



فصلنامه طب جنوب

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 ۳۰ - ۲۴ (بهار ۱۳۸۹)

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

رشد تریکوفایتون و روکوزوم

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

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

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

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

چکیده

زمینه: تریکوفایتون و روکوزوم یک درماتوفیت حیوان دوست است و باعث ایجاد کچلی در انسان و گاو می‌شود. جهت درمان موفقیت‌آمیز 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 مراجعه‌کننده 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 تریکوفایتون 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، تریکوفایتون 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 پیراپزشکی

Email: b.naeimi1350@gmail.com

مقدمه

درماتوفیتوزیس یا کچلی از شایع ترین بیماری های فارچی محسوب می شود. درماتوفیت ها باعث این بیماری می شوند. یکی از این درماتوفیت ها، ترایکوفایتون وروکوزوم است که یک درماتوفیت حیوان دوست می باشد. این قارچ انتشار جهانی داشته و باعث ایجاد کچلی در گاو می شود. تماس مستقیم و غیرمستقیم با این درماتوفیت می تواند موجب ضایعات التهابی در سر و صورت و اکتوتریکس در موی انسان شود (۱ و ۲). جهت درمان انواع کچلی ها از داروی ضد قارچی گریز و فولوین استفاده می شود. در گذشته گمان می رفت که همه درماتوفیت ها نسبت به گریزوفولوین حساس هستند. لیکن امروزه مقاومت کامل یا مقاومت نسبی برخی از درماتوفیت ها نسبت به گریزوفولوین از مهم ترین علل شکست در درمان محسوب می شود (۲). بنابراین بایستی ترکیبات ضدقارچی جدیدی جهت طراحی داروهای ضدقارچی کشف شوند.

سیستم های 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 شده اند و مشخص شده است، که این ترکیبات به عنوان عوامل ضد قارچی قابل استفاده هستند (۳). در این تحقیق اثر مخلوط یک یون فلزی - کلرید مس- و ۸-هیدروکسی کینولین بر رشد درماتوفیت ترایکوفایتون وروکوزوم 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 می توان به کار برد. در روش اول می توان محلول کلرید مس دو ظرفیتی را قطره قطره به محلول الکلی ترکیب ۸-هیدروکسی کینولین همی سولفات اضافه کرد.

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

تهیه سوسپانسیون قارچی

الف) سوش قارچ

در این تحقیق از سوش استاندارد ترایکوفایتون وروکوزوم با کد PTCC:5056 و نیز ۲ سوش جدا شده از بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به شماره

^۱ Dimethyl Sulfoxide

^۲ Dimethyl Formamide

دفتر ۱۰۰۵ و ۱۱۰۹ مورد استفاده قرار گرفتند.

ب) محیط کشت

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

ج) تهیه ذخیره سوسپانسیون

- در ابتدا قارچ ترایکوفایتون وروکوزوم 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 سواب استریل خیس سطح کلنی‌های قارچ ترایکوفایتون وروکوزوم 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 وروکوزوم جمع‌آوری شد و به لوله‌های استریل منتقل شدند.

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

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

- در آخر توسط لام نوبار تعداد کنیدی‌های قارچ ترایکوفایتون وروکوزوم شمارش شدند، تعداد کنیدی‌های قارچ ترایکوفایتون وروکوزوم $10^5 \times 1/9$ بود (۴).

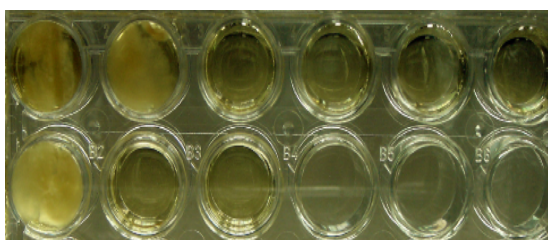
نحوه آزمایش

الف) مرحله اول

پس از تهیه سوسپانسیون حاوی کنیدی قارچ ترایکوفایتون وروکوزوم، در ابتدا رقت‌های ۶۰۰-۱۰۰ 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

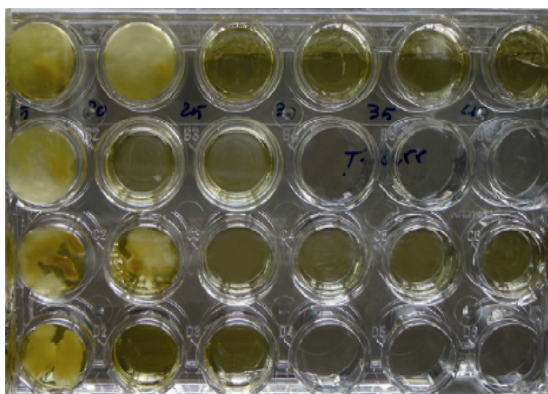
محیط کشت سابورو گلوکزبراث ۲ درصد حاوی کلرامفنیکل اضافه شد. بعد از آن ۵۰۰ میکرولیتر از رقت‌های ۶۰۰-۱۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین به چاهک‌ها افزوده شد. به نحوی که در چاهک اول یا خانه شماره یک ۶۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر، در چاهک دوم یا در خانه شماره دو ۵۰۰ میکرومولار در میلی‌لیتر و در نهایت در چاهک آخر ردیف اول؛ یعنی، خانه شماره شش که غلظت 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 وروکوزوم در ردیف دوم؛ یعنی، ردیف B چاهک اول یا خانه شماره یک به‌عنوان 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 به‌عنوان 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 به‌دست 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 وروکوزوم 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

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



شکل (۱-الف): اثر مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین بر تریاکوفایتون و روکوزوم در غلظتهای مختلف

ردیف بالا (از چپ به راست): ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ میکرومولار بر میلی‌لیتر. ردیف پایین (از چپ به راست): کنترل مثبت، کنترل منفی و کنترل منفی بادارو



شکل (۱-ب): اثر مخلوط کلرید مس و ۸-هیدروکسی کینولین بر سوش‌های محلی تریاکوفایتون و روکوزوم در غلظت‌های مختلف
ردیف‌های اول و دوم سوش شماره ۱۰۰۵ و ردیف‌های سوم و چهارم سوش شماره ۱۱۰۹ (واحد غلظت دارو میکرو مول در میلی‌لیتر است).

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

ب) مرحله دوم

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

ج) مرحله سوم

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

یافته‌ها

مخلوط کلرید مس با ۸-هیدروکسی کینولین در غلظت‌های مختلف بر قارچ تریاکوفایتون و روکوزوم اثر داده شد. در این آزمون جهت تأیید آزمایش حساسیت دارویی به‌طور همزمان از محیط کشت حاوی قارچ و عاری از دارو به‌عنوان کنترل مثبت و محیط کشت عاری از قارچ و دارو به‌عنوان کنترل 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 تریکوفایتون روبروم و تریکوفایتون وروکوزوم نام برد. تریکوفایتون 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). تریکوفایتون 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 بهداشتی-اقتصادی در حیوان‌ها است و زیان‌های اقتصادی مهمی در صنعت دامپروری ایجاد می‌کند (۱۰ و ۱۱).

قارچ‌ها علاوه بر بیماری‌های پوست، موجب بیماری در سایر اعضا نیز می‌شوند که گاهی تهدیدکننده 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). نکته مهم در مورد ترکیبات ضدقارچی جدید این است که آن‌ها نه تنها بایستی از رشد نژادهای استاندارد جلوگیری کنند، بلکه بایستی قادر به مهار رشد ایزوله‌های 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 اکتینوماستی (۱۶) و ضد التهابی (۱۷) را از خود نشان می‌دهند. خصوصیات ضد قارچی برای ۸-هیدروکسی کینولین و مشتقات آن (۱۸) نیز گزارش شده است. با توجه به مطالب فوق به دلیل وجود طیف وسیع فعالیت بیولوژیکی، تصور می‌شود ترکیبات کینولین یک کاندید مناسب جهت تحقیق داروهای ضد قارچی جدید باشند.

مطالعات اخیر نشان 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 ۸-هیدروکسی کینولین قادر به مهار رشد درماتوفیت تریکوفایتون وروکوزوم است. این مخلوط در غلظت ۲۵ میکرومولار در میلی‌لیتر بر قارچ تریکوفایتون وروکوزوم اثر گذاشته و از رشد آن‌ها جلوگیری می‌کند.

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

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

کچلی‌ها از شایع‌ترین بیماری‌های قارچی هستند (۱)؛ اما بعضی از بیماری‌های قارچی هستند که به شدت تهدید کننده زندگی محسوب می‌شوند. با پیشرفت علوم پزشکی در تشخیص و درمان بیماری‌های عصر جدید، شیوع بیماری‌های قارچی خطرناک به‌ویژه بیماری‌های قارچی فرصت‌طلب مثل کاندیدیازیس، کریپتوکوکوزیس، آسپرژیلوزیس، زیگومایکوزیس و سایر بیماری‌های قارچی نیز افزایش یافته‌اند (۲). با توجه به این موارد و این که داروهای ضدقارچی موجود محدود بوده؛ بنابراین احساس می‌شود به پروتکل‌های جدید ضدقارچی جهت پیش‌گیری و درمان این بیماری‌ها در انسان و حیوان‌ها نیاز است. هر چند فعالیت ضد درماتوفیتی مخلوط کلرید مس دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین علیه تریاکوفایتون 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 حیوان‌های آزمایشگاهی، بررسی خواص سینرژسم این مخلوط با داروهای ضد قارچی دیگر، بررسی اثر این مخلوط بر سایر قارچ‌ها در مطالعات آینده مفید می‌باشد.

انجام رسیده است و در این آزمایش‌ها تعداد کندی‌های این قارچ استاندارد شده و مورد تأیید NCCLS است؛ ولی در مورد تریاکوفایتون و روکوزوم، مشکل استاندارد شدن تعداد کندی‌ها هنوز مسأله‌ساز است. در طی بررسی متون موجود به یک مقاله مورد تأیید NCCLS دسترسی یافتیم و از استاندارد تعداد کندی تریاکوفایتون و روکوزوم در آن مقاله استفاده شد (۴).

ترکیباتی که به‌عنوان عوامل ضدقارچی مورد استفاده قرار می‌گیرند، علاوه بر توانایی ضدقارچی بایستی برای استفاده در انسان و حیوانات، ایمن و بی‌خطر باشند. جهت تعیین ایمن بودن عوامل ضد میکروبی در مرحله اول می‌توان از محیط‌های کشت سلولی و در پی آن از مدل‌های حیوان آزمایشگاهی استفاده نمود. استفاده از غلظت‌های ضدقارچی مخلوط کلرید مس دو ظرفیتی و ۸-هیدروکسی کینولین بر محیط کشت سلولی و حیوان آزمایشگاهی و بررسی اثرات آن بر این سلول‌ها و مدل‌ها این امکان را مهیا می‌سازد تا تصمیمی صحیح در مورد این مخلوط گرفته شود.

مهیا شدن شرایط برای نفوذ بهتر این مخلوط به درون سلول قارچی می‌تواند کمک کننده تأثیرگذاری بهتر آن باشد. به‌نظر می‌رسد در صورت استفاده هم‌زمان این مخلوط با داروهای ضدقارچی موجود که بر غشای سیتوپلاسمی قارچ اثر می‌گذارند، می‌توان غلظت مؤثر

References:

1. Zeini F, Mehbod ASA, Emami M. Comprehensive medical mycology (Persian). 3rd ed. Tehran: university of Tehran press 2009, 111-190.
2. Shadzi S. Medical mycology. 9th ed. Isfahan: university of isfahan press 2006, 93-149. (Persian).
3. Bahal SM, Khorana ML. Studies on quinoline derivatives as anti-infective agents II. J Pharm Sci 1961; 50(2):131-3.
4. Kane J, Smitka C. Early detection and identification of *Trichophyton verrucosum*. J Clin Microbiol 1978; 8(6):740-7.
5. 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.
6. Yang J, Chen L, Wang L, et al. TrED: the *Trichophyton rubrum* expression database. BMC Genomics 2007; 8: 250.

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 trends in skin mycosis worldwide. *Mycoses* 2008;4:2-15.
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 antimalarial 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, Gershonl 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)