

Anti-fungal effect of fresh, aged and pickled garlic aqueous extract on *Candida albicans*; *In vitro*

Namdar Ahmadabad H.¹ BSc, Roudbary M.² BSc, Roudbar Mohammadi Sh.² PhD,
Mohammad Hassan Z.* PhD, Nezafat Firizi M.³ MSc

*Department of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

¹Department of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

²Department of Mycology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

³Department of Medical Immunology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Aims: In the last decades, garlic (*Allium sativum*) has been reported to display antifungal activity. Garlic inhibits the growth of *Candida albicans*. It is used in different forms for prevention or treatment of a variety of infections such as candidiasis. The present study was an attempt to compare the antifungal effect of fresh, aged garlic's aqueous extract and pickle on *Candida albicans*'s standard sample.

Methods: In this experimental study, garlic's aqueous extract was extracted using Mantis method. Garlic which was frozen at -20°C for two years was used as aged garlic and garlic marinating in vinegar for 7 years (pH=3-3.5) was used as pickled garlic. Following the preparation of fungal suspension, a set of necessary dilutions was made out of the extract of all three types of garlic and the Minimum Inhibitory concentration (MIC) and minimal Fungicidal concentration (MFC) were determined. The statistical difference between different groups was assessed using SPSS13 software and student T-test.

Results: MIC for Fresh garlic was 2.34mg/ml and for aged garlic was 4.68mg/ml. Likewise; MFC was 2.34mg/ml Fresh garlic and 9.37mg/ml for aged garlic. Aqueous extract of garlic pickle did not have any anti-Candida properties in all prepared set of dilutions. There was the highest number of colony on the solid sauboro medium in the minimum dilution of fresh garlic extract about 300 and aged garlic about 500.

Conclusion: Aqueous extract of fresh enjoys greater ability compared with the extract of aged garlic and garlic pickle for inhibiting from the growth of *Candida albicans*'s yeast.

Keywords: *Candida Albicans*, Garlic, Microbial Sensitivity Tests

اثر ضدقارچی عصاره آبی سیر تازه، سیر کهنه و ترشی سیر بر رشد کاندیدا/آلبیکس در شرایط آزمایشگاهی

حسن نامدار احمدآباد BSc

گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

مریم رودباری BSc

گروه قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

شهلا رودبارمحمدی PhD

گروه قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

زهیر محمدحسن* PhD

گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

مریم نظافت فریزی MSc

گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

اهداف: در دهه‌های اخیر فعالیت ضدقارچی سیر مشخص شده است. سیر سبب مهار رشد کاندیدا/آلبیکس می‌شود. سیر به شکل‌های مختلف به‌منظور پیشگیری یا درمان طیفی از عفونت‌ها، از جمله عفونت‌های کاندیدیایی، مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مطالعه حاضر، اثر ضدقارچی عصاره آبی سیر تازه، کهنه و ترشی بر سوش استاندارد کاندیدا/آلبیکس مورد مقایسه قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، عصاره آبی سیر با استفاده از روش مانتیس تهیه شد. از سیر ۲ سال فریزشده در 20°C - به‌عنوان سیر کهنه و از سیر ۷ سال در سرکه‌مانده ($\text{pH}=3-5$)، به‌عنوان ترشی سیر استفاده شد. پس از تهیه سوسپانسیون قارچی، سری رقت‌های لازم از عصاره هر سه نوع سیر تهیه و غلظت بازدارنده کمینه و غلظت کشنده کمینه تعیین شد. تفاوت آماری بین گروه‌های مختلف با کمک نرم‌افزار SPSS 13 و آزمون T استودنت مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: غلظت بازدارنده کمینه سیر تازه $2/34$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و سیر کهنه $4/68$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. غلظت کشنده کمینه برای سیر تازه $2/34$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای سیر کهنه $9/37$ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. عصاره آبی ترشی سیر در همه سری رقت‌های تهیه‌شده فاقد خواص ضدکاندیدیایی بود. بیشترین تعداد کلنی روی محیط جامد سابورو در کمترین رقت عصاره سیر تازه حدود 300 و سیر کهنه حدود 500 بود.

نتیجه‌گیری: عصاره آبی سیر تازه در مقایسه با عصاره حاصل از سیر کهنه و ترشی سیر از توانایی بیشتری برای مهار رشد مخمر کاندیدا/آلبیکس برخوردار است.

کلیدواژه‌ها: کاندیدا/آلبیکس، سیر، آزمون‌های حساسیت میکروبی

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۵/۰۳

* نویسنده مسئول: hassan_zm@yahoo.co.uk

مقدمه

کاندیدا آلبیکس (*Candida albicans*)، فلور عادی پوست و سطوح مخاطی است که در صورت بروز نقص سیستم ایمنی می‌تواند به‌عنوان قارچ پاتوژن فرصت‌طلب عمل کرده، طیف گسترده‌ای از عفونت‌ها از قبیل عفونت‌های جلدی، مخاطی، منتشره و سیستمیک را ایجاد نماید [۱، ۲]. عفونت‌های ایجادشده توسط گونه‌های کاندیدا آلبیکس، به‌طور گسترده‌ای در حال افزایش است. درمان‌های ضدقارچی با استفاده از داروهای ضدقارچی معمول، دارای اثرات جانبی متعددی بوده و مقاومت‌های دارویی و عود مکرر عفونت کاندیدیایی را موجب می‌شوند. بنابراین استفاده از راهکارهای مناسب جایگزین داروهای سنتزی که مشکلات مقاومت‌های دارویی و عود مکرر حاصل از این عفونت‌ها را از بین ببرد، همواره مورد توجه پژوهشگران بوده است. یکی از این راهکارها، بهره‌گیری از داروهای گیاهی مانند سیر است.

سیر، با نام علمی *Allium sativum*، گیاهی علفی از راسته مارچوبه‌ای‌ها (*Asparagales*)، تیره پیازها (*Asparagales*) و سرده سیرها (*Allium*) با دوره زندگی دوساله یا چندساله است که اولین بار در آسیای مرکزی کشت شده و قرن‌هاست که به‌عنوان ادویه، سبزی و داروی گیاهی از مناطق مدیترانه تا آسیای مرکزی استفاده می‌شود. کارشناسان گیاهان دارویی در سرتاسر جهان، سیر را به‌عنوان یکی از مهم‌ترین داروهای گیاهی معرفی می‌کنند. از ۲۰۰۰ سال قبل از میلاد، سیر در چین به‌عنوان قسمتی از رژیم غذایی روزانه مورد استفاده قرار می‌گرفت و در پزشکی قدیم چین، سیر برای درمان ناراحتی‌های گوارشی و تنفسی تجویز می‌شد [۳].

در حدود ۶۵٪ وزن سیر را آب تشکیل می‌دهد و وزن جسم خشک سیر از کربوهیدرات‌های حاوی فروکتوز و ترکیبات سولفور، پروتئین، فیبر و آمینواسیدهای آزاد تشکیل شده است [۴]. سیر همچنین دربرگیرنده سطوح بالایی از ساپونین، فسفر، پتاسیم، سولفور، روی و مقدار متوسطی سلنیوم و ویتامین A و C و همچنین مقدار کمی کلسیم، منیزیم، سدیم، آهن، منگنز و ویتامین‌های خانواده B، پروستاگلاندین‌ها، گلیکوزیدهای استروئیدی، پکتین و آدنوزین است [۵]. ۹۷٪ ترکیبات موجود در سیر محلول در آب و حدود ۰/۱۵ - ۰/۷٪ این ترکیبات محلول در روغن هستند. آلیسین (*Allicin*)، یکی از ترکیبات اصلی سیر تازه و خردشده، دارای طیف وسیعی از خواص ضدژنوتوکسیک [۶]، ضدآپوپتوز [۷]، ضد میکروبی، ضدویروسی و ضدانگلی است [۸، ۹]. آلیسین خواص ضدقارچی به‌ویژه علیه کاندیدا/آلبیکس دارد. اثر ضد میکروبی این ماده مربوط به واکنش شیمیایی آن با گروه‌های تیول و آنزیم‌هایی از قبیل الکل‌دهیدروژناز، تیوردوکسین‌ردوکتاز و RNA پلی‌مراز و غیرفعال کردن آنهاست [۱۰]. آلیسین در سال ۱۹۴۴ میلادی مورد شناسایی قرار گرفت و ابتدا آن را به نام پنی‌سیلین روسی

دقیقه سانتریفیوژ (۳۴۰۰rpm) شدند. مایع رویی از کاغذ واتمن شماره یک عبور داده شد و در نهایت با فیلتر میلی‌پور ۰/۲۲، استریل شد. pH ترشی سیر نیز قبل از استریل‌نمودن با سود یک نرمال به ۷/۲ رسانده شد.

تهیه سوسپانسیون قارچی: کاندیدا آلبیکنس، سویه استاندارد ATCC10321 (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی؛ ایران) روی محیط سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷°C قرار گرفت. برای تهیه سوسپانسیون قارچی، با غلظت 2×10^5 مخمر کاندیدا در حجم یک میلی‌لیتر از PBS، ۵۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی استریل در یک میکروتیوب یک میلی‌لیتری ریخته شد؛ مقدار کمی از مخمر رشدیافته روی محیط سابورو از محیط کشت به میکروتیوب منتقل شد. پس از مخلوط‌شدن مخمر در سرم فیزیولوژی تعداد سلول‌های مخمری با استفاده از لام نتوبار شمارش شد.

تعیین غلظت بازدارنده کمینه (MIC) و غلظت کشنده

کمینه (MFC): ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره سیر تازه، سیر کهنه و ترشی سیر با غلظت معین ۱۵۰ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر به لوله‌های آزمایش حاوی حدود ۰/۵ میلی‌لیتر محیط سابورو برات استریل افزوده شد. در ادامه از لوله اول مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر به لوله بعدی افزوده شد و این عمل تا لوله آخر تکرار شد تا در نهایت از لوله آخر ۰/۵ میلی‌لیتر به بیرون منتقل شد. سوسپانسیون قارچی به حجم ۰/۵ میلی‌لیتر حاوی 1×10^5 سلول مخمری به تمام رقت‌های تهیه‌شده افزوده شد. از محیط کشت و سوسپانسیون مخمری بدون حضور عصاره‌های سیر به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. حجم نهایی هر یک از لوله‌ها در نهایت یک میلی‌لیتر بود. تمامی لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C انکوبه شدند. پس از ۲۴ ساعت، کدورت لوله‌ها و رشد مخمرها مورد ارزیابی قرار گرفت و لوله‌ای با بالاترین رقت (کمترین غلظت عصاره) که فاقد رشد کاندیدا بود به عنوان MIC90 آن عصاره در نظر گرفته شد. برای ارزیابی و تعیین MFC محتوی تمام لوله‌ها روی محیط جامد سابورو دکستروز آگار کشت داده شدند. بدین ترتیب که ۱۰ میکرولیتر از نمونه درون لوله‌ها به پلیت‌های حاوی سابورو دکستروز آگار جامد حاوی کلرامفنیکل منتقل و به مدت ۲۴ ساعت دیگر در انکوباتور ۳۷°C انکوبه شدند. بالاترین رقت موجود از عصاره که فاقد رشد کاندیدا آلبیکنس روی محیط کشت جامد سابورو دکستروز آگار بود به‌عنوان MFC آن عصاره در نظر گرفته شد. تمام آزمایش‌ها سه بار تکرار شد.

آنالیز آماری: پس از تعیین میانگین نتایج MIC90 و MFC حاصل از سه آزمایش مستقل، تفاوت آماری بین گروه‌های مختلف با کمک نرم‌افزار SPSS 13 و آزمون T استودنت مورد بررسی قرار گرفت.

می‌شناختند. این ماده یکی از ترکیبات موثر موجود در سیر با خواص ضد میکروبی است که طعم و بوی سیر مربوط به این ماده است. به دنبال اثر آنزیم آلیناز روی فسفات سیستین، آلیسین حاصل می‌شود. آلیناز موجود در سیر اولین بار در سال ۱۹۷۴ میلادی مورد توجه قرار گرفت. به دنبال خردشدن سیر، ماده پیش‌ساز آلین در تماس با آنزیم آلیناز قرار گرفته و طی یک واکنش بیوشیمیایی با پیروودوکسال فسفات ماده‌ای به نام ۲-پروپن سولفونیک‌اسید به‌وجود می‌آید که در نهایت دایمریزه شده و به آلیسین تبدیل می‌شود [۱۱]. عصاره آبی سیر تازه و مشتقات آن، از جمله آلیسین، قادرند در شرایط داخل یا خارج بدن موجود زنده، سبب مهار رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس شوند [۱۲]. کنترل و مهار رشد کاندیدا آلبیکنس توسط سیر و مشتقات آن، از طریق کاهش برداشت اکسیژن، کاهش رشد سلولی، مهار سنتز لیپیدها و پروتئین‌ها و مهار سنتز دیواره سلولی اعمال می‌شود [۱۳]. همچنین، همراهی داروهای ضدقارچی مثل آمفوتریپسین B یا فلوکونازول با آلیسین سبب افزایش تاثیرگذاری این داروها در کنترل عفونت‌های ناشی از کاندیدا آلبیکنس می‌شود [۱۴، ۱۵].

هر چند پیش از این مطالعه، توانایی سیر تازه و سیر کهنه در مهار رشد کاندیدا آلبیکنس به اثبات رسیده، ولی تاکنون مطالعه‌ای در زمینه معرفی موثرترین شکل این داروی گیاهی به‌منظور پیشگیری و درمان عفونت‌های قارچی ناشی از کاندیدا آلبیکنس صورت نگرفته است. با توجه به اینکه سیر به شکل‌های مختلفی در رژیم غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد، به‌نظر می‌رسد یافتن موثرترین شکل این داروی گیاهی به‌منظور مصرف در جهت کنترل عفونت‌های قارچی ناشی از کاندیدا آلبیکنس حایز اهمیت باشد. بر این اساس در مطالعه حاضر، اثر ضدقارچی عصاره آبی سیر تازه، کهنه و ترشی بر سوش استاندارد کاندیدا آلبیکنس مورد مقایسه قرار گرفت.

روش‌ها

این پژوهش تجربی در دانشگاه تربیت مدرس طراحی و اجرا شد. **تهیه عصاره آبی:** سیر تازه از مزارع همدان تهیه شد. از سیرهایی که به مدت ۲ سال در فریزر ۲۰°C- نگهداری شده بود به‌عنوان سیر کهنه و همچنین از سیرهایی که حدود ۷ سال در سرکه (۳/۵-pH) نگهداری شده بود به‌عنوان ترشی سیر استفاده شد. به‌منظور تهیه عصاره آبی سیر از روش ماتیس استفاده شد [۱۶]. ابتدا انواع مختلف سیرها از مقطع عرضی برش و به مدت ۳۰ دقیقه در مجاورت هوای آزاد قرار داده شدند تا آلین موجود در سیر در مجاورت آلیناز به آلیسین تبدیل شود. سپس سیرها با نسبت مساوی با بافر فسفات‌سالین (pH ۷/۲) در مخلوط‌کن مخلوط و از گاز استریل چندلایه عبور داده شدند. خروجی‌های حاصل به مدت ۱۰

نتایج

MIC90 سیر تازه ۲/۳۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و سیر کهنه ۴/۶۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. MFC برای سیر تازه ۲/۳۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای سیر کهنه ۹/۳۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. عصاره آبی ترشی سیر در همه سری رقت‌های تهیه‌شده فاقد خواص ضدکاندیدیایی بود. بیشترین تعداد کلنی روی محیط جامد سابورو در کمترین رقت عصاره سیر تازه حدود ۳۰۰ کلنی بود که در محدوده MIC به ۱-۰ کلنی کاهش یافت. در خصوص سیر کهنه، بیشترین تعداد کلنی در کمترین رقت عصاره سیر کهنه ۵۰۰ کلنی بود که در محدوده MIC به ۱-۳ کلنی کاهش یافت.

بحث

طبق نتایج حاصل از این مطالعه، عصاره سیر تازه در مقایسه با عصاره سیر کهنه از توانایی بیشتری برای مهار رشد کاندیدا/آلبیکس برخوردار بود. درحالی‌که عصاره تهیه‌شده از ترشی سیر قادر به مهار رشد این قارچ در هیچکدام از رقت‌های مورد آزمایش شده نبودند.

در سال‌های اخیر عفونت‌های قارچی سیستمیک ایجادشده توسط گونه‌های کاندیدا به دلیل افزایش بیماری‌های سرکوب‌کننده ایمنی از قبیل ایدز، اختلالات هماتولوژیک، بدخیمی‌ها و از طریق بروز مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در مقابل داروهای رایج، افزایش یافته است [۱]. به همین منظور، یافتن ترکیباتی که بتوانند جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای ضدقارچی رایج باشند از موضوع‌های مورد بحث در این زمینه است. با توجه به نتایج این تحقیق که حاکی از اثرات ضدقارچی قابل توجه عصاره‌های سیر تازه و سیر کهنه در جلوگیری از رشد کاندیدا/آلبیکس در شرایط آزمایشگاهی بود، می‌توان امیدوار بود که از این ترکیبات طبیعی در تحقیقات آتی استفاده شود. پیش از این مطالعه نیز مشخص شده بود که عصاره‌های سیر تازه، سیر کهنه و آلبیسین مشتق از سیر تازه قادرند رشد کاندیدا/آلبیکس را در شرایط داخل و خارج بدن موجود زنده مهار نمایند [۱۲، ۱۳] که نتایج مطالعه حاضر نیز مطالعه‌های قبلی را تایید می‌نماید. ولی موثرتر بودن عصاره آبی سیر تازه در مقایسه با عصاره سیر کهنه بر مهار رشد کاندیدا/آلبیکس، اولین بار در این مطالعه مشخص شده است. میزان تاثیر سیر تازه بر کاندیدا آلبیکس به حدی است که در بررسی نتایج مشخص شد میزان MIC و MFC برای سیر تازه یکسان و برابر ۲/۳۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است. این نشان می‌دهد که سیر تازه در یک غلظت یکسان علاوه بر مهار رشد کاندیدا/آلبیکس، قادر به اعمال اثر کشندگی است. علاوه بر مصرف سیر به شکل تازه یا کهنه، ترشی سیر نیز یکی از شکل‌های استفاده از این داروی گیاهی است که تا

پیش از این هیچ مطالعه‌ای به بررسی خواص ضدکاندیدیایی آن نپرداخته بود. یافته‌های این مطالعه حاکی از عدم تاثیر عصاره‌های آبی تهیه شده از ترشی سیر بر رشد کاندیدا/آلبیکس بود.

با توجه به اینکه آلبیسین یکی از ترکیبات اصلی موثر در بروز فعالیت‌های ضدقارچی، به‌ویژه علیه کاندیدا/آلبیکس، در سیر است، تفاوت عصاره‌های مختلف سیر در مهار رشد کاندیدا/آلبیکس می‌تواند ناشی از سطوح متفاوت ترکیب آلبیسین در این عصاره‌ها باشد. مطالعه‌های اخیر نشان می‌دهند که آلبیسین قادر است اثرات ضدقارچی داروی آمفوتریپسین B و فلوکونازول علیه کاندیدا/آلبیکس را افزایش دهد [۱۴، ۱۵]. این احتمال وجود دارد که نگهداری سیر در سرمای ۲۰- درجه سانتیگراد (در مورد سیر کهنه) یا نگهداری سیر در سرکه (در مورد ترشی سیر) دارای اثرات مخربی روی آلبیسین باشد. تخریب آنزیم آلیناز، حذف یا کاهش کوفاکتورهای مورد نیاز برای آنزیم آلیناز از جمله پیریدوکسالفسفات و همچنین تخریب سوبسترای آنزیم آلیناز (فسفات سیستین) [۱۱] از دلایلی است که ممکن است سبب کاهش آلبیسین و در نهایت کاهش خاصیت ضدقارچی سیر کهنه و ترشی سیر در مقایسه با سیر تازه باشند.

به نظر می‌رسد که می‌توان از سیر تازه به‌تنهایی یا در ترکیب با داروهای ضدقارچی مثل آمفوتریپسین B و فلوکونازول برای درمان افراد مبتلا به عفونت‌های کاندیدیازیس مقاوم به دارو استفاده نمود. همچنین مصرف سیر تازه در رژیم غذایی می‌تواند به‌عنوان عامل پیشگیری‌کننده در طیف وسیعی از افراد مستعد بروز عفونت‌های کاندیدیازیس همچون افراد دیابتی، مبتلایان اختلالات هماتولوژیک، بدخیمی‌ها، ایدز و غیره مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به وجود کاندیدا در سطوح مختلف جلدی و مخاطی بدن انسان و افزایش تراکم آن هنگام ابتلا به بیماری‌های زمینه‌ای و نقص سیستم ایمنی و با توجه به اثرات سیر در افزایش فعالیت اجزای سیستم ایمنی، به نظر می‌رسد با تغییر فرهنگ مصرف مواد غذایی و نگاه دارویی به غذای مصرفی و انجام تحقیقات بیشتر، از این گیاه به‌عنوان یک داروی مناسب و کارآمد استفاده نمود.

نتیجه‌گیری

عصاره آبی سیر تازه در مقایسه با عصاره حاصل از سیر کهنه و ترشی سیر از توانایی بیشتری برای مهار رشد مخمر کاندیدا/آلبیکس برخوردار است.

تشکر و قدردانی: این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مشترک بین گروه ایمنی‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران است. از همکاران گروه ایمنی‌شناسی و قارچ‌شناسی به‌ویژه سرکار

8- Waag T, Gelhaus C, Rath J, Stich A, Leippe M, Schirmeister T. Allicin and derivatives are cysteine protease inhibitors with antiparasitic activity. *Bioorg Med Chem Lett*. 2010;20(18):5541-3.

9- Cai Y, Wang R, An MM, Liang BB, Fang Y. In vitro bactericidal activity of allicin combined with cefoperazone, tobramycin and ciprofloxacin. *Int J Antimicrob Agents*. 2008;31(2):179-80.

10- Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of Allicin of garlic. *J Microbes Infection*. 2001:341-57.

11- Harunobu A, Brenda L, Hiromichi M, Shigeo K, Yoichi I. Intake of garlic and its bioactive components. *J Nutr*. 2001;31:955-62.

12- Ali M, Thomson M, Afzal M. Garlic and onions: Their effect on eicosanoid metabolism and its clinical relevance. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2000;62(2):55-73.

13- Gupta N, Porter TD. Garlic and garlic-derived compounds inhibit human squalene monooxygenase. *J Nutr*. 2001;131(6):1662-7.

14- Guo N, Wu X, Yu L, Liu J, Meng R, Jin J, et al. In vitro and in vivo interactions between fluconazole and allicin against clinical isolates of fluconazole-resistant *Candida albicans* determined by alternative methods. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010;58(2):193-201.

15- An M, Shen H, Cao Y, Zhang J, Cai Y, Wang R, et al. Allicin enhances the oxidative damage effect of amphotericin B against *Candida albicans*. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33(3):258-63.

16- Ghazanfari T, Hassan ZM, Khamesipour A. Enhancement of peritoneal macrophage phagocytic activity against *Leishmania major* by garlic (*Allium sativum*) treatment. *J Ethnopharmacol*. 2006;103(3):333-7.

خانم اسکافی و سرکار خانم رازقی که در طول انجام این پروژه ما را یاری نمودند، کمال سپاس و قدردانی را داریم.

منابع

1- Gadea I, Cuenca M, Gegundez MI, Zapardiel J, Valero ML, Soriano F. Effect of pH and buffer system on the in-vitro activity of five antifungals against yeasts. *J Antimicrob Chemother*. 1997;39(4):453-9.

2- Huang YC, Lin TY, Lien RI, Chou YH, Kuo CY, Yang PH, et al. Candidaemia in special care nurseries: Comparison of albicans and parapsilosis infection. *J Infect*. 2000;40(2):171-5.

3- Woodward PW, Garlic F. The history, growth and use of edible alliums. Melbourne: Hyland House Publisher; 1996.

4- Koch HP, Lawson LD. The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic: Garlic the science and therapeutic application of *Allium sativum* L and related species. Baltimore: Williams and Wilkins Publisher; 1996.

5- Vinson JA, Su X, Zubik L, Bose P. Garlic and Friends: The History, Growth and Use of Edible Alliums. *J Agric Food Chem*. 2001;49:5315-21.

6- Siddique YH, Beg T, Ara G, Gupta J, Afzal M. Antigenotoxic effect of allicin against estradiol-17beta-induced genotoxic damage in cultured mammalian cells. *Nat Prod Res*. 2010;24(12):1087-94.

7- Zhang Y, Yao HP, Huang FF, Wu W, Gao Y, Chen ZB, et al. Allicin: A major component of garlic, inhibits apoptosis in vital organs in rats with trauma/hemorrhagic shock. *Crit Care Med*. 2008;36(12):3226-32.

