Archive of SID

مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره هفتم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۷، ۲۳۴-۲۲۷

مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و متانولی سیر بر قارچ‌های فرصت طلب اسپوروتریکس‌شنکئی، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و کاندیدا آلبیکانس

دکتر سیدامین آیت الهی موسوی[۱]، میلاد مهرابیان[۲]، دکتر بهرام یغمائی[۳]

دریافت مقاله: ۸۶/۰۲/۰۹ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۶/۰۶/۱۹ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۷/۰۸/۲۹ پذیرش مقاله: ۸۷/۰۹/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: خواص طبی سیر از عهد قدیم شناخته شده بوده است و حتی برخی از گونه‌های آن از قدیمی‌ترین گیاهانی هستند که توسط انسان کشت شده‌اند. در سه دهه اخیر، با انجام تحقیقات دقیق، خواص درمانی این ماده تأیید شده است. با توجه به این که داروهای سنتتیک ضدقارچی در مواردی اثرات سمی زیادی دارند و به سبب تحمیل هزینه‌های زیاد، ضرورت تحقیق در مورد مواد جایگزین مانند داروهای گیاهی احساس می‌شود. این مطالعه با هدف: ۱- تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده آبی و متانولی سیر از رشد (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) اسپوروتریکس شنکئی، کریپتوکوکوس نئوفورمنس و کاندیدا آلبیکانس و ۲- مقایسه اثر هر یک از آن‌ها با داروی ضدقارچی کتوکونازول (Ketoconazole) انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، پودر خشک شده سیر تازه بودار به مدت ۴ روز در متانول ۸۰٪ خیسانده و سپس در دستگاه تقطیر در خلاء، تغلیظ گردید. سپس غلظتهای مختلف، از ۰/۶۲۵ تا ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شده و قارچ‌ها را به روش نشاکاری مورد بررسی قرار دادیم. از آزمون آماری ANOVA برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها: میزان تأثیر عصاره آبی گیاه سیر بودار بر قارچ اسپوروتریکس شنکئی در حداقل غلظت (۰/۶۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) ۸٪ و در حداکثر غلظت (۲۰میلی‌گرم در میلی‌لیتر) ۱۰۰٪ بود. این اختلاف میانگین رشد عصاره متانولی با شاهد منفی، در غلظت اول ۲۵٪ و در رقت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به میزان ۱۰۰٪ می‌باشد. در محاسبات مشابه، تأثیر عصاره آبی سیر بودار در غلظت ۰/۶۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بر رشد کاندیدا آلبیکانس برابر ۱۷٪ بوده و MIC آن نیز ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. اثرات هر دو عصاره سیر بودار بر قارچ کریپتوکوکوس نئوفورمنس چشم‌گیر می‌باشد، به نحوی که به جز کمترین رقت عصاره آبی سیر در بقیه موارد ۱۰۰٪ از رشد قارچ جلوگیری کرده است و MIC در این مورد ۱/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد. در مورد عصاره متانولی حتی در کمترین غلظت نیز هیچ‌گونه رشدی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: اثر ممانعت کنندگی عصاره گیاه سیر بر رشد سوش‌های قارچی، مشابه و یا بیش از داروی کتوکونازول می‌باشد. بدین سبب و به دلیل اثرات جانبی و نتایج سو مصرف برخی داروهای سنتتیک، نیاز به استفاده از داروهای گیاهی ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: سیر، اسپوروتریکس شنکئی، کاندیدا آلبیکانس، کریپتوکوکوس نئوفورمنس

۱- (نویسنده مسؤول) دانشیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی پور کرمان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

تلفن: ۳۲۲۱۶۶۱-۰۳۴۱، فاکس: ۳۲۲۱۶۷۶-۰۳۴۱، پست الکترونیکی: aminayatollahi@kmu.ac.ir

۲- دانشجوی رشته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان

۲- استاد گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سیر با نام Allium sativum و نام انگلیسی Garlic، گیاهی علفی و دارای ساقه‌ای به ارتفاع ۴۰-۲۰ سانتی‌متر و گاهی بیشتر است. بولب آن که قسمت متورم و زیرزمینی گیاه را تشکیل می‌دهد مرکب از ۱۰-۵ قطعه متورم، محصور در غشاهایی نازک و ظریف می‌باشد [۱]. خانواده سیر در بین گیاهان دارویی مقامی والا دارد، سیر حاوی ویتامین‌های ب و ث می‌باشد [۱].

خواص طبی سیر از عهد قدیم شناخته شده بوده است. تصاویر و کنده‌کاری‌های گیاه سیر مربوط به ۲۷۰۰ سال پیش از میلاد روی دیوارها و اهرام مصر و معابد فراعنه نشانه مقدس بودن و استفاده مطلوب از این گیاه می‌باشد. حتی گونه‌ای از سیر بنام آلیوم سیپا (Alium sepa) از قدیمی‌ترین گیاهانی است که توسط انسان کشت شده است [۲-۱]. در هندوستان، گزارش‌هایی مبنی بر استفاده از سیر در شش قرن قبل از میلاد وجود دارد. در متون متعدد به خواص درمانی سیر اشاره شده است [۳] . از جمله بقراط در ۵ قرن پیش از میلاد و دیوسکورید در قرن اول میلادی توصیف جامعی از خواص درمانی سیر، ارائه نموده‌اند [۴].

در پارانشیم قطعات متورم سیر، یک گلوکوزید سولفوره وجود دارد که بر اثر هیدرولیز به اسانس مخصوص سیر و لوولز تبدیل می‌شود. دی‌سولفیدهای آلی موجود در انواع سیر، ترکیبات گوگردی این گیاه را تشکیل می‌دهند و بو و عطر سیر مربوط به این مواد است. یک اسید آمینه گوگردی به نام آلی‌ئین(Alline) در این گیاه وجود دارد که ماده‌ای محلول در آب و بی بو است، و تحت تأثیر یک آنزیم خاص بنام آلی ئیناز(Allinase) به یک ملکول آلی‌سین(Allicine) و دو ملکول اسید پیروئیک (Pyruvique Acid) و دو ملکول آمونیاک تبدیل می‌شود [۵]. علاوه بر آلی‌ئین، محققان ژاپنی، ماده‌ای بنام متیل آلی‌ئین نیز از این گیاه به دست آورده‌اند [۶].

البته طیف وسیعی از ترکیبات ارگانوسولفورهای دیگر شامل: آجوئین (Ajoene) و تیوسولفونات‌ها (Thiosulfinates) نیز به عنوان عوامل فعال ضد میکروبی شناخته شده‌اند [۶]. در مقالات متعددی آجوئین (تری سولفور) را که از سیر جدا می‌گردد، به عنوان عامل ضد قارچی نام برده‌اند [۸-۶]. حتی این دسته از تحقیقات پا را فراتر گذاشته و پس از انجام پژوهش‌هایی در شرایط برون تنی (In vitro)، تحقیقاتی در خصوص خواص سیر بر روی انسان انجام داده‌اند [۸-۷].

عفونت‌های قارچی از شایع‌ترین و رایج‌ترین بیماری‌های موجود در ممالک دنیا می‌باشند. این عفونت ها بوسیله دو گروه مجزا از قارچها ایجاد می‌گردند. گروه اول توسط قارچهای حقیقی به وجود آمده و گروه دوم بنام عفونت‌های فرصت طلب موسومند. عفونت های فرصت طلب، ویرولانس کمی داشته و تنها در شرایطی ویژه مانند مصرف طولانی آنتی‌بیوتیک‌ها، سیتوتوکسین‌ها، استروئیدها و یا بروز بیماری‌هایی که منجر به نقص سیستم ایمنی می‌شوند، توانایی ایجاد عفونت را دارند، از عوامل مسبب عفونت‌های فرصت طلب می‌توان به کاندیدا آلبیکانس، اسپوروتریکس شنکئی و کریپتوکوکوس نئوفرمنس اشاره کرد. این بیماری‌ها عموماً توسط داروهای سنتتیک خوراکی و موضعی درمان می‌شوند. به طور کلی دسته کوچکی از داروها از جمله آمفوتریپسین ب، ۵- فلوروسیتوزین و تعدادی از آزول‌ها با اثرات جانبی (سمی) بسیار شدید بر روی کلیه، کبد و دیگر ارگان‌های حیاتی بدن، توانایی مقابله با این عوامل فرصت طلب را دارند [۹]. مقاومت گونه‌های قارچی در برابر این داروها، بروز عوارض جانبی، طولانی بودن دوره درمان و هزینه سنگین داروهای ضد قارچی، محققین را ترغیب به تحقیق و مطالعه و یافتن داروهای ثمربخش جایگزین به ویژه از گیاهان دارویی نموده است [۱۰].

از آن جا که گیاهان دارویی ظاهراً فاقد معایب ذکر شده می‌باشند، نیاز روزافزون به یافتن داروی ضدقارچ گیاهی به عنوان جایگزین داروهای فعلی شدیداً احساس می‌شود. در این مطالعه سیر به عنوان نمونه انتخاب شده است زیرا چنانچه گفته شد دارای عوامل ضد قارچی بوده و نیز به فراوانی یافت می شود. بر آن شدیم تا اثر عصاره آبی و متانولی گیاه سیر را

www.SID.ir

Archive of SID

بر سه قارچ فرصت طلب یعنی کریپتوکوکوس نئوفرمنس، کاندیدا آلبیکانس و اسپوروتریکس شنکئی بررسی نمائیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه آزمایشگاهی، بولب‌های سیر تازه تهیه شد. پس از جدا کردن پوست خشک گردیده و سپس بوسیله آسیاب برقی به پودر تبدیل شدند.جهت تهیه عصاره متانولی پودر سیر را در متانول ۸۰٪ حل کرده و محلول حاصل را ۴ روز در دمای آزمایشگاه نگهداشته سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ پوند خشک شد. عصاره آبی نیز مطابق با روش فوق (بجای متانول از آب مقطر استریل استفاده شد) تهیه گردید.

با اضافه کردن ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ به ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره تام متانولی و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به عصاره تام آبی، عصاره‌های ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر متانولی و آبی تهیه شد. سپس از هر یک از این عصاره‌ها، رقت‌های ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه گردید. این غلظت‌ها بدین سبب در نظر گرفته شد که در Pilot study انجام شده در خصوص یکی از قارچ‌ها (اسپوروتریکس شنکئی)، مؤثرترین غلظت در حدود ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود و هم‌چنین رقیق‌تر از ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز اثر زیادی را نشان نداد. به میزان مشخص ۰/۵ میلی‌لیتر از هر یک از این رقت‌ها به محیط کشت اضافه کرده و پس از ۲۴ ساعت، با عمل نشاء کاری در کنار شعله و زیر هود، قارچ‌های مورد نظر کشت داده شدند. در این بررسی تعداد ۱۴۴ لوله شامل ۱۰۸ لوله جهت رقت‌های مختلف عصاره‌های سیر(هر نمونه سه بار تکرار شد) و ۱۸ لوله شاهد منفی و ۱۸ لوله شاهد مثبت، به کار رفت. آخرین لوله (رقتی) از عصاره گیاه که از رشد قارچ کاملاً ممانعت کرده بود، به عنوان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) در نظر گرفته شد.

در این بررسی، از پودر کتوکونازول (۲۰۰ میلی‌گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل) به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر برای هر لوله به عنوان شاهد مثبت و از لوله حاوی محیط کشت و قارچ (بدون افزودن عصاره سیر) نیز به عنوان شاهد منفی استفاده شد. در تمامی آزمایشات با توجه به اثرات ضد قارچی متانول، از این ماده نیز به عنوان شاهد در محیط استفاده شد که از نظر آماری با استفاده از روش ANOVA، اختلاف معنی‌داری به دست نیامد.

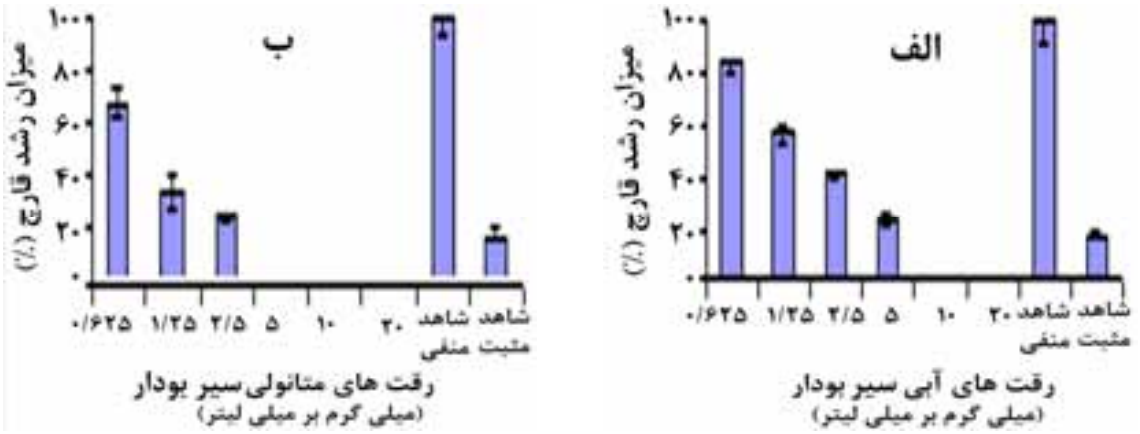
نتایج

میزان تأثیر عصاره آبی روی قارچ اسپوروتریکس شنکئی در حداقل غلظت (۰/۶۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) ۸٪ و در حداکثر غلظت (۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) ۱۰۰٪ بوده است (نمودار ۱-الف). اختلاف معنی داری بین غلظت ۰/۶۲۵ عصاره متانولی سیر و شاهد منفی مشاهده نشد. با افزایش غلظت رقت، سیر نزولی رشد قارچ به ترتیب در غلظت‌های ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، و ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره آبی عبارت بودند از ۷۵، ۵۶، ۴۲، ۱۷ و صفر درصد که در تمامی موارد اختلاف معنی‌داری بین رشد قارچ و شاهد منفی مشاهده می‌شود (الف) و حتی غلظت ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر این محلول در مقایسه با شاهد مثبت اثر بیشتری را نشان داده است (نمودار ۱).

قارچ مذکور در غلظت‌های ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره متانولی نیز به ترتیب به میزان ۵۰، ۳۳، ۱۷ و صفر درصد توانائی رشد را داشته است که در مقایسه با شاهد منفی در تمامی غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (ب). رشد قارچ در حضور دارو ۸/۳٪ بوده که این میزان در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ به حداقل خود رسیده است ($p<۰/۰۰۱$). بر اساس آزمایش به عمل آمده داروی کتوکونازول در لوله شاهد مثبت ۹۱/۷٪ اثر ممانعت کنندگی از رشد روی قارچ مذکور را نشان داد (نمودار ۱).

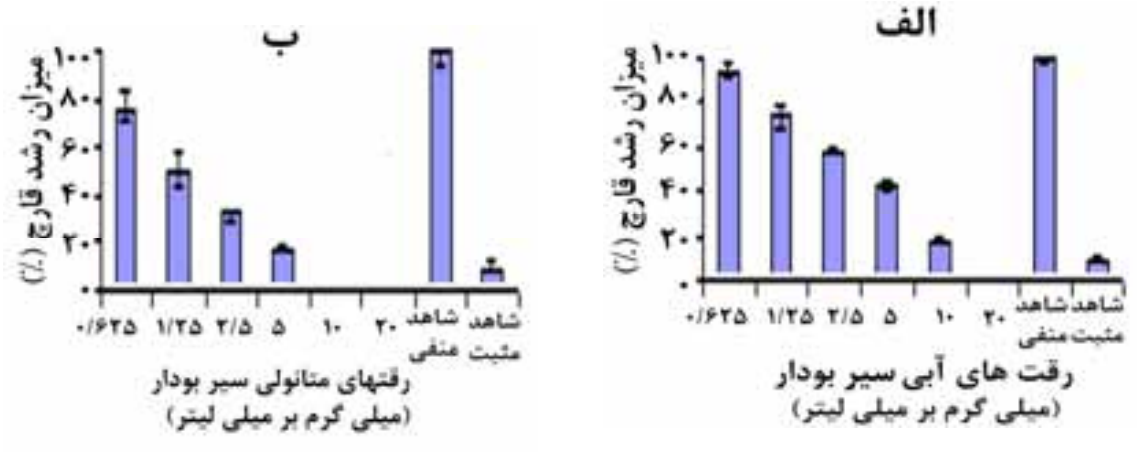
www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱- میزان رشد قارچ اسپوروتریکس شنکئی در محیط کشت سابورو دکستروز آگار (SDA) حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی (الف)و متانولی (ب) سیر بودار با شاهد مثبت و منفی

در بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و متانولی سیر بودار بر رشد قارچ کاندیداآلبیکانس، حداقل غلظت به کار رفته نیز در مقابل شاهد منفی اختلاف معنی‌دار را (p=۰/۰۰۱) نشان داد. مقایسه اثرات غلظت‌های عصاره‌های آبی (الف) و متانولی (ب) با یکدیگر نیز نشان داد که قدرت مهار رشد مخمر غلظت‌های متانولی به مراتب بیشتر از عصاره‌های آبی می‌باشد. این اختلاف در تمامی غلظت‌ها معنی‌دار بوده (p< ۰/۰۰۱) و MIC عصاره‌های متانولی مقدار ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره‌های آبی ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. در مقایسه بین غلظت‌های مذکور و شاهد مثبت نیز مقادیر MIC اختلاف معنی‌داری را نشان داد.

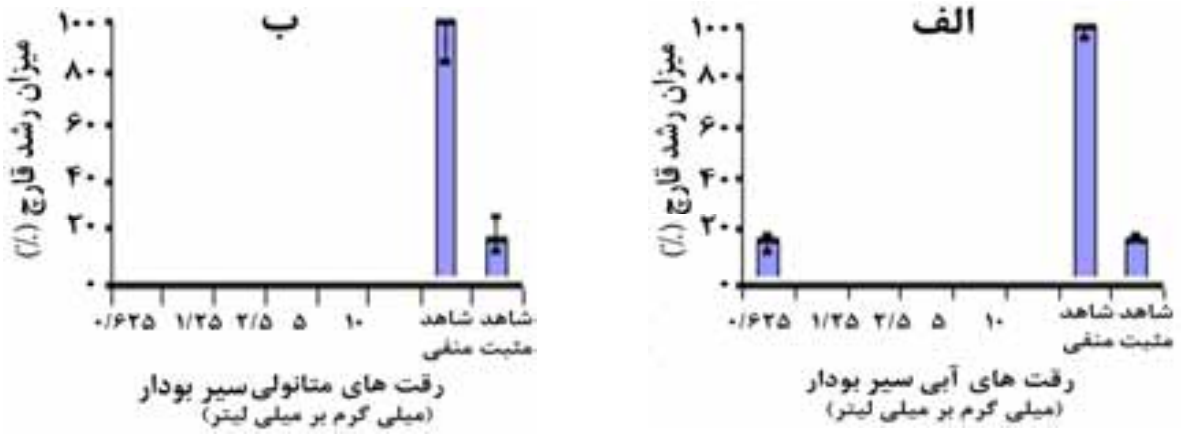


نمودار ۲- میزان رشد قارچ کاندیدا آلبیکانس در محیط کشت سابورو دکستروز آگار (SDA) حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی (الف)و متانولی (ب) سیر بودار با شاهد مثبت و منفی

سومین قارچی که مورد آزمایش قرار گرفت، مخمر پاتوژن فرصت طلب کریپتوکوکوس نئوفورمنس بود. به جز حداقل غلظت (۰/۶۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) عصاره آبی که ۸۳٪ اختلاف میانگین رشد با شاهد منفی داشته (الف)، در بقیه غلظت‌ها عصاره‌های آبی و متانولی ۱۰۰٪ تأثیر ممانعت کنندگی از رشد را نشان داد (نمودار ۳). تمامی غلظت‌های به کار رفته عصاره متانولی سیر توانائی مهار رشد قارچ مذکور را داشته و با دو شاهد منفی و شاهد مثبت نیز اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) را نشان دادند (نمودار ۳-ب) و تنها غلظت ۰/۶۲۵ از عصاره آبی به همان میزان شاهد مثبت (داروی کتوکونازول) از رشد مخمر جلوگیری کرد.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳- میزان رشد قارچ کریپتوکوکوس نئوفورمنس در محیط کشت سابورو دکستروز آگار (SDA) حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی (الف)و متانولی (ب) سیر بودار با شاهد مثبت و منفی

با توجه به اطلاعات کلی موجود می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که بجز یک مورد (تاثیر عصاره آبی بر قارچ اسپوروتریکس شنکئی) تأثیر رقت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر کلیه موارد در مقایسه با شاهد مثبت بسیار زیاد بوده است. البته عصاره متانولی سیر بودار در رقت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز توانسته است کاملاً از رشد کاندیدا آلبیکانس و کریپتوکوکوس نئوفورمنس جلوگیری کند و عصاره آبی در همین رقت اثری مشابه بر کریپتوکوکوس نئوفورمنس داشته است.

بحث

براساس نتایج تحقیق حاضر، عصاره‌های گیاه سیربودار همانند داروی کتوکونازول روی بعضی از سوش‌های قارچی اثرات ممانعت از رشد داشته است. بیشترین میزان ممانعت از رشد (MIC) مربوط به قارچ کریپتوکوکوس نئوفورمنس بود و قارچ‌های کاندیداآلبیکانس و اسپوروتریکس شنکئی در ردیف‌های بعد قرار می‌گیرند. تحقیقی که توسط Shen و همکارانش، در مورد تأثیر عصاره‌های سیر بر قارچ کریپتوکوکوس نئوفورمنس انجام شد، نشان‌دهندهی تأثیر عصاره سیر به شکل خوراکی و تزریق داخل عضلانی بر مننژیت کریپتوکوکال بود [۱۱].

در تحقیقی بر روی عوامل ضد میکروبی سیر نشان داده شد که آلی‌سین بر ضد میکروب‌های گرم منفی و گرم مثبت و باسیل اسید دوست فعالیت می‌کند و آکرولنین که جزء آلدئیدهای شناخته شده در سیر می‌باشد، دارای اثر باکتریسید قوی به نسبت یک در ده میلیونیم است. تقطیر جزء به جزء با حلال‌های غیر قابل حل و رقیق، با ارزیابی فعالیت آنتی‌بیوتیکی اجزاء، حضور دو ماده فعال به نام آلسیتانین ۱ و آلسیتانین ۲ را در سیر نشان داد [۱۲].

Yin و همکارانش نیز اثرات ضد آسپرژیلوسی، سیر و پیاز را مورد بررسی قرار داده و نتیجه گرفتند که تأثیر سیر به مراتب بیشتر می‌باشد [۱۳]. در تحقیق دیگری که Venugopal و همکارانش انجام دادند حساس بودن رشته و سلول مخمری کاندیدا آلبیکانس در برابر عصاره سیر تأیید شد [۱۴].

با توجه به کاربرد روزافزون گیاهان داروئی به خصوص موادی که در رده سیر قرار می‌گیرند، تحقیقات زیادی در زمینه جداسازی اجزا مؤثر این دسته از گیاهان و به کارگیری آن‌ها نه تنها در شرایط برون تنی بلکه بصورت درون تنی و حتی در ترکیب با داروهای سنتتیک نیز انجام شده است. اکثر تحقیقات، میزان اکسین [۱۵] خانواده آلیوم را عامل این تأثیرات ضد باکتریایی و قارچی دانسته‌اند [۱۶]. Tutakne و همکارانش نیز توانستند با بکاربردن عصاره سیر بر روی ضایعات ایجاد شده در عفونت اسپوروتریکوزیس از گسترش عفونت جلوگیری کرده و مدت درمان را به نحو چشمگیری کاهش دهند [۱۷].

www.SID.ir

Archive of SID

آلی تریدیوم که یکی از ترکیبات گیاه سیر می‌باشد نیز توسط Shen و همکارانش در ترکیب با آمفوتریسین ب و بدون دارو در برابر کریپتوکوکوس نئوفورمنس بکار گرفته شد. مقدار MIC محاسبه شده در مطالعه آن‌ها ۵۰ میکرو گرم در میلی‌لیتر و حداقل میزان کشندگی (Minimum Fungicidal Concentration, MFC) ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر شده است [۱۱].

Louria و همکارانش نیز در یک مطالعه تجربی در موش آلوده به کریپتوکوکوس نئوفرمنس نشان دادند که پاپول‌های کریپتوکوکال مغزی موش پس از تجویز خوراکی عصاره سیر کمتر می‌شود، اگر چه حذف کامل پاپولاسیو با تجویز خوراکی عصاره مذکور مشاهده نشد [۱۸]. در یک بررسی روی ۵۶ بیمار دچار کاندیدیازیس دهان، تجویز دهانی سیر اثری مشابه محلول کلوتریمازول را نشان داد [۱۹].

نتیجه‌گیری

در مقایسه کلی اثرات عصاره‌های آبی و متانولی سیر بر روی سه قارچ پاتوژن فرصت طلب، اینگونه می‌توان نتیجه گرفت که غلظت‌های متانولی مؤثرتر از عصاره‌های آبی سیر عمل می‌کنند و هم‌چنین با توجه به MICهای محاسبه شده می‌توان رقت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر را به عنوان رقت نمونه در بررسی‌های بعدی در نظر گرفت. لذا توصیه می‌شود که تحقیقات وسیع‌تری روی این گیاه، تجزیه دقیق مواد مؤثر آن و سوش‌های دیگر قارچی صورت گیرد، تا در صورت اثبات نتایج رضایت بخش، گامی مؤثر در جهت تهیه و تولید اشکال دارویی مناسب برداشته شود.

تشکر و قدردانی

از کلیه کارشناسان و تکنسین‌های دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان که ما را در انجام این مهم یاری دادند، صمیمانه قدردانی می‌گردد

References

[1] Gholamreza A. Medical Plants and Drugs Oriented in Iran. Vice President for Research, Ministry of Health Treatment and Medical Education, Tehran, 1St Publication, 1St Volume, 1370: pp: 12-3. [Farsi]

[2] Biedermann B. Garlic—a "secret miracle of God"? *Schweiz Rundsch Med Prax*. 1983; 84(1): 7-10.

[3] Rabinowitch A, Haim D. Onions and Allied crops. Vol.I. 1990; pp: 23-4.

[4] Zargari A. Herbal Drugs. University of Tehran Publication, Tehran, Fourth Volume, 4 th ed, 1369: 621-3.

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

[6] Ledezma E, Aptiz-Castro R. Ajoene the main active compound of garlic (Allium sativum): a new antifungal agent. *Rev Iberoam Micol*, 2006; 23(2): 75-80.

[7] Ledezma E, Marcano K, Jourquera A, De Sousa L, Padilla M, Pulgar M, et al. Efficacy of ajoene in the treatment of tinea pedis: a double-blind and comparative study with terbinafine. *J Am Acad Dermatol*, 2000; 43(5Pb1): 829-32.

[8] Ledezma E, Lopez JC, Marin P, Romero H, Ferrara G, De Sousa L, et al. Ajoene in the topical short-term treatment of tinea cruris and tinea corporis in humans. Randomized comparative study with terbinafine. *Arzneimittelforschung*. 1999; 49(6): 544-7.

[9] Emami M, Kordbache P, Moghadami M, Zeini F. Medical Mycology, University of Tehran Publication, 4th Publication. pp: 181-212.

[10] Davis LE, Shen J, Royer RE. In vitro synergism of concentrated Allium sativum extract and amphotericin B against Cryptococcus neoformans. *Planta Med*, 1994; 60(6): 546-9.

[11] Shen J, Davis LE, Wallace JM, Cai Y, Lawson LD. Enhanced diallyl trisulfide has in vitro synergy with

www.SID.ir

Archive of SID

amphotericin B against Cryptococcus neoformans. ***Planta Med*****, 1996; 62(5): 415-8.**

[12] Iwalokun BA, Ogunledun A, Ogbulu DO, Bamiro SB, Jimi-Omojola J. In vitro antimicrobial properties of aqueous garlic extract against multidrug-resistant and Candida species from Nigeria. ***J Med Food*****, 2004; 7(3): 327-33.**

[13] Yin MC, Tsao SM. Inhibitory effect of seven Allium plants upon three Aspergillus species. ***Int J Food Microbiol*****, 1999; 49(1-2): 49-56.**

[14] Venugopal PV, Venugopal TV. Antidermatophytic activity of garlic (Allium sativum) in vitro. ***Int J Dermatol,*** **1995; 34(4): 278-9.**

[15] Sovova M and Sova P. Pharmaceutical significance of Allium sativum L.4. Antifungal effects. ***Ceska Slov Farm*****, 2003; 52(2): 82-7.**

[16] Vaijayanthimala J, Anandi C, Udhaya V, Pugalendi KV. Anticandidal activity of certain South Indian medicinal plants. ***Phytother Res,*** **2000; 14(3): 207-9.**

[17] Tutakne MA, Satyanarayanan G, Bhardwaj JR, Seith IC. Sporothrichosis treated with garlic juice. A case report. ***Indian J Dermatol*****, 1983; 28(1): 41-5.**

[18] Louria DB, Lavenhar M, Kaminski T, Eng RH. Garlic (Allium sativum) in the treatment of experimental cryptococcosis. ***J Med Vet Mycol,*** **1989; 27(4): 253-6.**

[19] Sabitha P, Adhikari PM, Shenoy SM, Kamath A, John R, Prabhu MV, et al. Efficacy of garlic in oral candidiasis. ***Trop Doct*****, 2005; 35(2): 99-100.**

www.SID.ir

Archive of SID

The Effect of Different Concentrations of Methanol and Aqueous Extracts of Garlic on Opportunistic Fungi *Sporothrix Schenckii*, *Cryptococcus Neoformans* and *Candida Albicans*

S.A. Ayatollahi Mousavi[1], **M. Mehrabian**[2], **B. Yaghmai**[3]

Received: 29/04/07 **Sent for Revision: 10/09/07** **Received Revised Manuscript: 19/11/08** **Accepted: 30/11/08**

Background and Objective: The curative properties of garlic in medicine have been known for a long time. However, it was only in the last three decades when garlic properties were seriously investigated confirming its potential as therapeutic medicine. The aim of this study was to measure the MIC of aqueous and methanolic extracts of garlic and to compare them with ketoconazole as positive control.

Materials and Methods: In this laboratory study, the fresh smelly bulb of garlic was cleaned, skined, dryed and powdered. Garlic powder was solved in 80% methanol and distilled water. This yellow solution remained in the lab for 4 days. After that the stimmed, filtered and concentrated solution was kept remained inside the pipet in oven for 48h in 50ºC to make dry extract. Then methanol and aqueous dilutions (0.625 mg/ml, 1.25 mg/ml 2.5 mg/ml, 5 mg/ml, 10mg/ml and 20 mg/ml) were prepared separately from 200mg powder of the concentrated extracts of garlic. Three strains of dermatophytes were cultured on the media which contained different dilutions.

Results: This experimental study showed that the rate of the effect of the aqueous extracts of garlic on Sporothrix schenckii in the minimum dilution (0.625mg/ml) was 8% and in the maximum dilution (20mg/ml) was 100%. This rate in methanol extract on the same fungus was 25% and 100% in 10mg/ml dilution, respectively. The amounts of the effects of extracts on Candida albicans were 17% in the minimum dilution and 100% in 10% dilution. The effect of this plant on Cryptococcus neoformans was more than our expectation, because the amount of MIC in all dilutions was close to its minimum dilution (0.625mg/ml).

Conclusion: As the effects of the garlic extracts were the same or even more than ketoconazole, and also regarding the side effects of the synthetic drugs, the use of herbs as useful drugs are necessary.

Key Words: Allium sativum, Sporothrix schenckii, Candida albicans, Cryptococcus neoformans

Funding: This research was funded by Kerman University of Medical Sciences.

Conflict of Interest: None declared.

Ethical Approval: Kerman Medical University Ethical Committee approved the study.

1- Associated Prof., Dept. of Clinical Mycology, University of Medical Sciences, Kerman, Iran
(Corresponding Author) Tel: (341) 3221661, Fax: (341) 3221676, E-mail: aminayatollahi@kmu.ac.ir
2- Medical Student, University of Rafsanjan, Rafsajan, Iran
3- Professor of Clinical Biochemistry, Medical University of Shahid Beheshti, Tehran, Iran

www.SID.ir