مقاله پژوهشی

بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره متانولی پروتوپارملیوپسیس مورالیس علیه آسپرژیلوس فلاووس در شرایط In vivo

سمیه راشکی*، طاهره ولدبیگی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۲/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱۰/۰۵

چکیده

مقدمه: گلسنگ از همزیستی بین یک قارچ با یک جلبک یا سیانوباکتری به وجود آمده است. فعالیت‌های زیستی مختلف بعضی گونه‌های گلسنگ و ترکیبات آن‌ها از قبیل مواد ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد تومور، ضدالتهاب و ضد انگل شناخته شده است. در این مطالعه بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره متانولی پروتوپارملیوپسیس مورالیس علیه آسپرژیلوس فلاووس در مدل حیوانی روی رت بررسی می‌گردد.

مواد و روش‌ها: ۵۰۰ گرم پروتوپارملیوپسیس مورالیس از کوه‌های کان‌گنبد در استان ایلام جمع‌آوری شد، عصاره متانولی آن با استفاده از سوکسله تهیه گردید. جهت تعیین فعالیت ضد قارچی در شرایط این‌ویو بعد از ایجاد زخم، سطح زخم با قارچ آسپرژیلوس فلاووس آلوده گردید. بعد از اطمینان از عفونی شدن زخم‌ها، رت‌ها در ۴ زیرگروه تقسیم شدند. گروه کنترل منفی، درمان شده با پماد کلوتریمازول، درمان شده با پماد ۵ درصد عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس و درمان شده با پماد ۱۰ درصد عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس. درمان تا بهبود کامل زخم ادامه یافت. درنهایت درصد بهبود زخم محاسبه گردید.

نتایج: این تحقیق نشان داد که عصاره متانولی پروتوپارملیوپسیس مورالیس مساحت زخم را در گروه درمان نسبت به گروه کنترل به‌طور قابل‌توجهی کاهش داد.

نتیجه‌گیری: فعالیت ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس مسئول سرعت بخشیدن به مراحل التیام زخم است.

کلمات کلیدی: آسپرژیلوس فلاووس، پروتوپارملیوپسیس مورالیس، زخم، قارچ، عصاره

مقدمه

امروزه افزایش عفونت‌های قارچی در افراد مبتلا به بیماری-های وخیم و بیماران با سیستم ایمنی تضعیف‌شده به‌عنوان یکی از عوامل مرگ‌ومیر به شمار می‌رود (۱). رشد تکنولوژی و پیشرفت علوم پزشکی و نیز بهبود شرایط اجتماعی و بالا رفتن سطح بهداشت عمومی در جوامع پیشرفته به نحو چشمگیری موجب کنترل بیماری‌های عفونی و خصوصاً قارچی گردیده است (۲).

عفونت‌های قارچی فرصت‌طلب معمولاً در افراد مستعد باعث ایجاد بیماری‌های حاد و کشنده می‌گردد. بیماری‌های قارچی مرتبط با قارچ‌های آسپرژیلوس اصطلاحاً آسپرژیلوزیس نامیده می‌شود. به‌طوری‌که در بعضی افراد به‌صورت ضایعات ایجادشده در محل کاتتر وریدی که پانسمان آلوده داشته‌اند ظاهر می‌شود و منبعی برای انتشار عفونت است. ضایعات ایجادشده معمولاً قرمز تا بنفش‌رنگ هستند و پلاک‌های سخت و زخم نکروزه ایجاد می‌کنند که با لایه خشک سیاه‌رنگ پوشیده شده است (۳).

استفاده از گیاهان دارویی به‌منظور درمان با تاریخ زندگی انسان همزمان بوده است (۴). اگرچه در نیم‌قرن گذشته استفاده از داروهای شیمیایی و سنتزی به‌شدت رواج یافت ولی به‌سرعت آثار زیان‌بار آن‌ها بر زندگی انسان سبب گرایش مجدد به گیاهان دارویی گردید. اکثر داروهای شیمیایی که امروزه مصرف می‌شوند اثرات سویی بر روی انسان بر جای می‌گذارند؛ بنابراین طی سالیان متمادی داروهای طبیعی به‌خصوص گیاهان دارویی اساس و حتی در برخی موارد تنها راه درمان محسوب می‌شوند و در همین حال مواد اولیه موجود در آن‌ها در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵، ۶).

*نویسنده مسئول: **سمیه راشکی**، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
Email: somaye_rashki@yahoo.com

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.1.2.1]

در طی پنج دهه گذشته درزمینهٔ اثرات دارویی گلسنگ-های مناطق مختلف جهان پژوهش‌های زیادی صورت گرفته است. گونه‌های آنتی‌میکروبی *Parmelia* به دلیل دارا بودن ترکیباتی نظیر آترانورین، باربانیک اسید، نورستیک اسید، اسنیک اسید و ولپینیک اسید، در طب سنتی به‌صورت پماد برای درمان زگیل‌ها و بیماری‌های جمجمه‌ای بکار می‌روند (۷). همچنین جوشانده و عصاره بعضی از گونه‌ها جهت درمان خال-های گوشتی و به‌عنوان مقوی قلب استفاده می‌شوند (۸). دیفرکتائیک و اسنیک اسید جداسازی شده از *Usnea diffracta* به‌عنوان مسکن و ضدتب استفاده می‌شود (۹). بسیاری از گلسنگ‌ها مانند *Heterodermiao bscurata* و *Nephromalae vigatum* دارای آنتراکوئینون بوده و در صنایع رنگرزی و کاغذسازی به کار می‌روند.

تحقیقات در مورد کاربرد تجاری و سنتی گلسنگ‌ها در هند نشان می‌دهد که ۳۸ گونه مختلف به‌صورت تجاری به فروش می‌رسند. در اروپا *Cetraria islandica* در درمان بیماری‌های مختلف دستگاه تنفسی و زکام کاربرد دارد (۱۰). بیسواس در سال ۱۹۹۲ گزارش کرده است که گونه گلسنگ *Lobaria pulmonaria* در ناحیه Sikkim برای درمان آسم، اگزما، بیماری‌های تنفسی و خونریزی استفاده می‌شود. همچنین آکلانی و یوپرتی در سال ۱۹۹۲ گزارش کرده‌اند که Heterodermia *diademata* در کشور هند برای محافظت زخم-ها و بریدگی‌ها از عفونت کاربرد دارد (۱۱، ۱۲). بااین‌حال درزمینهٔ کاربرد دارویی گلسنگ‌ها در ایران و همچنین خواص ضد قارچی عصاره موردنظر در شرایط این‌ویوو (ترمیم زخم) در دنیا مطالعه مؤثری صورت نگرفته است. لذا در این تحقیق به بررسی اثرات دارویی گلسنگ‌های بومی ایران بخصوص خواص ترمیم زخمی عفونی در مدل حیوانی پرداخته شده است. به این امید که زمینه مناسبی جهت پژوهش در این راستا در کشور فراهم آورده شود. بدیهی است که نتایج مثبت حاصل از این مطالعه و با توجه به عوارض جانبی کمتر و اثرات ضد میکروبی نیاز به مطالعات گسترده‌تری در مورد کاربرد اثرات دارویی این‌گونه روی انسان دارد.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری

۵۰۰ گرم گلسنگ پروتوپارملیوپسیس مورالیس از کوه‌های کان‌گنبد در استان ایلام جمع‌آوری شد. سپس با استفاده از کلید شناسایی استاندارد و همچنین مقایسه با نمونه‌های معتبر در هرباریوم برلین (B) و مونیخ (M) شناسایی گردید. نمونه‌ها پس از شستشو و خشک شدن در سایه، به‌صورت پودر درآمدند و عصاره متانولی آن‌ها با استفاده از سوکسله تهیه گردید (۱۳).

تهیه پماد

برای تهیه پماد از عصاره متانولی خشک‌شده استفاده گردید. پماد در دو غلظت ۵٪ و ۱۰٪ تهیه شد. برای تهیه پماد ۵٪، ۰/۵ گرم عصاره خشک‌شده در ۱ میلی‌لیتر متانول به‌طور کامل حل شد. درنهایت با ۴ گرم اوسرین (پایه پماد) مخلوط گردید به‌این‌ترتیب پماد ۵٪ از عصاره پروتوپارملیوسیس مورالیس به دست آمد. جهت تهیه پماد ۱۰٪، ۱ گرم عصاره خشک‌شده در ۱ میلی‌لیتر متانول حل گردید. سپس با ۹ گرم اوسرین مخلوط گردید (۱۴).

حیوانات

جهت انجام این تحقیق از ۲۰ رت ویستار (در هر گروه ۵ رت) استفاده شد. رت‌ها از دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه ایلام تهیه شد و همه مراحل در حیوان‌خانه دانشکده پیرادامپزشکی انجام گرفت. رت‌ها در سیکل نورانی ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی و با دسترسی کامل به آب و غذا نگه‌داری شدند. سپس با استفاده از داروی بی‌هوشی دی‌کلرواتان بی-هوش شدند و زخمی به طول ۵ سانتی‌متر ایجاد شد (۱۵).

عفونی کردن محل زخم

با استفاده از سوسپانسیون قارچ آسپرژیلوس فلاووس معادل نیم مک فارلند ($1/5 \times 10^6$ CFU/ml) تهیه شده، محل زخم به قارچ آسپرژیلوس فلاووس آلوده شد. برای اطمینان از رشد میکروارگانسیم‌ها، از سطح زخم کشت تهیه گردید. برای این منظور از محیط کشت سابرو دکستروز آگار استفاده شد. بعد از اطمینان از عفونی شدن محل زخم، رت‌ها به‌صورت تصادفی در گروه‌هایی به‌صورت ذیل تقسیم شد.

A- گروه کنترل منفی
B- گروه تحت درمان با کلوتریمازول
C- گروه تحت درمان با پماد ۵٪
D- گروه تحت درمان با پماد ۱۰٪

بعد از تقسیم‌بندی گروه‌ها درمان آغاز شد. درمان به‌صورت روزانه و در ساعات مشخصی از طول روز انجام شد و تا زمان ترمیم کامل زخم ادامه یافت. برای محاسبه مساحت زخم جهت بررسی مورفومتریک از نرم‌افزار آنالیز تصاویر فرایند التیام زخم

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.1.2.1]

Motic Images 20001.2 استفاده شد. درصد بهبودی زخم طبق فرمول زیر محاسبه شد (۱۶).

$$\text{درصد بهبودی زخم} = \frac{\text{سطح زخم در روز } A - \text{سطح زخم در روز اول}}{\text{سطح زخم درروز اول}} \times 100$$

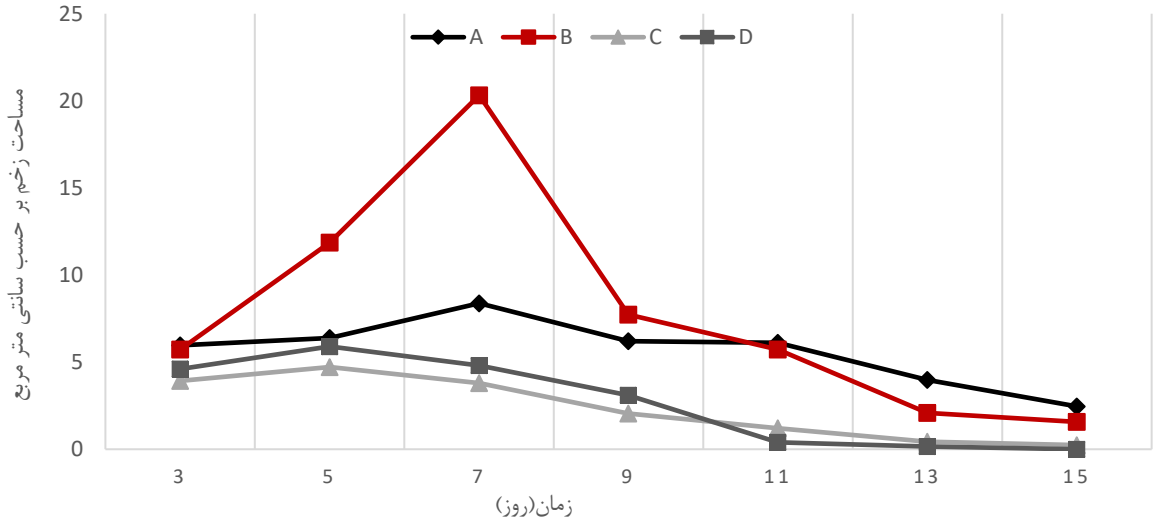
A: روزهای ۱، ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۱

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس برای مقایسه نتایج از آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی (Tukey) استفاده شد و نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند. اختلافات بین داده‌ها با در نظر گرفتن P<۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج تحلیل تصاویر نشان داد که در گروه کنترل از روز سوم تا یازدهم افزایش چشم‌گیری در سطح زخم مشاهده شد (نمودار ۱، A) به‌طوری‌که تا روز پانزدهم درصد بهبودی زخم صفر بود و هیچ‌گونه بهبودی صورت نگرفت (نمودار ۲). در این گروه پلاک‌های سخت و زخم نکروزه ایجاد شد که با لایه خشک سیاه‌رنگ پوشیده شد که به آن اسکلروتیوم گفته می‌شود (شکل ۱). در گروه تحت درمان با پماد کلوتریمازول از روز سوم تا روز هفتم افزایش چشم‌گیری در سطح زخم مشاهده شد؛ اما برخلاف گروه کنترل از روز هفتم تا سیزدهم روند کاهشی وجود داشت و مساحت زخم کاهش یافت (نمودار۱، B). همچنین درصد بهبود زخم در روز پانزدهم در این گروه ۲۴ درصد بود که نسبت به گروه کنترل در روز سیزدهم اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ درصد مشاهده شد (نمودار ۲). در گروه تحت درمان با پماد ۵ درصد روند التیام زخم از وضعیت بهتری نسبت به دو گروه کنترل و تحت درمان با پماد کلوتریمازول برخوردار بود به‌طوری‌که از روز سوم تا پنجم روند افزایشی در سطح زخم مشاهده شد؛ اما از روز پنجم تا سیزدهم مساحت زخم کاهش یافت (نمودار ۱، C) و در روز پانزدهم درصد بهبود زخم ۶۵ درصد بود که نسبت به دو گروه قبل اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ درصد داشت (نمودار ۲). در گروه تحت درمان با پماد ۱۰ درصد عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس روند التیام زخم نسبت به گروه‌های ذکرشده در بالا بسیار سریع‌تر بود. (نمودار ۱، D) چنانچه درصد بهبود زخم در روز پانزدهم ۱۰۰ درصد بود و زخم به‌طور کامل ترمیم شد.

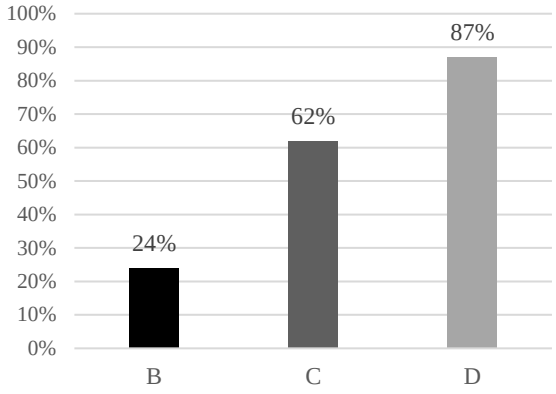


نمودار ۱- روند بهبود زخم در گروه‌های کنترل (A)، تحت درمان با پماد کلوتریمازول (B)، تحت درمان با پماد ۵ درصد عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس (C) و تحت درمان با پماد ۱۰ درصد عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس (D).

بحث و نتیجه گیری

از دیرباز مشخص شده است که متابولیت های ثانویه گلسنگ‌ها دارای فعالیت‌های زیستی و دارویی متعدد شامل اثرات ضد قارچی، ضدالتهابی و ضد توموری هستند. بااین‌وجود اسنیک اسید یکی از ترکیبات دارویی مهم است که اولین بار در

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.1.2.1]



نمودار ۲- درصد بهبود زخم در روز پانزدهم پس از ایجاد زخم در گروه-های تحت درمان با پماد کلوتریمازول (B)، تحت درمان با پماد ۵ درصد عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس (C) و تحت درمان با پماد ۱۰ درصد عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس (D)، لازم به ذکر است در گروه کنترل از روز سوم تا سیزدهم بهبودی صورت نگرفته است.



شکل ۱- تشکیل اسکلروتیوم در گروه کنترل

سال ۱۸۴۴ شناسایی شد. تحقیقات صورت گرفته بر روی این ترکیب نقش ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچی این ترکیب را اثبات می‌کند (۱۷، ۱۸ و ۱۹). لازم به ذکر است با توجه به مطالعات قبلی صورت گرفته بر روی ترکیبات مؤثر عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس مشخص شد اسنیک اسید یکی از ترکیبات مؤثر این عصاره است (۲۰).

درزمینهٔ فعالیت ضد قارچی پروتوپارملیوپسیس مورالیس در شرایط این‌ویوو (ترمیم زخم) در دنیا تاکنون مطالعه‌ای صورت نگرفته است. همچنین نتایج مطالعه حاضر در شرایط این‌ویوو (ترمیم زخم) نشان داد که عصاره متانولی پروتوپارملیوپسیس مورالیس سبب از بین بردن قارچ آسپرژیلوس فلاووس در سطح زخم شد و در مدت‌زمان (۱۳ روز) زخم به‌طور کامل التیام گردید.

لازم به ذکر است که بسیاری از متابولیت‌های گلسنگی به دلیل داشتن فعالیت ضد قارچی در داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌عنوان‌مثال متیل هائماتومات جداسازی شده از *Stereocaulon ramulosum*، آنتراکوئینون پاریتین جداسازی شده از *Caloplaca cerina*، ولپینیک اسید و (+)- (-)- اسنیک اسید در گونه *Alectoria ochroleuca* دارای خواص ضد_قارچی قابل‌توجهی هستند (۲۱ و ۲۲). همچنین متیل ß- ارسینل کربوکسیلات جداسازی شده از *Everniastrum cirrhatum*جهت درمان عفونت‌های قارچی انسانی که به آنتی‌بیوتیک‌های پلی ان و آزول مانند آمفوتریسین B، نیاستاتین و کلوتریمازول مقاوم هستند، بسیار مؤثر است (۲۳). عصاره گونه‌های *Protousnea poeppigii* و *Usnea rigida* که دارای ترکیبات دیواریکاتیک اسید، ایزودیواریکاتیک اسید، اسنیک اسید و ۵- رسوارسینل می‌باشند و همچنین عصاره‌های *Evernia prunastri* (با بیشترین تأثیر روی مخمرها) و Hypogymnia *physodes* (با بیشترین تأثیر روی قارچ‌های میله‌ای) خواص ضد قارچی منحصربه‌فردی دارند (۲۴). اسنیک اسید، هائماتومیک اسید و مشتقات فنلی تک حلقه‌ای که در بسیاری از گلسنگ‌ها یافت می‌شوند اثر بازدارندگی روی رشد کپک *Neurospora crassa* دارند (۲۵) همچنین از این ترکیب در عصاره‌های *P. cirrhatum*، *Eevernia prunastri* و *H. physodes* و همچنین گونه‌های دارای اورنیک اسید ازجمله مواد ضد قارچی مهم محسوب می‌شوند (۲۶).

لازم به ذکر است که آفلاتوکسین B۱ (AFB۱) سم تولیدشده توسط گونه‌های مختلف *Aspergillus* است که سبب کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و درنتیجه سبب استرس‌های اکسیداتیو و صدمات ژنتیکی می‌شود. بااین‌حال کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها پس از تیمار با (۱ AFB) ممکن است به دلیل غیرفعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD و CAT اولین خط دفاعی علیه (ROS) باشد (۲۷).

بررسی‌ها نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در ترمیم زخم ایفا می‌کنند. اسید اسکوربیک یک آنتی‌اکسیدان سنتزی است که فاکتور اساسی برای سنتز کلاژن محسوب می-شود و همچنین سبب تقویت کردن عملکرد نوتروفیل‌ها،

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.1.2.1]

افزایش آنژیوژنز و بیشتر کردن فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. بااین‌وجود فعالیت نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها سبب تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود که یکی از عوامل مهم در تنظیم متابولیسم زخم محسوب می‌شود (۲۸، ۲۹).

گلسنگ‌ها منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند، ترکیبات فنلی ازجمله متابولیت‌های ثانویه گلسنگ محسوب می‌شود. این ترکیبات، ترکیباتی با وزن مولکولی زیاد هستند که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار کردن رادیکال‌های آزاد می‌باشند. همچنین باعث رسوب عناصر مانند آهن می‌شوند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از قدرت احیاکنندگی و ساختار شیمیایی که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های سه‌گانه می‌سازد، است (۳۰). علاوه بر ترکیبات فنلی اثرات آنتی‌اکسیدانی متیل‌ارسلینات، آترانورین، اورسلینیک اسید و لکانوریک اسید نیز در گلسنگ‌ها اثبات شده است. طبق مطالعات گذشته عصاره *Dermatocarpon intestiniforme* به‌طور قابل‌توجهی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (SOD و CAT) در اریتروسیت‌ها در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰µm می‌شود. کشت‌های تیمار شده با عصاره علیه AFB۱ سطح این آنزیم‌ها را به حالت اول (نزدیک مقدار شاهد) برمی‌گرداند. این مسئله نشان‌دهنده نقش حفاظتی *D. intestiniforme* است. به کار بردن هم‌زمان AFB۱ و عصاره این گلسنگ (در غلظت ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰µm) در مقایسه با تیمار AFB1 به‌تنهایی سبب کاهش قابل‌توجهی در مقدار SCEs سلول می‌گردد (۲۷).

بااین‌وجود مطالعات زیادی امکان زدودن و یا جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد در عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس را اثبات کرده است (۲۰)؛ بنابراین اثر عصاره پروتوپارملیوپسیس مورالیس بر سرعت بخشیدن به فرایند التیام زخم آلوده به آسپرژیلوس فلاووس را می‌توان به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچی عصاره متانولی ناشی از وجود اسنیک اسید نسبت داد.

تشکر و قدردانی

از زحمات جناب آقای مهندس هوشمند فر که زمینه را جهت پژوهش کلینیک دامپزشکی دانشگاه ایلام فراهم نمودند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

References

1. Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Hospital-Acquired Candidemia: The attributable mortality and excess length of stay. Arch Intern Med. 1988; 148(12):2642-2645.
2. Sarkar P, Ballantyne S. Management of diabetic leg ulcer. Postgrad Med J. 2000; 76(901):674-682.
3. Mandell G, Bennet J, Dolin R. Cellulitis and soft tissue infection. Principles and Practice of infectious diseases. Sixth edition. Pennsylvania: Churchill living stone; 2005, 1046- 1047.
4. Chen X, Wu Z, Yin J. Effects of four species of herbs on immune function of Carassius auratus gibelio. J Fish Sci China. 2003; 10:36-40.
5. Asuzu IU, Onu OU. Anti-ulcer activity of the ethanolic extract of Combretum dolichopetalum root. J ethnopharmacol. 1990; 28(1):27-32.
6. Boisnic S. Healing effect of spray containing Rhealba oat colloidal extract in an in vitro reconstitution model of skin. Tissue React. 2005; 27(3): 83-89.
7. Schepetkin IA, Quinn MT. Botanical polysaccharides: macrophage immunomodulation and therapeutic potential. Int. Immunopharmacol. 2006; 6(3): 317-333.
8. Sochting U. Lichens of Bhutan: Biodiversity and Use. Copenhegen: Botanical Institute, Department of Mycology, University of Copenhagen; 1999, 1-30.
9. Okuyama E, Umeyama K, Yamazaki M, kinoshita Y, Yamamota Y. Usnic acid and diffractaic acid as analgesis and antipyretic components of Usnea diffracta. Plant Med. 1995; 61(2): 113-115.
10. Gulcin I, Oktay M, Kufrevioglu OI, et al. Determination of antioxidant activity of lichen Cetraria islandica (L) Ach. Journal of Ethnopharmacology. 2002; 79(3): 325-329.
11. Carl W, Emrich LS. Management of oral mucositis during local radiation and systemic Chemotherapy. J. Prosthet. Dent. 1991; 66(3): 361-369.

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.1.2.1]

12. Rauf A, Latif A, Rehman S, Afaq SH. In vitro antimicrobial screening of extract of Usnealongissima lichen. Int J Appl Biol Pharm technol. 2011; 2(2): 14-18.
13. Manojlovic NT, Solujic S, Sukdolak S. Antimicrobial activity of an extract and anthraquinones from Caloplaca schaereri. Lichenologist. 2002; 34(1): 83-85.
14. Gupta N, Jain UK. Ivestigation of wound healing activity of methanolic extract of stem bark of Mimusop elengIlinn. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2011; 8(2): 98-103.
15. Manoj GS. Murugan K.Wound healing activity of methanolic and aqueous extracts of Plagiochila beddomei steph thallus in rat model. Indian J. Exp. Biol. 2012; 50(8): 551-558.
16.Walker HL, Mason AD. A standard animal burn. J. Trauma. 1969; 8(6): 1049-1051.
17. Lauterwein M, Oethinger M, BeIsner K, Peters T, Marre R. In vitro activities of the lichen secondary metabolites vulpinic acid, (+)-usnic acid, and (-)- usnic acid and against aerobic and anaerobic microorganisms. Antimicrob. Agents Chemother. 1995; 39(11):2541-2543.
18. Cocchietto M, Skert N, Nimis PL, Sava G. A review on usnic acid, an interesting natural compound. Naturwissenchaften. 2002; 89(4): 137-146.
19. Huneck S. The significance of lichens and their metabolites. Naturwissenschaften. 1999; 86(12):559-570.
20. Valadbeigi T, Rashki S. GC- MS analysis and anticancer effect against MCF-7 and HT-29 cell lines and antioxidant, antimicrobial and wound healing activities of plant- derived compounds. J Bas Res Med Sci. 2015; 2(4):1-11.
21. Hickey BJ, Lumsden AJ, Cole ALJ, Walker JRL. Antibiotic compounds from New Zealand plants: Methylhaematommate, anti-fungal agent from Stereocaulonra mulosum. New Zealand Natural Sciences. 1990; 1749-53.
22. Manojlovic NT, Solujic S, Sukdolak S, Milosev M. A ntifungal activity of Rubia tinctorum, Rhamnus frangula and Caloplaca cerina. Fitoterapia. 2005;76(2):244-6.
23. Khanuja SPS, Kumar TRS, Gupta VK, Chand P, Garg A, Shrivastava SK, et al. Antimicrobial and anticancer properties of methyl β-orcinolcarboxylate from lichen (Everniastrum cirrhatum). United States Patent Application. US20070099993 A1.
24. Galloway DJ. Austral lichenology: 1690- 2008. New Zealand Journal of Botany. 2008; 46 (4), 433-521.
25. Manojlovic NT, Solujic S, Sukdolak S, Milošev M. Antifungal activity of Rubia tinctorum, Rhamnus frangula and Caloplaca cerina. Fitoterapia. 2005; 76(2): 244-246.
26. Shahi SK, Patra M, Dikshit A, Upreti DK. Parmelia cirrhatum: a potential source of broad spectrum natural antifungal. Phytother Res. 2003; 17(4): 399 -400.
27. Güleray A, Aslan A, Elif, K, Sarioglul L, Alpsoy S. Protective activity of the methanol extract of Usnea Longissima against oxidative damage and genotoxicity caused by aflatoxin B1 in vitro. Turk J Med Sci. 2011; 41(6): 1043-1049.
28. Martin, P. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. Science. 1997; 276 (5309):75- 81.
29. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. N. Engl. J. Med. 1999; 341(10): 738-746.
30. Pokorný J. Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidant components. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2007; 109(6): 629-642.

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.1.2.1]

Original Article

In Vivo Screening Antifungal Activity of Methanolic Extract of *Protoparmeliopsis Muralis* against *Aspergillus flavus*

Rashki S*, Valadbeigi T

Department of Biology, Faculty of Basic Science Ilam University, Ilam, Iran

Received: 15 May 2016 Accepted: 25 Dec 2016

Abstract

Background & Objective: Lichens are the result of the symbiosis of fungi and algae or a cyanobacterium. Various biological activities of some lichen and their components such as: antifungal, anti-bacterial, anti-tumor, anti-inflammatory, antiprotozoal substances are known. In the present study, *antifungal activity* of *methanolic extract* of *Protoparmeliopsis muralis* against *Aspergillus flavus* is investigated on rats.

Materials & Methods: 500 g of *Protoparmeliopsis muralis* was collected from KaneGonbad mountains in Ilam province, the methanol extract was prepared by soxhle. In order to determine the antifungal activity in in vivo conditions, a wound was created and infected with *Aspergillus flavus.* Having infected the wound, the researchers divided the rats into 4 subgroups: negative control group, treated with Kotrimoksazol, %5 ointment extract methanolic *P. muralis*, and with %10 ointment extract methanolic *P. muralis*. Treatment continued until complete healing of the wound. Finally, the percentage of wound healing was calculated.

Results: The result of the present study demonstrated that methanolic extract of *P. muralis* decreased the area of wound in the treatment group compared to the control group.

Conclusion: The antifungal and antioxidant activity of the extract of *Protoparmeliopsis muralis* accelerated the wound healing process.

Keywords: *Aspergillus flavus*, fungi, *Protoparmeliopsis muralis*, wound, extract

*** Corresponding author: Somaye Rashki,** Department of Biology, Faculty of Basic Science Ilam University, Ilam, Iran
Email: somaye_rashki@yahoo.com

[Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2017.7.1.2.1]