

# بررسی اثر ضدویروسی عصاره سیر بر روی هرپس سیمپلکس ویروس با استفاده از روش کشت سلولی

دکتر سیدمحمد رضوی\*، بهنام عزیزالهی\*\*، دکتر هدا رحیمی\*\*\*

## چکیده

زمینه و هدف: ویروس هرپس سیمپلکس علت طیف وسیعی از عفونتها در نواحی مختلف بدن می‌باشد. هرپس سیمپلکس تیپ I نوعی از این ویروس است که عامل دو بیماری دهانی ژنژیواستوماتیت حاد و تب خال می‌باشد. تاکنون داروهای متعددی برای درمان این ضایعات معرفی شده‌اند که هر کدام عوارض خاص خود را دارند. از این رو معرفی یک داروی گیاهی با حداقل تأثیرات جانبی برای درمان این ضایعات ضروری به نظر می‌رسد. سیر با توجه به دارا بودن خواص درمانی متعدد از جمله اثر ضد ویروسی می‌تواند داروی مناسبی باشد. بنابراین این تحقیق با هدف بررسی اثر ضد ویروسی سیر و استفاده از آن به عنوان یک داروی گیاهی در درمان ضایعات ناشی از HSVI صورت پذیرفت.

مواد و روشها: در این تحقیق تجربی جهت مطالعه به صورت همزمان می‌باشد از کشت سلول «هلا» برای انجام آزمایشات مختلف استفاده شد. ویروس مورد استفاده از طریق نمونه‌برداری از بیماران مبتلا به ضایعات دهانی تهیه گردید که بعد از افزایش عیار آن، توسط آزمایش TCID50 در کشت سلولی تیتراژ آن تعیین شد. در مرحله بعد غلظت سیتوتوکسیک هر دو نوع عصاره آبکی و الکلی سیر در کشت سلولی تعیین و سپس در آزمایش دیگری اثر ضد ویروسی دو نوع عصاره مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: غلظتی از عصاره سیر که باعث مرگ در ۵۰٪ سلولها گردید (CC50) به ترتیب برای عصاره آبکی و الکلی برابر ۲/۹۱ و ۳/۰۵ mg/ml و غلظتی که باعث ۶۰٪ کاهش در اثرات سیتوپاتیک ویروس شد (IC50) به ترتیب برابر ۱/۱۳ و ۰/۹۸ mg/ml بدست آمد. نتیجه‌گیری: بطور کلی یافته‌های این پژوهش بیانگر اثر بازدارندگی بارز هر دو نوع عصاره سیر بر روی HSVI می‌باشد. از طرفی سیر دارای اثرات سیتوتوکسیک نیز هست که در غلظتهای بالاتر از غلظتهای ضد ویروسی نمایان می‌شود.

کلید واژگان: هرپس سیمپلکس، سیر، اثر ضدویروسی، کشت سلول

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۳/۸/۳۰ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸۳/۱۲/۲۳ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۸۴/۱۲/۲۴

## مقدمه

هرپس سیمپلکس تیپ I که معمولاً نواحی صورت، لب‌ها، حفره دهان و پوست نواحی کمر به بالا را درگیر می‌کند و ویروس هرپس سیمپلکس تیپ II که نواحی ژنیتال و پوست نواحی کمر به پائین را مبتلا می‌سازد (۲،۳).

برای درمان ضایعات ناشی از هرپس سیمپلکس راههای فیزیکی و دارویی متفاوتی گزارش شده است. از جمله داروهایی که برای درمان این ضایعات به کار می‌رود

هرپس سیمپلکس ویروس جزء دسته ویروسهای DNA دار می‌باشد که می‌تواند به یک عفونت حاد در انسان منجر گردد (۱،۲). امروزه مشخص شده است که HSV می‌تواند عامل انسفالیت، درماتیت، کراتوکونژکتیویت، عفونت ادراری - تناسلی و بیماری منتشر در نوزادان، همچنین علت احتمالی سرطان گردن رحم، دهان و حلق باشد (۱). دو تیپ ویروس از این دسته می‌توانند در انسان ضایعه ایجاد نمایند: ویروس هرپس

\*نویسنده مسئول: استادیار گروه پاتولوژی دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان. Email: razavi@dnt.mui.ac.ir

\*\*کارشناس ارشد گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

\*\*\*دندانپزشک.

روی عصاره ۲۴ گیاه انجام دادند، دریافتند که تعدادی از این عصاره‌ها بر روی هرپس سیمپلکس اثر مهاری داشته، با استفاده از روش مشاهده CPE ممانعت کامل از رشد و تکثیر در غلظت‌های غیر سیتوتوکسیک گزارش گردید (۱۰).

Cavellito و Bailey اولین کسانی بودند که در سال ۱۹۹۴ نشان دادند که اثرات آنتی‌باکتریال سیر کاملاً به آلیسین مربوط می‌باشد (۱۱). بعلاوه تحقیق شایان ذکری در سال ۱۹۸۵ توسط Tsai و همکاران در کالج پزشکی شانگهای چین بر روی اثرات ضد ویروسی سیر انجام شد و طی آن گزارش گردید که عصاره سیر روی ویروس آنفلوانزای B و HSVI اثر ضد ویروسی دارد اما روی کوکساکسی ویروس B1 اثری ندارد (۱۲). و بالاخره در سال ۱۳۸۰ مطالعه ای توسط حسین‌زاده در دانشگاه تربیت مدرس تهران انجام پذیرفت. در این تحقیق با استفاده از مشاهده CPE و بررسی IC50، تأثیر عصاره اوکالپیتوس بر روی ویروس هرپس سیمپلکس مطالعه و با مقایسه‌ای که با آسیکلوویر - بعنوان شاهد مثبت - انجام گرفت، مشخص گردید که عصاره اوکالپیتوس نقش مثبتی در کاهش CPE حاصل از این ویروس دارد (۱۳).

در ایران تاکنون مطالعه جامعی جهت مقایسه اثر عصاره سیر روی هرپس سیمپلکس انجام نگرفته است. بنابراین هدف از این مطالعه یافتن غلظت مناسبی از عصاره سیر بود که علاوه بر داشتن اثر ضد ویروسی مشخص، سیتوتوکسیک نباشد.

### مواد و روشها

در این تحقیق تجربی جامعه آماری تعداد خانه‌های حاوی «سلول هلا»<sup>۱</sup> (Hela cell) موجود در میکروپلیتهای مورد آزمایش بود. نمونه‌گیری به طریق آسان به منظور تهیه منبع ویروس هرپس سیمپلکس از ضایعات تازه تب‌خال در بیماران

<sup>۱</sup> سلول هلا یکی از سلولهای حساس و مناسب برای تکثیر ویروسی هرپی امپلکس است که منشاء آن سلولهای اپی تلیالی سرطان گردن رحم انسان می‌باشد.

آسیکلوویر (با نام تجاری Zovirax) می‌باشد (۲). این دارو اگر چه هنوز داروی مؤثری محسوب می‌شود اما عوارض جانبی آن از جمله محدودیت مصرف در دوران شیردهی یا در سالمندان و سایر عوارض جانبی، همچنین مسأله مقاومت در مقابل این دارو، موارد مصرف آن را محدود می‌سازد (۴،۵).

بر این اساس امروزه استفاده از داروهای گیاهی به علت عوارض جانبی کمتر، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است.

از جمله این داروهای گیاهی، سیر (Garlic)، است که علاوه بر اثرات ضد قارچی و باکتریایی، در بسیاری از مقالات به عنوان یک ترکیب مؤثر ضد ویروسی معرفی شده است. عصاره سیر که آلیسین (Allicin) ترکیب فعال و اصلی آن می‌باشد، دارای خواص آنتی ویرال *in vitro* و *in vivo* است. از جمله ویروس‌های حساس به عصاره سیر، سیتومگالوویروس، آنفلوانزا B، HSVI و HSVII، پاراآنفلوانزا ویروس III، واکسیناویروس و رینوویروس انسانی تایپ III می‌باشند (۶،۷).

Armaka و همکاران در سال ۱۹۹۹ در دانشگاه ارسطوی یونان مطالعه‌ای را روی ایزوپورنئول که یک جزء روغنهای ضروری در بسیاری از گیاهان (از جمله روغن H-Balm) است، انجام داده و نشان دادند که این ماده اثر ویروسیدال دوگانه‌ای علیه ویروس HSVI دارد، به این ترتیب که در طی ۳۰ دقیقه، بعد از اینکه در معرض آن قرار گرفتند، ویروس HSVI غیرفعال شد و در غلظت ۰/۰۶ mg/ml تکثیر ویروس بطور کامل متوقف گردید (۸).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۰ در دانشگاه Oveido اسپانیا انجام گرفت، پس از بررسی اثر سیتوتوکسیسیته عصاره آبکی فیلاننتوس اوربیکولاریس به دو روش MTT و بررسی CPE، خاصیت ضد ویروسی آن مورد آزمایش قرار گرفت و اثر ضد ویروسی آن در برابر هرپس سیمپلکس تیپ I و II مشخص گردید (۹).

از طرفی Lopez و Hudson در سال ۲۰۰۱ طی تحقیقی که بر

داده شد. اثرات سیتوپاتیک خاص ویروس هرپس سیمپلکس (نمای خوشه انگوری سلولها و گرد و بالونی شدن سلول و تشکیل سلولهای غول پیکر)(۱۴). با استفاده از میکروسکوپ معکوس Inverted بعد از ۲ روز مشاهده شد که نشان دهنده نوع و تیپ ویروس می باشد (شکل ۱).

مرحله چهارم) به منظور تأیید قطعی نوع و تیپ ویروس آزمایش ایمونوفلورسانس مستقیم انجام گردید.

مرحله پنجم) ویروس به منظور تهیه بذر ویروسی مناسب در محیط کشت سلولی «هلا» تکثیر گردید و سپس با استفاده از عملیات خاص (فریز ← ذوب ← سانتیفریژ ← کیسه دیالیز) تغلیظ شد. سپس تیترو ویروس تغلیظ شده توسط آزمایش TCID50 تعیین گردید.

مرحله ششم) در این مرحله غلظتهای مختلف هر دو نوع عصاره سیر به طور جداگانه بر روی میکروپلیتهای حاوی کشت سلولی «هلا» منتقل گردید و با استفاده از میکروسکوپ معکوس تغییرات سلولی مشاهده شد. در نهایت از طریق مشاهده، غلظتی از عصاره که باعث مرگ سلولی در ۵۰٪ سلولهای محیط کشت شد بررسی گردید.

مرحله هفتم) در این مرحله غلظتهای مختلف هر دو نوع عصاره به طور جداگانه به میکروپلیتهای حاوی کشت سلول منتقل شده و با استفاده از میکروسکوپ معکوس غلظتی که باعث ۵۰٪ کاهش در CPE ایجاد شده توسط ویروس گردیده بود مشاهده شد.

در نهایت پس از بدست آمدن اطلاعات مورد نیاز از طریق انجام آزمایشات فوق، با بکارگیری آنالیز آماری پرابیت و نرم افزار SPSS مقادیر IC50 و CC50 هر دو نوع عصاره آبکی و الکلی محاسبه گردید.

### یافته‌ها

چنانچه گفته شد با توجه به حجم نمونه که تعداد دفعات تکرار

انجام گرفت. حجم نمونه تعداد دفعات تکرار آزمایشان می باشد که براساس فرمول،  $n=25$  به دست آمد. به عبارت دیگر برای هر یک از عصاره‌های آبکی و الکلی سیر ۵ بار (برای هر غلظت از چهار غلظت تهیه شده) در ۵ میکروپلیت آزمایش تکرار گردید که با در نظر گرفتن به عنوان شاهد سلولی، در مجموع ۲۵ بار آزمایش انجام گرفت.

متغیرهایی که در این پژوهش مورد مطالعه قرار گرفتند عبارتند از:

TCID50 (Tissue culture Inhibitory Dose) 50% که یک متغیر کمی پیوسته برای بیان تیترو از سوسپانسیون ویروسی است که قادر به آلوده ساختن ۵۰٪ از سلولهای سالم باشد.

CC50 (Cytotoxic Concentration Rate) 50% که یک متغیر کمی پیوسته جهت بررسی خاصیت سیتوتوکسیتی عصاره سیر می باشد.

IC50 (50% Inhibitory concentration rate) که یک متغیر کمی پیوسته برای بررسی خاصیت ضد ویروسی سیر می باشد. CPE (Cytopathic effect): یک متغیر کمی گسسته جهت بررسی متغیرهای فوق الذکر.

این مطالعه شامل ۷ مرحله بود که این مراحل عبارتند از:

مرحله اول) در این مرحله با استفاده از روش پرکولاسیون دو نوع عصاره آبکی و الکلی سیر از سیر تازه تهیه شد و غلظت عصاره حاصل بر اساس فرمول:  $\frac{\text{حجم عصاره حاصل}}{\text{حجم عصاره}} \times 100 = \text{درصد عصاره}$  تعیین گردید. سپس با عبور عصاره از فیلترهای مخصوص از عدم حضور میکروارگانیسم‌ها اطمینان حاصل شد.

مرحله دوم) نمونه ویروسی از ضایعات تازه تب خال در بیماران مبتلا تهیه شده و از طریق محیط انتقالی ویروسی (Virus transport media) به آزمایشگاه منتقل شد.

مرحله سوم) نمونه جمع‌آوری شده ویروسی از محیط انتقالی به محیط کشت سلولی «هلا» که قبلاً مهیا گردیده بود انتقال

آزمایش می‌باشد، برای تعیین غلظت سیتوتوکسیک عصاره آبی و الکلی سیر، ۲۵ عدد به صورت درصد به دست آمد که هر کدام نشان دهنده مرگ سلولها به علت اثر آسیب‌زایی عصاره سیر در آن غلظت خاص می‌باشد. جداول ۱ و ۲ مقادیر

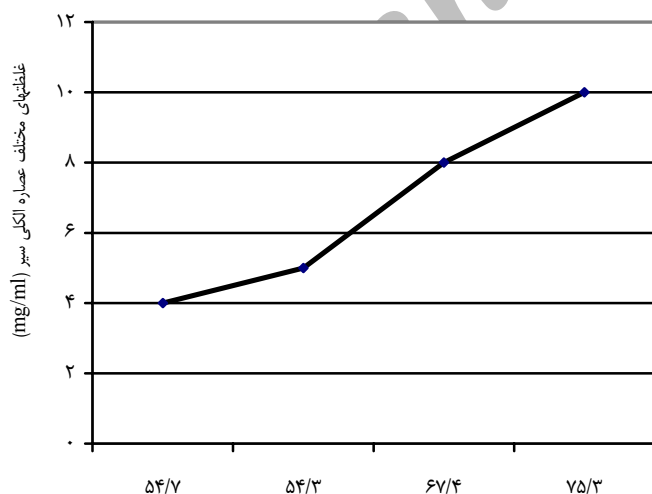
آزمایش می‌باشد، برای تعیین غلظت سیتوتوکسیک عصاره آبی و الکلی سیر، ۲۵ عدد به صورت درصد به دست آمد که هر کدام نشان دهنده مرگ سلولها به علت اثر آسیب‌زایی عصاره سیر در آن غلظت خاص می‌باشد. جداول ۱ و ۲ مقادیر

جدول ۱- نتایج آماری حاصل از آزمایش سیتوتوکسیک عصاره آبی سیر

غلظت (mg/ml)	میانگین	میانه	صدک ۷۵	صدک ۲۵	مینیم	ماکزیم
۳	%۵۱/۵	%۵۱	%۵۹	%۴۴/۵	%۳۵	%۶۶
۴/۵	%۵۸/۳	%۶۰	%۶۳/۵	%۵۲/۵	%۳۸	%۸۱
۶	%۶۷/۶	%۶۸	%۷۳	%۶۲/۵	%۵۵	%۸۱
۹	%۸۲/۳	%۸۳	%۷۸	%۹۰	%۷۰	%۹۳

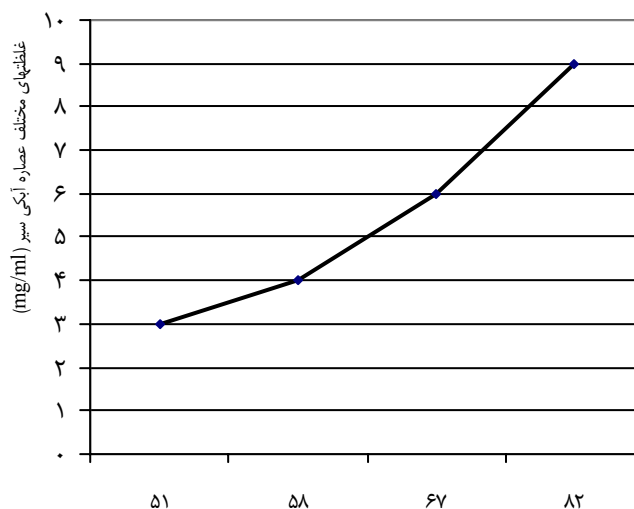
جدول ۲- نتایج آماری حاصل از آزمایش سیتوتوکسیک عصاره الکلی سیر

غلظت (mg/ml)	میانگین	میانه	صدک ۷۵	صدک ۲۵	مینیم	ماکزیم
۴	%۵۴/۷	%۵۴	%۶۱/۵	%۵۰	%۳۴	%۹۰
۵	%۵۴/۳	%۶۰	%۶۲/۵	%۵۳/۵	%۴۴	%۶۸
۸	%۶۷/۴	%۶۹	%۷۲	%۶۱	%۵۳	%۸۹
۱۰	%۷۵/۳	%۷۷	%۸۰/۵	%۷۱/۵	%۶۱	%۸۶



نمودار ۲- نتایج میانگین توکسیسیتی هر یک از غلظتهای

عصاره هیدروالکلی سیر



نمودار ۱- نتایج میانگین توکسیسیتی هر یک از غلظتهای

عصاره آبی سیر

سیر با ۲۵ بار تکرار آزمایش برای هر غلظت عصاره، ۲۵ عدد به صورت درصد بیان شد که نشان دهنده مقدار کاهش CPE ویروس بود (جدول ۳ و ۴). همچنین نمودارهای ۳ و ۴ با نشان دادن میانگین این مقادیر کاهش آسیب‌زایی HSV1 را در اثر مجاورت با عصاره آبکی و الکلی سیر بیان می‌کنند.

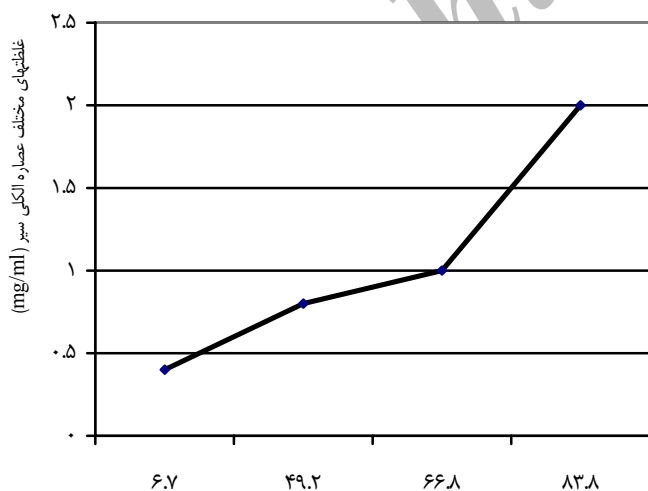
از طرفی براساس آنالیز پرابیت غلظتی از عصاره سیر که در آن ۵۰٪ سلولهای کشت داده شده از بین رفته بودند (CC50) گزارش گردید که به قرار زیر می‌باشد:  
 عصاره الکلی سیر برابر ۳/۰۵ mg/ml بدست آمد.  
 عصاره آبکی سیر برابر ۲/۹۱ mg/ml می‌باشد.  
 همچنین در آزمایشهای تعیین خاصیت ضد ویروسی عصاره

جدول ۳- نتایج آماری حاصل از آزمایش بررسی خاصیت ضد ویروسی عصاره آبکی سیر

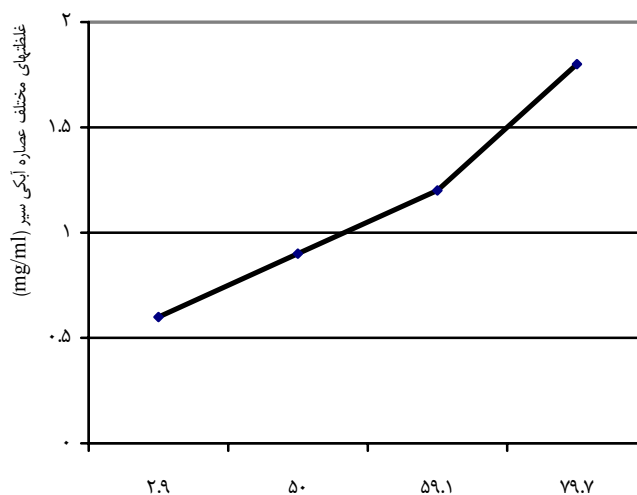
غلظت (mg/ml)	میانگین	میانه	صدک ۷۵	صدک ۲۵	مینیم	ماکزیم
۰/۶	٪۲/۹	٪۳	٪۵	٪۰/۱۵	٪۰	٪۷
۰/۹	٪۵۹	٪۶۱	٪۷۰	٪۵۲/۵	٪۲۸	٪۷۳
۱/۲	٪۵۹/۱	٪۶۰	٪۷۰	٪۵۱/۵	٪۲۹	٪۸۷
۱/۸	٪۷۶/۷	٪۷۸	٪۸۲/۵	٪۷۳/۵	٪۳۷	٪۹۳

جدول ۴- نتایج آماری حاصل از آزمایش بررسی خاصیت ضد ویروسی عصاره هیدروالکلی سیر

غلظت (mg/ml)	میانگین	میانه	صدک ۷۵	صدک ۲۵	مینیم	ماکزیم
۰/۴	٪۶/۷	٪۶۰	٪۹/۵	٪۳/۵	٪۰	٪۱۳
۰/۸	٪۴۹/۲	٪۵۰	٪۵۴	٪۴۴	٪۳۶	٪۶۲
۱	٪۶۶/۸	٪۷۰	٪۷۲/۵	٪۶۱	٪۳۱	٪۸۳
۲	٪۸۳/۸	٪۸۴	٪۸۸	٪۸۰/۵	٪۷۰	٪۹۱



نمودار ۴- نتایج میانگین کاهش CPE هرپس سیمپلکس در اثر مجاورت با عصاره الکلی سیر



نمودار ۳- نتایج میانگین کاهش CPE هرپس سیمپلکس در اثر مجاورت با عصاره آبکی سیر

روی سلولها، آزمایشهایی انجام گرفت. اثرات توکسیک سیر بر روی سلولهای «هلا» (اثر سیتوتوکسیک سیر) به صورت منقبض و گرد شدن سلولها و در نهایت مرگ آنها مشخص می‌گردد که در مورد عصاره آبکی سیر این اثرات در غلظتهای بالاتر یا برابر ۳ mg/ml و در مورد عصاره الکلی سیر ۴mg/ml مشاهده شد.

مطالعات بسیاری پیرامون اثر سیتوتوکسیک سیر انجام گرفته است که از آن جمله می‌توان به مطالعه Siegers و همکاران در سال ۱۹۹۹ اشاره نمود. وی در این پژوهش به نتایج مبنی بر اهمیت نوع سلول در بررسی اثرات سیتوتوکسیک پودر و عصاره سیر دست یافت (۱۶).

با توجه به این نکته که در مورد هر دو نوع عصاره آبکی و الکلی سیر غلظتهایی که در آنها اثر ضدویروسی مشاهده شد پایین‌تر از غلظتهای توکسیک آن قرار داشت می‌توان گفت غلظتی از عصاره سیر که اثر ضد ویروسی دارد هیچ‌گونه اثر مخربی بر روی سلول هلائی کشت داده شده ندارد.

از طرفی نتایج حاصل از این پژوهش برخلاف نتایج بدست آمده از پژوهش Weber است که در سال ۱۹۹۲ نشان داد که غلظتهایی از سیر که اثر ضدویروسی نشان دادند اثر توکسیک بر روی سلولهای vero و «هلا» داشتند (۷).

نکته بسیار مهم دیگر در این پژوهش زمان اضافه کردن عصاره سیر به سلولها بود، بطوریکه در آزمایشهای اولیه که عصاره سیر بعد از مرحله جذب ویروسی به سلول اضافه می‌گردید هیچگونه کاهش در CPE ویروس قابل مشاهده نبود. این یافته‌ها مشابه نتایج مطالعه Bourne و همکاران در سال ۲۰۰۰ است که در آن اثر ۵ ماکرومولکول روی HSV در کشت سلول بررسی گردید و نشان داده شد که این مواد تنها زمانی که قبل از ورود ویروس به سلول اضافه می‌شدند کاهش در CPE ویروس را به دنبال داشتند و بعد از اضافه کردن ویروس تأثیر چندانی نداشتند (۱۷).

از طرفی براساس آنالیز پرایت غلظتی از عصاره سیر که باعث ۵۰٪ کاهش در CPE ایجاد شده توسط ویروس هرپس سیمپلکس می‌شود (IC50) گزارش گردید که به قرار زیر می‌باشد:

IC50 عصاره الکلی سیر برابر ۰/۹۸ mg/ml بدست آمد.

IC50 عصاره آبکی سیر برابر ۱/۱۳ mg/ml می‌باشد.

بنابراین نتایج حاصل از آزمایشها را می‌توان به صورت زیر خلاصه نمود:

عصاره آبکی سیر	{	CC50 = ۲/۹۱ mg/ml
		IC50 = ۱/۱۳ mg/ml
عصاره الکلی سیر	{	CC50 = ۳/۰۵ mg/ml
		IC50 = ۰/۹۸ mg/ml

لازم به ذکر است که می‌توان از طریق آنالیز پرایت مقادیر CC90 و CC75، همچنین مقادیر IC75 و IC90 و سایر مقادیر را نیز تعیین نمود.

## بحث

با استناد به یافته‌های این پژوهش، سیر اثر بازدارندگی بارزی بر روی تکثیر HSV1 در سلولهای «هلا» کشت داده شده داشت که این تأثیر با کاهش اثر سیتوپاتیک این ویروس در کشت سلول مشخص گردید.

همانطور که قبلاً بیان شد، با بکارگیری آنالیز پرایت، IC50 عصاره آبکی و الکلی سیر HSVI به ترتیب برابر ۱/۱۳ mg/ml و ۰/۹۸ mg/ml بدست آمد که مقدار بدست آمده کمتر از IC50 آسیکلوویر (۲ mg/ml) که اثر آنتی‌ویرال آن بر HSVI ثابت شده است، می‌باشد (۱۵).

از طرفی به دلیل اینکه بررسی توکسیسیتی سلولی عاملی اساسی هنگام ارزیابی اثر ضد ویروسی یک ماده می‌باشد، بنابراین در تحقیق حاضر نیز به منظور عدم تداخل اثرات آسیب‌زایی سیر بر روی سلولها یا اثرات آسیب‌زایی ویروس بر

### نتیجه گیری

بنابر یافته‌های بدست آمده در این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که هر دو نوع عصاره آبکی و الکلی سیر اثر بازدارندگی بارزی را در تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس تیپ I دارند. بعلاوه چون نتایج حاصل از این مطالعه به طور کلی شامل سروتیپ HSV1 می‌باشد بنابراین می‌توان در تعمیم نتایج به صورت بالینی، تمام بیماری‌هایی که توسط این نوع ویروس ایجاد می‌شوند را نیز در نظر گرفت. در نهایت پیشنهاد می‌شود اثر درمانی این داروی گیاهی بصورت بالینی بر روی بیماران مختلف مطالعه و آزمایش گردد.

### قدردانی و تشکر

در خاتمه محققین بر خود لازم می‌دانند از کلیه پرسنل آزمایشگاه ویروس‌شناسی دانشکده پزشکی و آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و تمام کسانی که در انجام این تحقیق همکاری نمودند، تشکر و قدردانی نمایند.

این نتایج می‌تواند بیانگر این نکته باشد که مکانیسم اولیه تأثیر مواد ضدویروسی (مشابه عصاره سیر در این پژوهش) در مرحله ابتدایی عفونت ایجاد شده و احتمالاً از طریق بلوک کردن اتصال ویروس به سلول یا مداخله در عمل جذب ویروس است. نکته قابل ذکر دیگر اهمیت روش عصاره‌گیری روی فعالیت اجزاء مختلف سیر است. بطوریکه در پژوهش‌های دیگر که از روش‌های متفاوتی برای تهیه عصاره استفاده کرده بودند نتایج متفاوتی در مورد غلظت‌های مؤثر سیر به دست آمد، چنانچه در مطالعه Tsai در سال ۱۹۸۵ غلظت‌های مؤثر ضدویروسی از غلظت ۰/۰۱۵ mg/ml به بالا و غلظت سیتوتوکسیک آن بالای ۱/۵ mg/ml ذکر شده است که می‌تواند به علت تفاوت روش عصاره‌گیری باشد. البته در مطالعه Tsai مقادیر IC50 و CC50 عصاره سیر محاسبه نشده است (۶). بنابراین با امتحان روش‌های مختلف جهت تهیه عصاره سیر باید در انتظار نتایج متفاوتی در این رابطه بود.

### References:

1. Greenberg MS: Ulcerative vesicular and bullous lesions. In: Lynch AM, Brightman VJ, Greenberg MS: Burcket's Oral Medicine Diagnostic and treatment. 9th Ed. Philadelphia: JB Lippincott Co. 1994;Chap2:11-50.
2. Shafer WG, Hine MK, Levy BM: A textbook of oral pathology. 4th Ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 1983;Chap 6:340-405.
3. Picozzi M: Controlling herpes naturally. 2nd Ed. Southpaw Press, 1997;Chap3:50-52.
4. Liao SJ, Liao TA: Acupuncture treatment for herpes simplex infection. J Acupunc Elect Res 1991;16:135-142.
5. Wang F, Kieff E: Viral diseases. In: Brounwald E, Hauser SL: Harrison's principles of internal medicine. 15th Ed. New York: MC Graw-Hill 2001; Chap12:1084-1118.
6. Tsai Y, Cole LL, Davis LE: Antiviral properties of Garlic. Planta Medica 1985;5:460-1.
7. Weber ND, Anderson DO, North JA: Effect of Allium sativum (garlic) extract and compounds. Planta Medica 1992;58:417-423.
8. Armaka M, Papanikalau E, Sivorpoulou A: Antiviral properties of isoborneol a potent inhibitor of herpes simplex virus type I. J Anti Res 1999;43:79-92.

9. Del Barrio G, Parra F. Evaluation of the antiviral activity of an aqueous extract from phyllanthus orbicularis. J Endod 2000;72:317-322.
10. Lopez A, Hunson JB: antiviral and antimicrobial activities of Colombian medical plants. J Endod 2001;77:189-196.
11. Cavallito C, Bailey JH: Allicin the antimicrobial principle of Allium sativum isolation. J Chem Soc 1999;66:1944-1952.
۱۲. خوانساری - ن، شمشیری - م: روشهای بنیادی کشت یاخته‌های جانوری. چاپ اول. تهران و مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی. ۱۳۷۴؛ فصل ۴: ۲۰.
۱۳. حسین‌زاده - ح: مطالعه تأثیر عصاره اوکالیپتوس بر ویروس هرپس سیمپلکس تیپ I و مقایسه آن با آسیکلوویر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، شماره ۱۳۳۶؛ ۱۳۸۰.
14. Roizman B, Pellet PE: Herpes viridae. In: Knipe DM, Howley PM: Fields virology. 4th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001;2:2341-2848.
15. Clin J: Herpes simplex viruses antiviral drug resistance current trends and future prospects. Virol 2001;21:261-269.
16. Siegers CP, Steffen B, Fobke A: The effect of garlic preparation against human tumor cell proliferation. Phytomedicine 1999;6:7-11.
17. Bourne N, Stanbery LR, Kern ER, Holan G, Matthews B, Bernstein DI: Microbiology with activity against herpes simplex virus infection. J Antimicro Agent and Chemo 2000;44:2471-2474.