروسپوروم کانیس و تریکوفیتون وروکوزوم تعیین شد. بیشترین فعالیت مهاری مربوط به دو عصاره اتر نفتی و دی کلرومتانی حاصل از درمنه‌های طلایی و قرمز بود. نتایج غربالگری فیتوشیمیایی اولیه عصاره‌های اتر نفتی و دی کلرومتانی، عمدتاً حضور استرول‌ها و ترپنوئیدها را نشان داد (جدول ۳).

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، بیشترین بازده عصاره‌گیری به ترتیب متعلق به درمنه طلایی (۳۴/۷۷ درصد)، درمنه قرمز (۲۸/۳۸ درصد) و درمنه دوساله (۲۸/۱۵ درصد) تعیین گردید.

با توجه به پیشینه تنوع ترکیبات ضدمیکروبی که در درمنه گزارش شده است؛ ممکن است این ترکیبات به‌طور کامل توسط یک حلال استخراج نشوند. بنابراین حلال‌هایی که برای عصاره‌گیری استفاده

شد؛ قطبیت‌های مختلفی داشتند تا ترکیبات با ساختارهای مختلف را از گیاهان استخراج کنند. Zhang و همکاران آرتیمیسینین (*Artemisinin*) را به عنوان یک ترکیب ضدمیکروبی قوی از گیاه درمنه با استفاده از حلال پروپیلن گلیکول متیل اتر استخراج کردند.[۲۱] همچنین محققین دیگر با کاربرد حلال‌های متانول و اتانول ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از گیاه درمنه را استخراج کرده‌اند.[۲۲] بنابراین احتمال وجود ترکیبات فعال ضددرماتوفیت با ماهیت‌های غیرقطبی، نیمه‌قطبی و قطبی در گونه‌های درمنه مورد مطالعه در نظر گرفته شد. در مطالعه حاضر، هیچیک از عصاره‌ها به اندازه تربینافین (شاهد مثبت) موثر نبودند. با توجه به این که عصاره‌های مورد مطالعه، دارای بسیاری از ترکیبات بی‌اثر بودند؛ تفاوت میان اثر بازدارندگی تربینافین و عصاره‌های آزمایش شده، منطقی است. به‌صورت کلی، عصاره‌های درمنه قرمز، اثرات مهار رشد قارچی ضعیف‌تری را در آزمون‌ها نشان دادند.

در مطالعه بهروان و همکاران مهار رشد میسلیومی تریکوفیتون روبروم توسط اسانس این گونه گزارش گردید.[۱۰] جالب توجه است که در مطالعه کنونی، نیز همین جدایه قارچی بیشترین حساسیت را به عصاره‌های اتر نفتی و دی کلرومتانی درمنه قرمز داشتند که ضمن تایید نتایج مطالعه قبلی، تشابه نسبی و احتمالی ترکیبات موثر در اسانس و عصاره‌ها را (احتمالاً مونوترپن‌های اکسیژنه) نشان می‌دهد.[۱۰] علاوه بر آن اثر ضدباکتریایی عصاره هیدرواتانولی این گیاه علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس گزارش شده است.[۲۳] در مقایسه با درمنه قرمز، درمنه طلایی طیف و قدرت اثر بازدارندگی از رشد قارچی بیشتری را نشان داد. همچنین عصاره‌های اتر نفتی و دی‌کلرومتانی درمنه طلایی، در مقایسه با عصاره‌های مشابه از دو گونه دیگر، بازده استخراج بیشتر داشتند. علاوه بر این برتری ارزشمند، کوچکترین MIC نیز برای عصاره اتر نفتی اینگونه علیه تریکوفیتون روبروم ثبت شد. علی‌رغم فقدان گزارش پیشین از اثر ضددرماتوفیتی روغن فرار درمنه طلایی، روند مشابه کلی فعالیت عصاره‌های این گونه در مقایسه با دو گونه درمنه دوساله و قرمز، احتمال مؤثر بودن اسانس درمنه طلایی علیه سویه‌های قارچی مورد بررسی را پیشنهاد می‌کند. در نتایج مطالعه حاضر، قارچ میکروسپوروم کانیس نسبت به سایر قارچ‌های آزمایش‌شده به عصاره درمنه حساس‌تر بود. به‌طوری که از ۱۵ عصاره استفاده شده در ۱۲ عصاره، رشدی از قارچ مشاهده نشد. حساسیت میکروسپوروم کانیس در مطالعه Akhil و همکاران نیز به اثبات رسیده است. به‌طوری که این قارچ بیشترین حساسیت را به اسانس *Artemisia japonica* نشان داده است.[۲۴]

در مطالعاتی از عصاره اتر نفتی درمنه طلایی، یک مشتق دی‌متوکسیله استوفنونی[۱۲] و از عصاره دی‌کلرومتانی درمنه طلایی، سزکویی ترپنوییدهای نوع داوانونی گزارش شده است.[۱۳] محققین عنوان نمودند که اثر ضدقارچی گونه‌های درمنه مربوط به طیف متفاوتی از ترکیبات از جمله محتوی ترپنوئیدی و فلاوونوئیدها است.[۲۵] مهم‌ترین آنها منوترپن α-thojune است.[۲۶] حسین‌زاده و همکاران ترپنوئیدها را از عصاره درمنه کوهی و درمنه ترکمنی جداسازی و شناسایی کردند.[۲۷] فعالیت ضددرماتوفیت اسانس درمنه دوساله با رویشگاه آمریکای شمالی،[۱۴] به دلیل تفاوت ترکیبات گزارش شده از اسانس این گونه در ایران[۲۸] و عدم بررسی آزمایشگاهی، به سادگی قابل تعمیم و پیش‌بینی نبود. در مطالعه کنونی، گسترده‌ترین دامنه اثر ضددرماتوفیتی از عصاره‌های درمنه دوساله دیده شد که این برتری در مقایسه با درمنه طلایی ناشی از وسیع‌الطیف بودن عصاره دی‌کلرومتانی بود. همین عصاره، قوی‌ترین اثر را علیه تریکوفیتون وروکوزوم نشان داد. در یک مطالعه قبلی از عصاره دی‌کلرومتانی درمنه دوساله، دو پلی استیلن دی سیکلواتری جداسازی شد.[۱۴] اثر ضدقارچی، ضدنماتدی، حشره‌کشی این دسته از ترکیبات جدا شده از گونه *Artemisia halodendron* گزارش شده است.[۲۹] با افزایش قطبیت عصاره‌ها، میزان اثر ضدقارچی کمتر شد که نشانگر کاهش حضور و غلظت مواد موثره ضددرماتوفیت در این عصاره‌ها است. این موضوع کم اثر بودن متابولیت‌های قطبی گیاهی را در بروز فعالیت ضددرماتوفیتی پیشنهاد می‌کند.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که برخی ترکیبات چربی دوست موجود مانند مونوترپنوییدهای اکسیژنه و فلاونوییدهای غیر گلیکوزیله در عصاره‌های مختلف به‌ویژه عصاره‌های اترنفتی درمنه‌های دوساله و طلایی و عصاره دی‌کلرومتانی درمنه دوساله فعالیت قابل توجه برون‌تنی ضددرماتوفیتی وابسته به غلظت نشان دادند. بررسی تکمیلی برون‌تنی و درون‌تنی اثر این عصاره‌ها به همراه مطالعات فیتوشیمیایی اختصاصی با رویکرد شناسایی قطعی اجزای موثر، ضروری به‌نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه آقای عبدالمجید ولدبیگی برای اخذ دکتری حرفه‌ای در رشته داروسازی از دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه بود. بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه (شماره ۹۸۰۱۰۵) نهایت سپاس خود را اعلام می‌داریم. بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

References

1. Arenas R, del Rocío Reyes-Montes M, Duarte-Escalante E, Frías-De-León MG, Martínez-Herrera E. Dermatophytes and Dermatophytosis. In: Mora-Montes HM, Lopes-Bezerra LM. Current Progress in Medical Mycology. Cham: Springer International Publishing. 2017; pp: 381-425.
2. 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.
3. Martinez-Rossi NM, Bitencourt TA, Peres NTA, Lang EAS, Gomes EV, Quaresemin NR, et al. Dermatophyte Resistance to Antifungal Drugs: Mechanisms and Prospectus. Front Microbiol. 2018 May;9:1108. doi: 10.3389/fmicb.2018.01108.
4. 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.
5. Mikaeili A, Nasseri S, Hosseini MM, Emami SA, Mojarrab M. [Antifungal Effects of Petroleum Ether, Dichloromethane, Ethyl Acetate, Ethanol, and Hydroethanol Extracts from the Aerial Parts of Artemisia khorassanica, Artemisia scoparia, and Artemisia vulgaris]. J Gorgan Univ Med Sci. 2024;26(2):64-71. [Article in Persian]
6. The Herb Society of America. Artemesia: An Essential Guide 2014; The Herb Society of America: Kirtland, OH, USA, 2014.
7. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. 7th ed. Tehran: Farhang Moaser Publishers. 2013; pp. 190-210.
8. Sharifi-Rad J, Herrera-Bravo J, Semwal P, Painuli S, Badoni H, Ezzat SM, et al. Artemisia spp.: An Update on Its Chemical Composition, Pharmacological and Toxicological Profiles. Oxid Med Cell Longev. 2022 Sep;2022:5628601. doi: 10.1155/2022/5628601.
9. Gruessner BM, Cornet-Vernet L, Desrosiers MR, Lutgen P, Towler MJ, Weathers PJ. It is not just artemisinin: Artemisia sp. for treating diseases including malaria and schistosomiasis. Phytochem Rev. 2019 Dec;18(6):1509-27. doi: 10.1007/s11101-019-09645-9.
10. Behravan J, Ramezani M, Hassanzadeh MK, Eliaspour N, Sabeti Z. Cytotoxic and Antimycotic Activities of essential oil of Artemisia turanica Krasch from Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2006;9(2):196-203. doi: 10.1080/0972060X.2006.10643492.
11. 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.
12. Hosienzadeh E. [Phytochemical investigation of the petroleum ether extract of aerial parts of Artemisia ciniformis]. Dissertation for the degree of Doctor of Pharmacy. Kermanshah University of Medical Sciences. 2018. [Persian]
13. Allahyari E. [Phytochemical investigation of the dichloromethane extract of aerial parts of Artemisia ciniformis]. Dissertation for the degree of Doctor of Pharmacy. Kermanshah University of Medical Sciences. 2015. [Persian]
14. Najafi M. [Phytochemical investigation of the dichloromethane extract of aerial parts of Artemisia biennis]. Dissertation for the degree of Doctor of Pharmacy. Kermanshah University of Medical Sciences. 2017. [Persian]
15. Mahboubi M. Artemisia sieberi Besser essential oil and treatment of fungal infections. Biomed Pharmacother. 2017 May;89:1422-30. doi: 10.1016/j.biopha.2017.03.036.
16. 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.
17. 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]
18. Alamgir A. Therapeutic use of medicinal plants and their extracts. 1st ed. New York: Springer. 2017; pp: 721, 729, 790.
19. Patil AS. Plant Secondary Metabolites: Isolation, Characterization & Biological Properties. 1st ed. New Delhi: Studera Press. 2020; p:86.
20. 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.
21. Zhang Y, Prawang P, Li C, Meng X, Zhao Y, Wang H, et al. Ultrasonic assisted extraction of artemisinin from Artemisia annua L. using monoether-based solvents. Green Chem. 2018;20(3):713-23. doi: 10.1039/C7GC03191B.
22. Thangjam NM, Taijong J, Kumar A. Phytochemical and pharmacological activities of methanol extract of Artemisia vulgaris L. leaves. Clin Phytosci. 2020;6:72. doi: 10.1186/s40816-020-00214-8.
23. Bagheri Yazdi H, Norouzi Taheri H. [Antimicrobial Effects of Aqueous-Alcoholic Extract of Artemisia Turanica against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA): An in vitro Study]. J Ilam Uni Med Sci. 2022;30(2):1-7. doi: 10.52547/sjimu.30.2.1. [Article in Persian]
24. 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.
25. Paul R. Phytochemical and antidermatophytic screening of potential medicinal plants. BIOINFOLET-A Quarterly Journal of Life Sciences. 2020;17(3a):397-402.
26. Di Lorenzo C, Ferretti F, Moro E, Ceschi A, Colombo F, Frigerio G, et al. Identification and Quantification of Thujone in a Case of Poisoning Due to Repeated Ingestion of an Infusion of Artemisia Vulgaris L. J Food Sci. 2018 Aug;83(8):2257-64. doi: 10.1111/1750-3841.14273.
27. Hosseinzadeh L, Shokoohinia Y, Arab M, Allahyari E, Mojarrab M. Cytotoxic and Apoptogenic Sesquiterpenoids from the Petroleum Ether Extract of Artemisia aucheri Aerial Parts. Iran J Pharm Res. 2019;18(1):391-99.
28. Hatami T, Emami SA, Miraghaee SS, Mojarrab M. Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Different Extracts and Fractions from the Aerial Parts of Artemisia biennis Willd. Iran J Pharm Res. 2014;13(2):551-59.
29. Wu HB, Guo PX, Ma LH, Li XM, Liu TT. Nematicidal, antifungal and insecticidal activities of Artemisia halodendron extracts: New polyacetylenes involved. Ind Crops Prod. 2021 Oct;170:113825. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113825.