



پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی پزشکی
مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال سیزدهم، شماره ۱ صفحه ۲۴ - ۳۰ (بهار ۱۳۸۹)

بررسی اثر مهاری مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین بر

رشد ترایکوفایتون و روکوزوم

بهروز نعیمی^{۱*}، سasan رضایی^۲، فریده زینی^۳

^۱ گروه قارچ‌شناسی، دانشکده پرآپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

^۲ گروه میکروب‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۳ گروه قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه: ترایکوفایتون و روکوزوم یک درماتوفیت حیوان دوست است و باعث ایجاد کچلی در انسان و گاو می‌شود. جهت درمان موققیت‌آمیز این بیماری‌ها نیازمند شناخت ترکیبات ضدقارچی جدید جهت طراحی داروهای ضدقارچی نوین هستیم.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از یک سوش استاندارد و دو سوش بومی جدا شده از بیماران مراجعت کننده به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران استفاده شد. تعداد کنیدی‌های مورد استفاده و حداقل غلظت مهارکنندگی به دست آمده بر اساس دستورالعمل شماره M38A کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی به انجام رسید.

یافته‌ها: در غلظت ۲۵ میکرومولار بر میلی لیتر مخلوط کلرید مس با ۸-هیدروکسی کینولین سوش‌های استاندارد و بومی ترایکوفایتون و روکوزوم قادر به رشد نبودند.

نتیجه‌گیری: مشتقات کینولین‌ها دارای طیف وسیعی از فعالیت بیولوژیکی هستند، با توجه به نتایج به دست آمده تصور می‌شود ترکیبات کینولین یک کاندید مناسب برای داروهای ضد قارچی جدید می‌باشند.

واژگان کلیدی: درماتوفیت، ترایکوفایتون و روکوزوم، ضد قارچ، کلرید مس، ۸-هیدروکسی کینولین
دریافت مقاله: ۸۷/۱۱/۲ - پذیرش مقاله: ۸۸/۳/۱۰

* بوشهر، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، دانشکده پرآپزشکی

مقدمه

درماتوفیتوزیس یا کچلی از شایع ترین بیماری‌های قارچی محسوب می‌شود. درماتوفیت‌ها باعث این بیماری می‌شوند. یکی از این درماتوفیت‌ها، ترایکوفایتون و روکوزوم است که یک درماتوفیت حیوان دوست می‌باشد. این قارچ انتشار جهانی داشته و باعث ایجاد کچلی در گاو می‌شود. تماس مستقیم و غیرمستقیم با این درماتوفیت می‌تواند موجب ضایعات التهابی در سر و صورت و اکتوتریکس در موی انسان شود (۱ و ۲). جهت درمان انواع کچلی‌ها از داروی ضد قارچی گریز و فولوین استفاده می‌شود. در گذشته گمان می‌رفت که همه درماتوفیت‌ها نسبت به گریزوفولوین حساس هستند. لیکن امروزه مقاومت کامل یا مقاومت نسبی برخی از درماتوفیت‌ها نسبت به گریزوفولوین از مهم‌ترین علل شکست در درمان محسوب می‌شود (۲). بنابراین باستی ترکیبات ضدقارچی جدیدی جهت طراحی داروهای ضدقارچی کشف شوند.

سیستم‌های حلقوی با هسته مرکزی کینولین، پیشنهاد مناسبی جهت داروهای ضد میکروبی و بالطبع داروهای ضدقارچی هستند. اثر بعضی مشتقات کینولین علیه اپیدر موفیتون فلوکوزوم، ترایکوفایتون روبروم و میکروسپوروم جیپسئوم بررسی شده‌اند و مشخص شده است، که این ترکیبات به عنوان عوامل ضد قارچی قابل استفاده هستند (۳). در این تحقیق اثر مخلوط یک یون فلنزی-کلرید مس- و ۸-هیدروکسی کینولین بر رشد درماتوفیت ترایکوفایتون و روکوزوم بررسی شده است.

مواد و روش کار

در تهیه مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین، جهت تهیه مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین، ۲ روش می‌توان به کار برد. در روش اول می‌توان محلول کلرید مس دو ظرفیتی را قطره قطره به محلول الكلی ترکیب ۸-هیدروکسی کینولین همی سولفات اضافه کرد.

در روش دوم می‌توان مخلوط کلرید مس دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین تهیه کرد. در این تحقیق از این روش استفاده شد. برای تهیه این مخلوط محلول‌های ۱۰۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر از کلرید مس^۱ DMSO دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین در DMF^۲ تهیه شدند. حجم‌های برابر از محلول‌های ۱۰۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر از کلرید مس دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین به هم افزوده شدند و به این طریق محلول ۵۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر مخلوط کلرید مس دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین به دست شدند و جهت تهیه رقت‌های گوناگون ترکیب فوق حتی آمد. به این روش رقت‌های گوناگون ترکیب فوق حتی در حد میکرومولار تهیه گردیدند. محلول‌های ۱۰۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر کلرید مس دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین به عنوان ذخیره در فریزر نگهداری شدند و جهت تهیه رقت‌های مختلف از این دو ذخیره استفاده گردید.

تهیه سوسپانسیون قارچی الف) سوش قارچ

در این تحقیق از سوش استاندارد ترایکوفایتون و روکوزوم با کد PTCC:5056 و نیز ۲ سوش جدا شده از بیماران مراجعه‌کننده به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به شماره

¹ Dimethyl Sulfoxide

² Dimethyl Formamide

محیط کشت سابورو گلوکزبراث ۲ درصد حاوی کلرامفینیکل اضافه شد. بعد از آن ۵۰۰ میکرولیتر از رقت‌های ۱۰۰-۶۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر مخلوط کلرید مس و -۸-هیدروکسی کینولین به چاهک‌ها افزوده شد. به نحوی که در چاهک اول یا خانه شماره یک ۶۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر، در چاهک دوم یا در خانه شماره دو ۵۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر و درنهایت در چاهک آخر ردیف اول؛ یعنی، خانه شماره شش که غلاظت مخلوط کلرید مس و -۸-هیدروکسی کینولین در آن ۱۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر بود. در مرحله بعد به هر چاهک حاوی محیط کشت و مخلوط کلرید مس و -۸-هیدروکسی کینولین ۵۰۰ میکرولیتر، سوسپانسیون قارچی حاوی کنیدی‌های قارچ ترایکوفایتون و روکوزوم در ردیف دوم؛ یعنی، ردیف B چاهک اول یا خانه شماره یک به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. این چاهک حاوی محیط کشت و ۵۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون قارچی بود. چاهک دوم یا خانه شماره دو در این ردیف به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. این چاهک فقط حاوی محیط کشت تنها بود. چاهک سوم یا خانه شماره سه نیز کنترل منفی بود؛ ولی در این چاهک علاوه بر محیط کشت ۵۰۰ میکرولیتر از کمترین رقت ترکیب؛ یعنی ۱۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر اضافه شد. جهت تأیید جواب‌های به دست آمده هم زمان ردیف‌های سوم و چهارم؛ یعنی ردیف‌های C و D به ترتیب معادل ردیف‌های اول و دوم مورد استفاده قرار گرفتند. پلیت مربوط به قارچ ترایکوفایتون و روکوزوم در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. کشت هاروزانه مورد بازدید قرار گرفتند. با مشاهده رشد در چاهک کنترل مثبت و عدم رشد در چاهک‌های کنترل منفی، نتایج چاهک‌های حاوی رقت‌های مختلف ترکیب کلرید مس

دفتر ۱۰۰۵ و ۱۱۰۹ مورد استفاده قرار گرفتند.

ب) محیط کشت

تست‌ها در محیط سابورو گلوکزبراث ۲ درصد حاوی کلرامفینیکل انجام شدند.

ج) تهیه ذخیره سوسپانسیون

- در ابتدا قارچ ترایکوفایتون و روکوزوم در لوله‌های محیط کشت سابورو مالت آگار ۴ درصد کشت داده شد.

- سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به هر کدام از لوله‌ها اضافه شد و به کمک یک سوپاپ استریل خیس سطح کلندی‌های قارچ ترایکوفایتون و روکوزوم تراشیده شدند تا محلولی حاوی کنیدی و هایف تهیه شود.

- پس از آن به کمک پیپت استریل، محلول‌های حاوی کنیدی و قطعات هایف قارچ ترایکوفایتون و روکوزوم جمع آوری شد و به لوله‌های استریل منتقل شدند.

- جهت تهشیش شدن ذرات سنگین، لوله‌های حاوی سوسپانسیون قارچی به مدت ۲۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه نگهداری شدند.

- سپس به کمک پیپت استریل محلول فوقانی سوسپانسیون جمع آوری و در لوله‌های استریل نگهداری شدند.

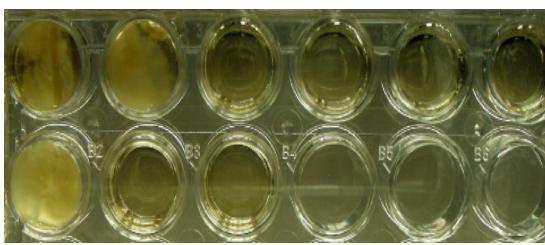
- در آخر توسط لام ثوبار تعداد کنیدی‌های قارچ ترایکوفایتون و روکوزوم شمارش شدند، تعداد کنیدی‌های قارچ ترایکوفایتون و روکوزوم 1.9×10^5 بود (۴).

نحوه آزمایش

الف) مرحله اول

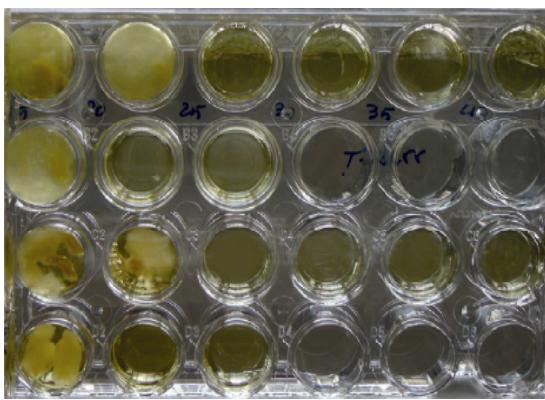
پس از تهیه سوسپانسیون حاوی کنیدی قارچ ترایکوفایتون و روکوزوم، در ابتدا رقت‌های ۱۰۰-۶۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر مخلوط کلرید مس و -۸-هیدروکسی کینولین تهیه شد. در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای در ردیف اول یا ردیف A در هر چاهک ۲ میلی‌لیتر

۱۰۰-۶۰۰ میکرومولار در میلی لیتر، رقت‌های به کار رفته کاهش یافت و مرحله دوم آزمایش با رقت‌های ۵۰-۱۰۰ صورت گرفت. در مرحله دوم نیز ترایکوفایتون و روکوزوم در چاهک دارای رقت ۵۰ میکرومولار در میلی لیتر مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین و چاهک‌های کترل منفی رشد نکردند و در چاهک کترل مثبت رشد کرد. بنابراین مجدداً رقت‌های مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین کاهش یافتد. در مرحله سوم که از غلظت‌های ۵-۵۰ میکرومولار بر لیتر استفاده شد، مخلوط با غلظت ۲۵ میکرومولار بر میلی لیتر به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) که قادر به مهار رشد سوش‌های استاندارد و بومی ترایکوفایتون و روکوزوم بررسی شده می‌باشد، شناخته شد (شکل ۱) (الف و ب).



شکل (۱-الف): اثر مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین بر ترایکوفایتون و روکوزوم در غلظتها مختلط

ردیف بالا (از چپ به راست): ۱۵، ۳۵، ۲۵، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرومولار بر میلی لیتر.
ردیف پایین (از چپ به راست): کترل مثبت، کترل منفی و کترل منفی با دارو.



شکل (۱-ب): اثر مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین بر سوش‌های محلی ترایکوفایتون و روکوزوم در غلظتها مختلط

ردیف‌های اول و دوم سوش شماره ۱۰۰۵ و ردیف‌های سوم و چهارم سوش شماره ۱۱۰۹ (واحد غلظت دارو میکرومول در میلی لیتر است).

و ۸-هیدروکسی کینولین و سوسپانسیون قارچی خوانده شدند. پس از اتمام دوره رشد، جهت تأیید جواب‌های به دست آمده کشت‌ها دوبار دیگر تکرار شدند.

ب) مرحله دوم

در این مرحله از رقت‌های ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ و ۱۰۰ استفاده شد. مانند مرحله قبل، ردیف A جهت تعیین حساسیت قارچ و ردیف B به عنوان کترل مثبت و کترل‌های منفی استفاده شدند. ردیف‌های C و D نیز برای تأیید جواب مورد بهره‌برداری قرار گرفتند. برای تأیید جواب‌های به دست آمده، آزمایش‌ها دوبار دیگر انجام شدند.

ج) مرحله سوم

در این مرحله از رقت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکرومولار در میلی لیتر به همان روش قبل استفاده شد و در نهایت غلظت تأثیرگذار در مهار رشد قارچ به دست آمد. بر اساس دستورالعمل شماره M38A کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی^۳، حداقل غلظتی از ترکیب ضد قارچی که قادر به مهار رشد ارگانیسم بوده و این قدرت مهارکنندگی از طریق مشاهده کردن اثبات شود، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی یا MIC شناخته شدند (۵).

یافته‌ها

مخلوط کلرید مس با ۸-هیدروکسی کینولین در غلظت‌های مختلف بر قارچ ترایکوفایتون و روکوزوم اثرداده شد. در این آزمون جهت تأیید آزمایش حساسیت دارویی به طور همزمان از محیط کشت حاوی قارچ و عاری از قارچ و دارو به عنوان کترل مثبت و محیط کشت عاری از قارچ و دارو به عنوان کترل منفی استفاده شد. در مرحله اول انجام آزمایش، بهدلیل عدم رشد قارچ در چاهک‌های حاوی مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین با رقت‌های

³ National Committee for Clinical and Laboratory Standards(NCCLS) In Method M-38A

بحث

بیماری‌های قارچی پوستی جزء شایع‌ترین بیماری‌های قارچی محسوب می‌شوند. درماتوفیت‌های متعددی عامل این بیماری هستند که می‌توان از ترایکوفایتون روبروم و ترایکوفایتون وروکوزوم نام برد. ترایکوفایتون روبروم یک درماتوفیت انسان دوست است (۶) و از شایع‌ترین درماتوفیت‌هایی است که باعث انواع کچلی‌ها به‌خصوص کچلی دست، پا و کشاله ران می‌شود (۷ و ۸). ترایکوفایتون وروکوزوم یک درماتوفیت حیوان دوست است که در انسان و حیوانات ضایعات شدید پوستی ایجاد می‌کند (۹). این درماتوفیت یکی از معضلات بهداشتی در انسان و بهداشتی‌اقتصادی در حیوان‌ها است و زیان‌های اقتصادی مهمی در صنعت دامپوری ایجاد می‌کند (۱۰ و ۱۱).

قارچ‌ها علاوه بر بیماری‌های پوست، موجب بیماری در سایر اعضاء نیز می‌شوند که گاهی تهدیدکنندهٔ حیات می‌باشد. عفونت‌های قارچی یک عامل مهم بیماری و مرگ در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی در ۲ دهه اخیر می‌باشند. تأثیر محدود و سمیت بالای داروهای ضدقارچی موجود، نیاز ما را جهت ترکیبات ضدقارچی جدید برای جایگزینی داروهای موجود نمایان می‌کند (۱۲). نکتهٔ مهم در مورد ترکیبات ضدقارچی جدید این است که آن‌ها نه تنها باستی از رشد نژادهای استاندارد جلوگیری کنند، بلکه باستی قادر به مهار رشد ایزولهای جدا شده از نمونه‌های بالینی بیماران مبتلا به عفونت‌های قارچی نیز باشند (۱۳).

فرآیند تولید و پیشرفت داروهای ضدقارچی آهسته و کند پیش می‌رود، بنابراین تنوع این داروها بسیار کم است. این نقیصه دلایل متعددی دارد از جمله این‌که قارچ‌ها یوکاریوت هستند و شباهت زیادی به سلول‌های انسان و حیوان دارند و شیوع بیماری‌های

قارچی کمتر از بیماری‌های باکتریایی و پیش‌آگهی آن‌ها بهتر از بیماری‌های باکتریایی است (۱).

کینولین‌ها و مشتقات آن‌ها طیف وسیعی از فعالیت بیولوژیکی مثل فعالیت ضد انگلی (۱۴)، ضد باکتریایی (۱۵)، ضد اکتینومایستی (۱۶) و ضد التهابی (۱۷) را از خود نشان می‌دهند. خصوصیات ضد قارچی برای -هیدروکسی کینولین و مشتقات آن (۱۸) نیز گزارش شده است. با توجه به مطالب فوق به‌دلیل وجود طیف وسیع فعالیت بیولوژیکی، تصور می‌شود ترکیبات کینولین یک کاندید مناسب جهت تحقیق داروهای ضد قارچی جدید باشند.

مطالعات اخیرنشان داده است، برخی ترکیبات کینولین مثل مشتقات کلر و برم قادر به مهار بعضی از ساپروفیت‌ها مثل آسپرژیلوس هستند (۱۹). البته بر اساس محل قرار گرفتن مشتقات در حلقه کینولین توانایی ضدقارچی آن تغییر می‌کند (۲۰ و ۲۱). در ضمن بعضی از مشتقات کینولین، قدرت هم‌افزایی دارند (۲۲). با این وجود در ایران برخی از مشتقات کینولین سنتز شده و اثرات ضدقارچی آن‌ها بررسی گردیده و متوجه شده‌اند که این ترکیبات اثر ضد قارچی ندارند (۲۳). در بررسی حاضر مشخص شد که مخلوط کلرید مس دو ظرفیتی و -هیدروکسی کینولین قادر به مهار رشد درماتوفیت ترایکوفایتون وروکوزوم است. این مخلوط در غلظت ۲۵ میکرومولار در میلی‌لیتر بر قارچ ترایکوفایتون وروکوزوم اثر گذاشته و از رشد آن‌ها جلوگیری می‌کند.

از آنجایی‌که این مخلوط یک ماده استاندارد شده نیست؛ بنابراین تنها در مورد تعداد میکروکوئنیدی‌های قارچ از استانداردهای موجود استفاده شد. تحقیقات متعددی در مورد اثرات ضد قارچی داروهای تجاری علیه ترایکوفایتون روبروم و درماتوفیت‌های دیگر به

مخلوط را پایین آورده و سرعت تأثیر این مخلوط ضد قارچی را افزایش داد.

کچلی ها از شایع ترین بیماری های قارچی هستند (۱)؛ اما بعضی از بیماری های قارچی هستند که به شدت تهدید کننده زندگی محسوب می شوند. با پیشرفت علوم پزشکی در تشخیص و درمان بیماری های عصر جدید، شیوع بیماری های قارچی خطرناک به ویژه بیماری های قارچی فرست طلب مثل کاندیدیازیس، کرپتوکوکوزیس، آسپرژیلوزیس، زیگومایکوزیس و سایر بیماری های قارچی نیز افزایش یافته اند (۲). با توجه به این موارد و این که داروهای ضدقارچی موجود محدود بوده؛ بنابراین احساس می شود به پروتکل های جدید ضدقارچی جهت پیش گیری و درمان این بیماری ها در انسان و حیوان ها نیاز است. هر چند فعالیت ضد درماتوفیتی مخلوط کلرید مس دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین علیه ترایکوفایتون و روکوزوم نشان داده شد؛ اما بررسی توانمندی این ترکیب از نظر مقایسه اثر کلرید مس دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین با داروهای ضدقارچی موجود، بررسی ایمن بودن مخلوط کلرید مس دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین بر کشت سلولی و حیوان های آزمایشگاهی، بررسی خواص سینرژیسم این مخلوط با داروهای ضد قارچی دیگر، بررسی اثر این مخلوط بر سایر قارچ ها در مطالعات آینده مفید می باشد.

References:

- Zeini F, Mehbod ASA, Emami M. Comprehensive medical mycology (Persian). 3rd ed. Tehran: university of Tehran press 2009, 111-190.
- Shadzi S. Medical mycology. 9th ed. Isfahan: university of isfahan press 2006,93-149. (Persian).
- Bahal SM, Khorana ML. Studies on quinoline derivatives as anti-infective agents II. J Pharm Sci 1961; 50(2):131-3.
- Kane J, Smitka C. Early detection and identification of *Trichophyton verrucosum*. J Clin Microbiol 1978; 8(6):740-7.
- National Committee for Clinical and Laboratory Standards(NCCLS) In Method M-38A, 2nd ed,Wayne Ed.; NCCLS: Pennsylvania, 2002, Vol. 22, no. 16, pp 1-26.
- Yang J, Chen L, Wang L, et al. TrED: the *Trichophyton rubrum* expression database. BMC Genomics 2007;8: 250.

انجام رسیده است و در این آزمایش ها تعداد کنیدی های این قارچ استاندارد شده و مورد تأیید NCCLS است؛ ولی در مورد ترایکوفایتون و روکوزوم، مشکل استاندارد شدن تعداد کنیدی ها هنوز مسئله ساز است. در طی بررسی متون موجود به یک مقاله مورد تأیید NCCLS دسترسی یافتیم و از استاندارد تعداد کنیدی ترایکوفایتون و روکوزوم در آن مقاله استفاده شد (۴).

ترکیباتی که به عنوان عوامل ضدقارچی مورد استفاده قرار می گیرند، علاوه بر توانایی ضدقارچی باقیستی برای استفاده در انسان و حیوانات، ایمن و بی خطر باشند. جهت تعیین ایمن بودن عوامل ضد میکروبی در مرحله اول می توان از محیط های کشت سلولی و در پی آن از مدل های حیوان آزمایشگاهی استفاده نمود. استفاده از غلظت های ضدقارچی مخلوط کلرید مس دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین بر محیط کشت سلولی و حیوان آزمایشگاهی و بررسی اثرات آن بر این سلول ها و مدل ها این امکان را مهیا می سازد تا تصمیمی صحیح در مورد این مخلوط گرفته شود. مهیا شدن شرایط برای نفوذ بهتر این مخلوط به درون سلول قارچی می تواند کمک کننده تأثیر گذاری بهتر آن باشد. به نظر می رسد در صورت استفاده هم زمان این مخلوط با داروهای ضدقارچی موجود که بر غشای سیتوپلاسمی قارچ اثر می گذارند، می توان غلظت مؤثر

7. Young CN. Range of variation among isolates of *Trichophyton rubrum*. *Med mycol* 1992;10:164-70.
8. Yu L, Zhang W, Wang L, et al. Transcriptional profiles of the response to ketoconazole and amphotericin B in *Trichophyton rubrum*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(1):144-53.
9. Havlickova B, Czaika VA, Friedrish M. Epidemiology tends in skin mycosis worldwide. *Mycoses* 2008;42:15.
10. Fadlelmula A, Mackenzie DWR. Non-specific immune responses elicited by phagocytes on the dermatophyte: *Trichophyton verrucosum*. *Scientific journal of king faisal university* 2002; 3(1):72-92.
11. Aste N, Pau M, Aste N. *Tinea manuum bullosa*. *Mycoses* 2005;48: 80-1.
12. Patterson T. Advances and challenges in management of invasive mycoses. *Lancet* 2005; 366(9490):1013-25.
13. Ablordeppey SY, Fan P, Ablordeppey JH, et al. Systemic antifungal agents against AIDS-related opportunistic infections: current status and emerging drugs in development. *Curr Med Chem* 1999;6(12):1151-95.
14. Blackie MA, Beagley P, Croft SL, et al. Metallocene-based antimalarials: an exploration into the influence of the ferrocenyl moiety on in vitro antimarial activity in chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant strains of *Plasmodium falciparum*. *Bioorg Med Chem* 2007;15(20): 6510-6.
15. Metwally KA, Abdel-Aziz LM, Lashine EM, et al. Hydrazones of 2-aryl-quinoline-4-carboxylic acid hydrazides: synthesis and preliminary evaluation as antimicrobial agents. *Bioorg Med Chem* 2006;14(22):675- 82.
16. Vangapandu S, Jain M, Jain R, et al. Ring-substituted quinolines as potential anti-tuberculosis agents *Bioorg Med Chem* 2004; 12(10):2501-8.
17. Chen Y, Zhao Y, Lu C, et al. Synthesis, cytotoxicity, and anti-inflammatory evaluation of 2-(furan-2-yl)-4-(phenoxy)quinoline derivatives. Part 4. *Bioorg Med Chem* 2006;14(13):4373-78.
18. Musiol R, Jampilek J, Buchta V, et al. Antifungal properties of new series of quinoline derivatives. *Bioorg Med Chem* 2006;14(10):3592-8.
19. Gershon H, Clarke DD, Gershon M. Evidence of steric factors in the fungitoxic mechanisms of 8-quinolinol and its 5-halogenated and 7-halogenated analogues. *J Pharm Sci* 1991;80:542-4.
20. Gershon H, Clarke DD, Gershon M. Preparation and fungitoxicity of some dichloro-8-quinolinols. *Monatsh Chem* 1999; 130:653-9.
21. Gershon H, Gershon M. Intramolecular synergism, an explanation for the enhanced toxicity of halo-8-quinolinols. *Monatsh Chem* 1995;126:1303-9.
22. Gershon H, Gershon M, Clarke DD. Antifungal activity of substituted 8-quinolinol-5- and 7-sulfonic acids: a mechanism of action is suggested based on intramolecular synergism. *Mycopathologia* 2001;155:213-217.
23. Abdollahnejad K. Synthesis of 4-carboxamide quinoline derivatives and study of antimicrobial and antifungal activities. Thesis of Ph.D. Tehran University of medical science, school of pharmacy, 1991. (Persian)