Downloaded from jmp.ir at 14:33 +0330 on Thursday November 15th 2018

بررسی تاثیر آلیسین سیر بر میزان تولید نیتریک اکساید ماکروفاژها در برابر کاندیدا آلبیکنس

مریم سلطانی[۱]، محدثه لاری‌پور[۱]*، عباس اخوان‌سپهی[۲]، مرتضی پیرعلی‌همدانی[۳]

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه قارچ‌شناسی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

۲- استادیار، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، گروه قارچ‌شناسی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران دارویی، تلفن و نمابر: ٦٦٠٣٥٠٣١ (٠٢١)

پست الکترونیک: mlarypoor@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱۰ **تاریخ تصویب:** ۸۷/۱۱/۱٤

چکیده

مقدمه: سیر، گیاهی علفی با ترکیبات متنوعی است که یکی از مهم‌ترین آنها آلیسین با خواص آنتی‌بیوتیکی می‌باشد. قارچ کاندیدا آلبیکنس، مخمری فرصت‌طلب است که در صورت نقص سیستم ایمنی، عامل بیماری‌زایی محسوب می‌شود. مکانیسم‌های ایمنی در برابر این قارچ، ماکروفاژها هستند که با مکانیسم کشندگی وابسته و غیروابسته به اکسیژن عمل می‌کنند به طوری‌که مکانیسم وابسته به اکسیژن، شامل تولید واسطه‌های فعال اکسیژنی و نیتروژنی است که توسط ماکروفاژهای تولید می‌شوند و از این طریق میکروارگانیسم‌ها را از بین می‌برند.

هدف: با توجه به خواص سیر و اثرات مفید احتمالی آلیسین سیر بر روی فعالیت ضدقارچی ماکروفاژها تاثیر آلیسین سیر بر میزان تولید نیتریک اکساید ماکروفاژها در برابر کاندیدا آلبیکنس بررسی شد تا سیر در درمان بیماران دارای نقص سیستم ایمنی مبتلا به کاندیدیازیس مورد استفاده قرار گیرد.

روش بررسی: در این تحقیق اثر آلیسین سیر بر فعالیت ماکروفاژها در میزان آزادسازی نیتریک اکساید در برابر کاندیدا آلبیکنس بررسی می‌شود بدین‌منظور آلیسین سیر به روش عصاره کلروفرمی به دست آمد و بر روی ماکروفاژهای موش **Balb/c** از جنس نر با سن ۸ - ٦ هفته در شرایط آزمایشگاهی اثر داه شد و کاندیداآلبیکنس را در دو گروه آلیسین‌دار و بدون آلیسین با ماکروفاژها همراه کرده و نهایتاً پس از مقایسه با نمونه‌های کنترل مثبت و منفی، میزان فعالیت ماکروفاژها از طریق تولید نیتریک اکساید بررسی شد.

نتایج: پس از بررسی میزان نیتریک اکساید تولیدی توسط ماکروفاژها، نتایج نشان داد که آلیسین به عنوان یک ماده طبیعی باعث تحریک سیستم ایمنی در برابر این قارچ می‌شود به طوری‌که ماکروفاژهای همراه شده با آلیسین، میزان نیتریک اکساید تولیدی بیشتری در مقایسه با گروه بدون آلیسین، داشتند و این با مقایسه نتایج به دست آمده از این دو گروه و گروه‌های کنترل، به دست آمد.

نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت اثر عامل کاندیدا آلبینکس در ایجاد کاندید یازیس و احتمال استفاده این قارچ از مواد مهاری خود جهت جلوگیری از فعالیت ماکروفاژها و تولید نیتریک اکساید، همچنین با مقایسه مقالات و نتایج دیگران، به این نتیجه رسیدیم که آلیسین به دست آمده از سیر، می‌تواند تاثیرات بالایی بر روی فعالیت ماکروفاژها در تولید **NO** در برابر عوامل کاندیدیازیس داشته باشد.

گل‌واژگان: کاندیداآلبیکنس، آلیسین، نیتریک اکساید، ماکروفاژ

Downloaded from jmp.ir at 14:33 +0330 on Thursday November 15th 2018

مقدمه

سیر[1]، از خانواده زنبق است که واجد خواص آنتی‌بیوتیکی بی‌شماری از جمله اثرات ضدویروسی، باکتری، انگلی و قارچی می‌باشد [۲،۱].

از ترکیبات سیر، ارگانوسولفور (آلئین، آلیسین)، اسیدهای آلی، کربوهیدرات و ویتامین‌ها را می‌توان نام برد که مهم‌ترین خواص سیر مربوط به آلیسین یا روغن سیر[2] با وزن مولکولی ۱۶۲/۳ می‌باشد و خواص ضدمیکروارگانیسمی را به آن نسبت می‌دهند [۳]. این ترکیب بخش عمده‌ای از خواص آنتی‌بیوتیکی خود را از طریق مهار اختصاصی آنزیم استیل کولین A سنتتاز ایفا می‌کند به طوری که با مهار این آنزیم، موجب مهار بیوسنتز لیپید و اسیدهای چرب شده و در نهایت باعث اختلال در قابلیت زیستی سلول می‌شود [۳].

یکی از خصوصیات مهم آلیسین، قابلیت نفوذپذیری و عبور از طریق فسفولیپیدهای غشاء است که آزادانه از غشاء عبور کرده و باعث اثر خود می‌شود [٤].

آلیسین به عنوان یک جزء اصلی از مسیر، نقش مهمی در مهار مرگ سلولی ماکروفاژها در موارد سوء تغذیه، ایفا می‌کند به طوری‌که این ترکیب باعث تحریک و فعال‌سازی ماکروفاژها در این شرایط می‌شود [۵]. هم‌چنین اثرات ایمنومد و لاتوری و تنظیمی آلیسین روی ماکروفاژهای پریتوئن موش، نشان از افزایش فعالیت ماکروفاژها می‌باشد [٦] آلیسین با اثر تحریکی روی ماکروفاژها، باعث افزایش سنتز نیتریک اکساید ایجادی توسط ماکروفاژها می‌شود [۷].

همان‌طور که مطرح شد، یکی از خواص مهم این ماده روغنی زردرنگ، مربوط به اثرات ضدمیکروبی و قارچی می‌باشد و باعث مهار رشد قارچ‌ها به خصوص کاندید آلبیکنس می‌شود [۱،۲] کاندیدا آلبیکنس، قارچ فرصت‌طلبی است که به طور طبیعی در سطح مخاطی افراد سالم وجود دارد و در شرایط مستعد (تضعیف سیستم ایمنی، دیابت ملیتوس، سوء تغذیه، تروما، سرطان خون، استفاده آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف، نقش کلیوی) به فرم پاتوژن تبدیل شده و باعث بیماری‌های مختلف می‌شود [۹] ماکروفاژها در برابر کاندیدا آلبیکنس نقش اصلی را بر عهده دارند و از طریق تولید نیتریک اکساید در دفاع شرکت می‌کنند [۱۰] می‌توان ماکروفاژها را که نقش مهمی در جلوگیری از ایجاد کاندید یازیس دارند، فعال نمود و در اثر فعال شدن ماکروفاژها، اثر بیگانه‌خواری و مکانیسم‌های وابسته به اکسیژن را افزایش داد و به این ترتیب قدرت انهدام کاندید آلبیکنس را در آنها بالا برد بنابراین با توجه به اهمیت نقش سیر و ترکیبات آن و اثربخشی بر روی عوامل میکروارگانیسمی مختلف، بررسی و تحقیق در زمینه اثر آلیسین بر روی فعالیت ماکروفاژها و افزایش فعالیت آنها از طریق تولید نیتریک اکساید در نابودی آلبیکنس بسیار حائز اهمیت است.

مواد و روش‌ها

عصارهٔ آبی سیر، از قراردادن نیم کیلو سیر [۹] در مخلوط‌کن همراه با آب مقطر و رد کردن از صافی، به دست آمد و پس از همراه کردن کلروفروم و قراردادن در قیف دکانتور، عصاره کلروفرمی جدا شد که با اتصال به دستگاه تقطیر در خلاء، عصاره غلیظ روغنی زرد تا سبز (آلیسین) حاصل شد [۸].

مقدار کمی آلیسین به روش کروماتوگرافی با کارایی بالا HPLC توسط شرکت داروسازی کوثر محاسبه شد و ۰/۰۵ ± ۱/۷۰ میلی‌گرم در هر گرم سیر به دست آمد. سپس با تزریق ۱۰ میکرولیتر، RPMI-1640 به صفاق موش‌های آزمایشگاهی Balb/c تزریق شد و پس از خارج‌سازی ماکروفاژها از صفاق، در میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای به میزان ۱۰۰ میکرولیتر، کشت داده شد و در انکوباتور co_2 دار ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦ – ۲ ساعت نگهداری شد [۹].

به منظور بررسی اثر آلیسین روی ماکروفاژها، آزمایش به صورت Triplicate انجام شد. در تمامی چاهک‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اولیه حاوی ۲×۱۰^{۵}، ماکروفاژ، ریخته و پس از قرار دادن در انکوباتور به مدت ۲ ساعت مایع رویی به منظور جدا کردن سلول‌های ماکروفاژ غیرچسبنده

[1] *Allium sativum* L. [2] Diallyl thiosulfinate

Downloaded from jmp.ir at 14:33 +0330 on Thursday November 15th 2018

خارج شد. به ۳ چاهک اول (تست) ۱۰ میکرولیتر و پس از ۲٤ ساعت قرار دادن در انکوباتور، کاندیدا آلبیکنس در چاهک‌های اول و چهارم اضافه شد.

جهت تهیه سوسپانسیون قارچ، تعداد قارچ به میزان $۱/٤×۱۰^{۷}$ در یک سی سی RMI تهیه شد و سپس به چاهک‌های کنترل مثبت و منفی به ترتیب $INF-\gamma$ و LPS به میزان ۵۰ میکرولیتر اضافه شد. پس از ۲٤ ساعت در انکوباتور، مایع رویی چاهک‌ها جمع‌آوری و در فریزر جهت آزمایش نیتریک اکساید نگهداری شد .که غلظت نیتریت آن، به عنوان شاخص تولید نیتریک اکساید می‌باشد و میزان آن توسط رنگ سنجی گریس تعیین می‌شود. جهت تهیهٔ این معرف ۰/۱ گرم از نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید به حجم ۱۰۰ سی سی رسانده و یک گرم سولفانیل آمید در ۱۰۰ سی سی اسید فسفریک ۵ درصد حل شد. از نیتریت سدیم با وزن مولکولی ٦۹ به منظور تهیه منحنی استاندارد استفاده‌شد. بنابراین غلظت‌های ۱۰۰۰۰ میکرومولار تهیه و از این غلظت ۱ سی سی برداشته غلظت ۱۰۰۰ میکرو مولار تهیه و سپس ۱/۲ رقیق کرده و غلظت ۵۰ میکرومولار تهیه شد.

سپس منحنی استاندارد بر اساس غلظت‌های مختلف نیتریت سدیم ترسیم شد که برای رسم آن خط رگرسیون و معادله خط از نرم‌افزار Excel استفاده شد. معادله خطی رگرسیون در سنجش غلظت نیتریک اکساید ماکروفاژ به قرار زیر است:

$$C=98/131\ X-0/1338 \times OD$$

برای اندازه‌گیری نیتریک اکساید تمام میکروتیوپ‌های حاوی محیط رویی کشت سلولی یک دقیقه در دور ۷۰۰ – ٦۰۰ سانتریفوژ شد. سپس از غلظت‌های و مایع رویی کشت سلولی به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام در چاهک‌ها ریخته و ۱۰۰ میکرولیتر معرف گریس اضافه کرده و پس از ده دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، طیفی از رنگ‌های ارغوانی بر اساس میزان نیتریت ایجاد شد که با طول موج ٥٤۰ نانومتر و فیلتر مرجع ٦۳۰ نانومتر میزان جذب (OD) توسط دستگاه ELISA reader خوانده شد و منحنی استاندارد بر اساس غلظت‌های نیتریت موجود در نمونه‌ها با استفاده از عدد OD در معادله خطی رگرسیون محاسبه و به صورت میکرومولار بیان شد [۱۱].

نتایج

با قرار دادن OD (جذب) هر یک از نمونه‌های آزمایش در معادله خط رگرسیون غلظت نیتریت نمونه‌ها محاسبه شد که به عنوان شاخصی از نیتریک اکساید هر نمونه بود. نتایج در جدول شماره ۱ آمده است.

معادله خطی رگرسیون در سنجش غلظت نیتریک اکساید ماکروفاژ به قرار زیر است:

$$C = 98/131\ X – 0/1338 \times OD$$

جدول شماره ۱- مقایسه بین دو گروه آلیسین‌دار و بدون آلیسین در کشت ماکروفاژ و سنجش میزان جذب نیتریک اکساید

گروه / موش	۱	۲	۳
میزان جذب نیتریک اکساید در نمونه آزمایش (ماکروفاژ+ آلیسین+ کاندیدا آلبیکنس)	۰/۱۹۳ ۰/۲۳۰ ۰/۱۹۱	۰/۳۳۱ ۰/۳۲۷ ۰/۳۳۵	۰/۲۳۵ ۰/۱۹۵ ۰/۲٤۰
میزان جذب نیتریک اکساید در نمونه بدون آلیسین (ماکروفاژ+ کاندیدا آلبیکنس	۰/۰۸۳ ۰/۰۹۵ ۰/۰۸۸	۰/۱۵۲ ۰/۱٤٦ ۰/۱٤۹	۰/۰۹۲ ۰/۰۹۷ ۰/۹۳۰
میزان جذب نیتریک اکساید در کنترل مثبت (ماکروفاژ + LPS +γ- rINF)	۰/۲۲۰ ۰/۱۵۰ ۰/۱۸۰	۰/۳۰۵ ۰/۳۰۱ ۰/۳۰۳	۰/۲٤۰ ۰/۲۱۰ ۰/۲٦۰
میزان جذب نیتریک اکساید در کنترل منفی (ماکروفاژ)	۰/۰۹۲ ۰/۰۹۱ ۰/۰۹۳	۰/۱۱٤ ۰/۱۱۱ ۰/۱۱۲	۰/۱۱٤ ۰/۱۰۸ ۰/۱۱۰

Downloaded from jmp.ir at 14:33 +0330 on Thursday November 15th 2018

برای مقایسه میزان گروه آلیسین‌دار نسبت به گروه بدون آلیسین ابتدا از آزمون ناپارامتری Kruskal – Wallis استفاده می‌کنیم. با توجه به جدول شماره ۲ و با استفاده از Pvalue = ۰ و با توجه به اینکه این مقدار کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد پس فرض H0 رد می‌شود.

که فرض‌های آن در ذیل آمده است:

$$H0: \mu 1 = \mu 2 = \mu 3 = \mu 4$$

$$H1: \mu i \neq \mu j \qquad i, j = 1,2,3,4$$

$$i \neq j$$

برای اثبات درستی آزمون بالا آزمون ANOVA نیز انجام شد که با استفاده از Pvalue=0 آن، مجدداً فرض H0 رد می‌شود (جداول شماره ۲ و ۳).

برای مقایسه بین گروه‌ها به صورت تک تک از روش bonferroni استفاده شد (جدول شماره ٤). به عنوان مثال گروه ۱ با گروه ۲ اختلاف ۱۳/۸٦ به دست آمد و چون این اختلاف مثبت است یعنی میانگین گروه ۱ از ۲، ۱۳/۸٦ واحد بیشتر است پس نتیجه می‌گیریم که آلیسین دارای اثر تحریکی بیشتر در مقایسه با گروه بدون آلیسین بر روی ماکروفاژها داشته است و Pvalue= ۰، مصداق این گفتار است. در مقایسه گروه ۱ با ۳، اختلاف میانگین ۱/۱۷ مشاهده شد ولی با توجه به این‌که Pvalue= ۱ است، قویاً میانگین دو گروه با هم برابر است و این دلیلی بر اثر اینترفرون گاماولیپوپلی ساکارید باکتری گرم منفی درگروه کنترل مثبت می‌باشد. در حالت کلی گروه ۱ با ۳ و گروه ۲ با ٤ از نظر میانگین، با هم اختلافی ندارند.

جدول شماره ۲ – آزمون ناپارامتری (رتبه‌بندی‌ها)

گروه مشاهده شده	تعداد	Mean rank (میانگین)
۱	۹	۲۸/۰٦
۲	۹	۹/۲۸
۳	۹	۳٦/۸۳
٤	۹	۹/۸۳
کل	۳٦	

جدول شماره ۳ – آزمون ANOVA

مشاهدات یک‌طرفه	مجموع میانگین‌ها	Df (درجه آزادی)	میانگین‌ها	F (آزمون فیشر)	Sig (Pvalue)
بین گروه‌ها	۱٦۷۲/۱۹۷	۳	۵۵۷/۳۹۸	۲۹/۵۱۰	۰/۰۰۰
درون گروه‌ها	٦۰٤/٤۲۲	۳۲	۱۸/۸۸۸		
کل	۲۲۷٦/٦۱٦	۳۵			

Downloaded from jmp.ir at 14:33 +0330 on Thursday November 15th 2018

جدول شماره ٤ – روش bonferroni (مقایسه چندگانه)

(J) گروه	(I) گروه	اختلاف میانگین (I-J)	ضریب خطا	Sig (Pvalue)	درصد اطمینان ۹۵ درصد	
					بالاتر از حد	پایین‌تر از حد
۲	۱	۱۳/۸٦٥٥٦	۲/۰٤۸۷٥	۰/۰۰۰	۱۹/٦۲۷۳	۸/۱۰۳۸
۳	۱	۱/۱۷۷۷۸	۲/۰٤۸۷٥	۱/۰۰۰	٦/۹۳۹٦	-٤/٥۸٤۰
٤	۱	۱٤/٥۰۷۷۸	۲/۰٤۸۷٥	۰/۰۰۰	۲۰/۲٦۹٦	۸/۷٤٦۰
۱	۲	-۱۳/۸٦٥٥٦	۲/۰٤۸۷٥	۰/۰۰۰	-۸/۱۰۳۸	-۱۹/٦۲۷۳
۳	۲	-۱۲/٦۸۷۷۸	۲/۰٤۸۷٥	۰/۰۰۰	-٦/۹۲٦۰	-۱۸/٤٤۹٦
٤	۲	۰/٦٤۲۲۲	۲/۰٤۸۷٥	۱/۰۰۰	٦/٤۰٤۰	-٥/۱۱۹٦
۱	۳	-۱/۱۷۷۷۸	۲/۰٤۸۷٥	۱/۰۰۰	٤/٥۸٤۰	-٦/۹۳۹٦
۲	۳	۱۲/٦۸۷۷۸	۲/۰٤۸۷٥	۰/۰۰۰	۱۸/٤٤۹٦	٦/۹۲٦۰
٤	۳	۱۳/۳۳۰۰۰	۲/۰٤۸۷٥	۰/۰۰۰	۱۹/۰۹۱۸	۷/٥٦۸۲
۱	٤	-۱٤/٥۰۷۷۸	۲/۰٤۸۷٥	۰/۰۰۰	-۸/۷٤٦۰	-۲۰/۲٦۹٦
۲	٤	-۰/٦٤۲۲۲	۲/۰٤۸۷٥	۱/۰۰۰	٥/۱۱۹٦	-٦/٤۰٤۰
۳	٤	-۱۳/۳۳۰۰۰	۲/۰٤۸۷٥	۰	-۷/٥٦۸۲	-۱۹/۰۹۱۸

بحث

هدف اصلی این مطالعه، بررسی تاثیر آلیسین سیر بر روی فعالیت‌ها کروفاژها در برابر کاندیدا آلبیکنس است. امروزه با توجه به افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها به انواع داروهای ضدمیکروبی و مشکلاتی که این سویه‌ها در عفونت‌های بیمارستانی و درافراد دچار ضعف سیستم ایمنی ایجاد می‌کنند، لزوم توجه بیشتر به داروهای گیاهی جدید بیشتر مطرح می‌شود. نتایج پژوهش‌هایی که در گذشته انجام شده نشان می‌دهد که حداقل تعدادی از عصاره‌های گیاهی اثر ضدقارچی خود را می‌توانند خیلی سریع نشان دهد و این مزیت بسیار مهم در استفاده از آنها برای مقاصد درمانی به شمار می‌آید [۱۱،۱٤،۱٥]. هم‌چنین آلیسین باعث افزایش قدرت انفجار اکسیدایتوی و پاسخ‌های ماکروفاژها در برابر کاندیدا آلبیکنس می‌شود و تولید فاکتورها و سیتولین های ماکروفاژی مثل H2O2 و IL_1 را افزایش می‌دهد [۱۷،۱۸]. ترکیبات سیر باعث افزایش قدرت فاگوسیتوزی سلول‌های ایمنی می‌شود [۱۹]. با این دیدگاه اثر تقویتی سیر و آلیسین بیشتر نمایان می‌شود زیرا باعث تقویت فعالیت‌های فاگوسیتوری ماکروفاژها و ترشح فاکتورهای موثر آنها می‌شود. بررسی‌ها نشان داده شده که می‌توان مواد طبیعی همچون آلیسین را جهت فعال‌سازی ماکروفاژها جایگزین عوامل مختلفی همانند $INF-\gamma$ (اینترفرون گاما) و BCG [۱۸،۱۹] نمود، تا در افراد با نقص سیستم ایمنی که احتمال بروز بیماری‌های مختلف و عفونت‌های فرصت‌طلب از جمله کاندیدا آلبیکنس زیاد می‌باشد، لازم است قبل از برخورد با این عوامل عفونی بدن آنها توسط محرک‌های سیستم ایمنی تقویت شود و باعث کاهش این بیماری‌ها در افراد مستعد شود. هم‌چنین نتایج حاصله از تحقیق حاضر کاملاً مشابه پژوهش‌هایی است که محققین در گذشته انجام داده‌اند و در بالا به برخی از آنها اشاره شد. با استفاده از آزمون‌های آماری اثبات شد که آلیسین سیر قویا، فعالیت ضدکاندیدایی ماکروفاژ را افزایش می‌دهد. پیشنهاد می‌شود که این آزمایش به صورت in vivo نیز مورد ارزیابی قرار گیرد.

منابع

1. Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic: *Microbes Infect.* 1999; 1 (2): 125 - 9.

2. Yoshida H, et al. Anti microbial activity of the thiosulfinates from garlic extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 1999; 63 (3): 591 - 4.

3. Nikolic V, Stankovic M, et al. *Antifungal activity of Allicin derived from garlic pharm*. 2004; 59 (11): 845 - 8.

4. Lip yong chung. The antioxidant properties of garlic compounds: Alliin, Allicin, Allyl Disulfide and Allyl cystein. *J. of Med. food* 2006; 9 (2): 205 - 13.

5. Focke M, felld A, lichtenthaler k. Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, inhibits acetyl- coA synthetase. *FEBS lett.* 1990; 12; 261 (1): 106 - 8.

6. Miron T, Rabinkov A, et al. The mode of action of allicin: its ready: its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity. *Biochim. Biophys. Acta* 2000; 15; 1463 (1): 20 - 30.

7. Seong-jun cho, Dong-kwon phee, shukneung pyo. Allicin, a major component of garlic, inhibits apoptosis of macrophage in a depleted nutritional state. *J. of Nutr.* 2006; 22 (11): 1177 - 84.

8. NS kang, et al. Immunomodulationg effect of garlic component, allicin, on murine peritoneal macrophages. *J. of Nutr. Res*. 2001; 21 (4): 617 - 26.

9. Verena M, Alexandra K, Hidebert wagner. Effect of allicin and ojoene, two compounds of garlic, *Atherosclerosis* 1998; 139 (2): 333 - 9.

10. Rippon JW. Medical Mycology: the pathogenic fung: and the pathogenic actinomycetes saunders company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc. 1998, pp: 532 - 82.

11. Blast E, et al. Differential susceptibility of yeast and hyphal from candida albicans to protective activity of macrophages. *Infect. Immun* 2000; 63 (4): 1253 - 7.

12. Pattna KS, Subramanyam VR, Rath CC. Effect of essential oils on the viability and morphology of Escherichia coli (sp-11). *Microbios*. 1995; 84: 195 - 9.

13. Iqboal A, Beg AZ. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants multidrug resistant human pathogens. *J. Ethnopharma*. 2001; 74: 113 - 23.

14. Kang NS, Moon EY. Cho CG. Immunomodulating effect of garlic component, allicin, on murine peritoneal macrophages. *Nat. Res*. 2001; 21: 617 - 26.

15. Salman H. Michael B, Hanna B, Igor P. Effect of garlic derivative on peripheral blood cell immune responses. Inter. *J. Immunopharman*. 1999; 21: 589 - 97.

16. Shapoury R, Sattari M, Zahir Hassan. Studies on the Antimicrobial Effect of Allicin on the intra macrophages Brucella. *J. of Biol. Sci*. 2006; 9 (10): 1935 - 9.

17. Miriam paty, et al. Allicin stimulates macrophages and elicits an anti tumor effect. *Int. Immunol*. 2004; 16 (2): 275 - 81.

18. Hisao-pei change, yue-Hwla chen. Differential effects of organsoulfur compounds from garlic oil on nitric oxide and prostaglondin E_2 in stimulated macrophages. *Int. J. of Apply and Basic Nutr. Sci*. 2005; 21 (4): 530 - 6.

19. Oqita A, Fujita K, Taniquchi M, Tanaka T. Enhanced of the fungicidal activity of

Downloaded from jmp.ir at 14:33 +0330 on Thursday November 15th 2018

amphotericin B by allicin, an Allyl-sulfur compound from garlic, against the yeast candida albicans, as a model system. *Planta Med*. 2006; 72 (13): 1247 - 50.

Downloaded from jmp.ir at 14:33 +0330 on Thursday November 15th 2018