ارزیابی خاصیت ضد ویروسی عصاره لعل کوهستان(Oliveria decumbens Vent.) در کنترل ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک

الهام دشتی مکان[۱]، فاطمه رودباری*[۱]، مریم مهاجرانی[۱]، آرمان محمودی اطاقوری[۲]، سعید کاووسیان[۳]، ژیلا زاهدی[۴]، نسرین حسن زاده[۳]

۱) گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۳) پژوهشکده شمال کشور، انستیتو پاستور ایران، آمل، ایران

۴) گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۱۷ **تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۲۱**

چکیده

مقدمه: ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک(HSV-1) حاوی DNA پوشش دار است که در خانواده هرپس ویریده قرار دارد. این ویروس عامل عفونت های مختلف در سراسر جهان است. استفاده گسترده از آسیکلووییر منجر به ایجاد سویه های HSV مقاوم به آن شده است بنا بر این نیاز به یافتن مواد جدید که دارای اثر ضد ویروسی باشند ضروری است. لعل‌کوهستان از گیاهان دارویی ایران است که برای اهداف مختلفی به ویژه درمان ناراحتی های گوارشی و تخفیف درد استفاده می شود. تاکنون هیچ گزارشی در زمینه اثر ضد ویروسی این گیاه وجود ندارد؛ لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد ویروسی عصاره متانولی گل های لعل کوهستان علیه ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه آزمایشگاهی عصاره متانولی پودر خشک شده گیاه به وسیله روش خیساندن به دست آمد. سپس حلال توسط دستگاه تقطیر در خلا تبخیر شد. سمیت سلولی و اثر ضد ویروسی به وسیله روش MTT بر رده سلولی Vero بررسی گردید. کشت سلولی قبل از عفونت، هنگام عفونت و بعد از عفونت با عصاره تیمار شد و اثر ضد ویروسی آن مورد بررسی قرار گرفت.

یافته های پژوهش: غلظتی از عصاره که توانست ۵۰ درصد سلول های Vero را از بین ببرد بالاتر از ۱۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد. هم چنین نتایج نشان دادند زمانی‌که عصاره و ویروس با هم مخلوط گردند بیشترین اثر ضد ویروسی(۴۳/۷۵ درصد) به دست می آید.

بحث و نتیجه گیری: عصاره متانولی مورد پژوهش در برابر HSV-1 اثر ضد ویروسی متوسطی را نشان داد.

واژه های کلیدی: خاصیت ضد ویروسی، ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک، رده سلولی Vero، لعل کوهستان

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

Email:roudbari@umz.ac.ir

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

مقدمه

ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک(HSV-1) از خانواده هرپس ویروس ها و یکی از شایع ترین ویروس های عفونت زا در انسان است(۲،۱). این ویروس عامل عفونت های متعددی مانند تبخال، فارنژیت، کراتیت و آنسفالیت در انسان بوده و از جمله عوامل مرگ و میر در انسان نیز محسوب می شود. تعدادی از آنزیم های این ویروس از جمله پلی مرازها می توانند به عنوان اهداف ضد ویروسی به کار روند(۴،۳). برخی از داروها مانند آسیکلوویر، مشابه های نوکلئوزیدی هستند که از تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک جلوگیری می کنند. با این وجود در سال های اخیر مقاومت به داروهای مذکور در حال افزایش بوده و اگر چه آسیکلوویر هنوز داروی موثر محسوب می شود اما عوارض جانبی آن از جمله پیدایش جهش یافته های ویروسی مقاوم به این دارو و نیز محدودیت در دوران شیردهی موارد مصرف آن را محدود ساخته است(۵). یکی از گام های مهم برای حل مشکلات فوق، گرایش جهانی برای به کار گیری عصاره های گیاهی است که دارای عوارض جانبی کم و هزینه پایین هستند(۶).

لعل کوهستان با نام علمی Oliveria decumbens Vent. گیاه یک ساله، کم و بیش راست، منشعب، ساقه به ارتفاع ۲۰ تا ۴۰ سانتی متر، پرشاخه، گلبرگ ها قرمز و از جمله گیاهان منطقه ایرانی تورانی می باشد. فصل میوه و گل دهی آن، اوایل بهار تا اوایل تابستان است و در ترکیه، عراق، سوریه و ایران می روید. این گونه در ایران در استان های کرمانشاه، چهار محال و بختیاری، فارس، خوزستان و بوشهر دیده شده است(۷). در زبان های محلی به این گیاه «دِن»، «دِنَک» و مُشکورَک می گویند(۸) و علاوه بر این در گویش محلی ایلام«نونه خدا»(۹) و در استان بوشهر به آن«اُوشه گل سرخو» نیز گفته می شود(۱۰).

در طب سنتی ایران از این گیاه در درمان سوء هاضمه، اسهال، دردهای شکمی و رفع تب استفاده می شود. در جنوب غرب ایران به صورت سنتی و بومی از جوشانده و دم کرده گیاه O.decumbens برای درمان دردهای شکمی و عفونت های داخلی استفاده می گردد(۱۱). ترکیبات شیمیایی لعل کوهستان عبارتند از: تیمول، کارواکرول، پاراسیمن، گاماترپنین(۸). تاکنون اثرات مختلف گیاه از جمله اثر حفاظتی عصاره لعل کوهستان در برابر مسمومیت کبدی در موش صحرایی(۱۲)، تاثیر ضد باکتریایی(۱۳)، اثر ضد بروسلوزی(۱۴)، اثر ضد قارچی گیاه لعل کوهستان(۱۵) و فواید سلامت بخش آن در فرآورده های لبنی پروبیوتیکی گزارش شده است(۱۶). از آن جا که تاکنون هیچ تحقیقی روی اثرات ضد ویروسی این گیاه صورت نگرفته بود، این پژوهش با هدف بررسی سمیت سلولی و اثر ضد ویروسی عصاره لعل کوهستان بر ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

عصاره گیری: در این پژوهش از گل های گیاه لعل کوهستان استفاده شد که از ارتفاعات منطقه پشت کوه واقع در استان بوشهر جمع آوری و در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر شناسایی و تائید گردید. پس از آن، گل ها زیر سایه خشک شدند و توسط آسیاب برقی به صورت پودر درآمدند. جهت تهیه عصاره گیاه مذکور از روش خیساندن استفاده شد. بدین صورت که ۲۰ گرم نمونه به نسبت ۱:۲۰ با حلال(آب، متانول ۸۰ درصد) مخلوط گردید و به مدت ۴۸ ساعت روی شیکر قرار داده شد. عصاره استخراج شده پس از صاف شدن به وسیله کاغذ واتمن، توسط دستگاه تقطیر در خلا در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد تغلیظ و در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک و وزن خشک عصاره تعیین شد و برای انجام آزمایش، محلول کاربردی با غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تهیه گردید.

سلول مورد مطالعه: در این پژوهش از رده سلولی Vero (سلول های اپی تلیال کلیه میمون سبز آفریقایی) که از انستیتوپاستور ایران خریداری شد، استفاده گردید. سلول های Vero در محیط کشت سلولی RPMI1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو به همراه آنتی بیوتیک های پنی سیلین و استرپتومایسین کشت داده شدند، سپس به منظور ایجاد

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

تک لایه سلولی در گرم خانه ۳۷ درجه سانتی گراد با دی اکسید کربن ۵ درصد، نگهداری گردیدند.

ویروس مورد استفاده: در این پژوهش از ویروس HSV-1، سویه KOS استفاده شد. این ویروس توسط سرکار خانم دکتر «آستانی» عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد اهداء گردید.

تعیین آستانه سمیت سلولی عصاره روی سلول های Vero: جهت تعیین سمیت عصاره لعل کوهستان بر سلول های Vero از روش نور سنجی با رنگ MTT و بررسی اثرات آسیب سلولی استفاده شد. در ابتدا به وسیله محلول کاربردی ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر، رقت های متوالی با غلظت های دو برابری ۵/۲۵، ۶۲/۳۱، ۱۲۵، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به وسیله محیط کشت تازه RPMI1640 تهیه شدند. سپس سوسپانسیون سلولی(به میزان ۶۰۰۰ سلول در هر چاهک) به هریک از چاهک ها اضافه گردید. میکروپلیت در گرم خانه با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و دی اکسید کربن ۵ درصد قرار داده شد پس از این که تک لایه سلولی نمایان گردید، محیط کشت قدیمی موجود در چاهک های پلیت تخلیه و غلظت های مختلف از عصاره گیاهی با حجم نهایی ۲۰۰ میکرولیتر در چاهک ها و در مجاورت سلول ها قرار داده شدند. برای هر غلظت دو چاهک در نظر گرفته شد(۱۷) و هم چنین در دو چاهک به عنوان کنترل سلول؛ تنها محیط کشت همراه با سرم؛ اضافه گردید. بدین ترتیب سلول ها در مجاورت غلظت های مختلف عصاره به مدت ۷۲ ساعت با شرایط مذکور تحت تیمار قرار گرفتند. پس از سپری شدن زمان لازم، ریخت شناسی سلول ها و اثر سمیت عصاره گیاه به صورت CPE از دید میکروسکوپی بررسی گردید. در مرحله بعد سلول ها به وسیله بافر فسفات استریل شست و شو داده شدند. سپس ۴۸ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی گرم در میلی لیتر به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۳ ساعت در گرم خانه با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از آن، چاهک ها با محلول ایزوپروپانول به خوبی مخلوط شدند. در پایان جذب نوری پلیت آماده شده، در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر خوانده شد.

نتایج به صورت درصد مهار از طریق فرمول زیر محاسبه گردید(۱۸).

$$Inhibition\ (\%) = \left(\ 100 - \frac{At}{As}\ \right) \times 100$$

Inhibition: درصد مهار

At: جذب نوری نمونه مورد مطالعه

As: جذب نوری نمونه کنترل

غلظتی از عصاره که موجب مرگ ۵۰ درصد سلول های Vero شود، CC50 آن عصاره اطلاق می گردد. این مقدار با استفاده از منحنی رگرسیون خطی تعیین شد.

تعیین عیار ویروس HSV-1 با روش TCID50: ویروس HSV-1 به منظور تهیه بذر ویروسی مناسب، در محیط کشت سلولی Vero تکثیر گردید و سپس با استفاده از عملیات خاص فریز، ذوب، سانتریفیوژ تغلیظ شد و عیار ویروس تلقیح شده، توسط روش TCID50 تعیین گردید(۱۹). در این روش، سلول های Vero در میکروپلیت ۹۶ خانه و در محیط کشت کامل(حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو و آنتی بیوتیک) کشت داده شدند. سپس میکروپلیت به گرم خانه ۳۷ درجه سانتی گراد با CO2%۵ منتقل شد تا تک لایه سلولی تشکیل شود. به دنبال آن رقت های لگاریتمی از سوسپانسیون ویروسی با فواصل یک لگاریتم (10^{-1}، 10^{-2} تا 10^{-6}) در محیط کشت فاقد سرم تهیه شد. در ادامه، از هر رقت تهیه شده ویروسی به ۴ چاهک از ردیف های مختلف درون میکروپلیت(۹۶ خانه) تلقیح شد. در هر میکروپلیت چاهک هایی بدون تلقیح ویروس به عنوان کنترل سلول و چاهک هایی با تلقیح ویروس رقیق نشده به عنوان کنترل ویروس در نظر گرفته شدند. میکروپلیت حاوی سلول های تلقیح شده با ویروس، روزانه از نظر بروز اثرات آسیب سلولی مورد بررسی قرار گرفت. قرائت نتایج تا ۷۲ ساعت پس از تلقیح ویروس ادامه یافت. رقتی از سوسپانسیون ویروسی که آلوده کننده ۵۰ درصد از سلول های سالم Vero بود به عنوان نقطه پایان آزمایش TCID50 در نظر گرفته شد و برای تعیین عیار ویروس HSV-1 از فرمول کربر (Karber) استفاده شد(۱۹).

$$\boldsymbol{Log\ TCID50\ =\ L - d\ (S - 0.5)}$$

L: لگاریتم کمترین رقت

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

d: اختلاف لگاریتم های مربوط به میزان رقت های متوالی تهیه شده

S: جمع نسبت چاهک های مثبت به کل چاهک های تهیه شده برای هر رقت

بررسی اثر ضد ویروسی عصاره: برای بررسی اثر ضد ویروسی عصاره لعل کوهستان از روش MTT استفاده شد(۲۰). پس از تکثیر سلول ها و تشکیل تک لایه سلولی، غلظت های مختلف عصاره لعل کوهستان (۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) در سه مرحله(قبل، هنگام و بعد از عفونت) به چاهک ها تلقیح شدند که در ذیل با تفصیل بیشتری شرح داده می شود(۲۱).

۱. تیمار ویروس HSV-1 با عصاره متانولی لعل کوهستان پیش از آلوده نمودن سلول های Vero با ویروس(هم زمان با عفونت): در ابتدا غلظت های مختلف عصاره، در محدوده ای که برای سلول سمی نبود به همراه ویروس HSV-1 با عیار TCID50 ۱۰۰، به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد تحت تیمار قرار گرفتند. در ادامه مخلوط عصاره و ویروس فوق الذکر به هر چاهک اضافه گردید و میکروپلیت آماده شده در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در گرم خانه قرار داده شد.

۲. تیمار سلول های Vero با عصاره متانولی لعل کوهستان پیش از آلوده نمودن سلول های Vero با ویروس HSV-1 (قبل از عفونت): در ابتدا غلظت های مختلف عصاره(۳۱/۲۵ تا ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) به میکروپلیت ۹۶ خانه حاوی تک لایه سلولی Vero که از قبل تهیه شده بود، اضافه گردید. میکروپلیت به مدت ۲ ساعت در گرم خانه با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. سپس ویروس HSV-1 با عیار ۱۰۰TCID50 به سلول ها اضافه شد. میکروپلیت مجدداً به مدت ۲ ساعت در گرم خانه با دمای ۳۷ درجه نگهداری گردید.

۳. تیمار سلول های Vero با عصاره متانولی لعل کوهستان پس از آلوده نمودن سلول های Vero با ویروس HSV-1(بعد از عفونت): نخست سلول های Vero در میکروپلیت ۹۶ خانه کشت داده شدند. پس از این که تک لایه کاملی از سلول ها پدیدار شد، ویروس HSV-1 با عیار ۱۰۰TCID50 به آن اضافه گردید. پس از گذشت ۲ ساعت و جذب ویروس به درون سلول ها، غلظت های مختلف عصاره (۳۱/۲۵-۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) به سلول ها اضافه شد و در پایان میکروپلیت آماده شده در گرم خانه با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

در این آزمایش، برای هر غلظت عصاره دو چاهک در نظر گرفته شد. هم چنین دو چاهک برای هر یک از کنترل های سلول، ویروس و عصاره طراحی گردید که در ذیل توصیف می شود.

-دو چاهک به عنوان کنترل سلول؛ حاوی تک لایه سلول و محیط کشت

-دو چاهک به عنوان کنترل ویروس؛ حاوی تک لایه سلول، ۱۰۰TCID50 ویروس و محیط کشت

-دو چاهک به عنوان کنترل عصاره؛ حاوی تک لایه سلول، بالاترین غلظت غیر سمی عصاره و محیط کشت

میکروپلیت در زمان ۲۴ ساعت با استفاده از روش MTT مورد بررسی قرار گرفت و درصد مهار مطابق با فرمول زیر محاسبه گردید(۲۳،۲۲).

$$\text{درصد مهار} = (A - B)/(C - B) \times 100$$

A: جذب نوری نمونه های تست شده

B: جذب نوری کنترل ویروس

C: جذب نوری کنترل سلول

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از اندازه تکرار و انوا و برای رسم نمودارها از نرم افزارهای Excel نسخه ۲۰۱۰ و SPSS نسخه ۱۶ استفاده گردید.

یافته های پژوهش

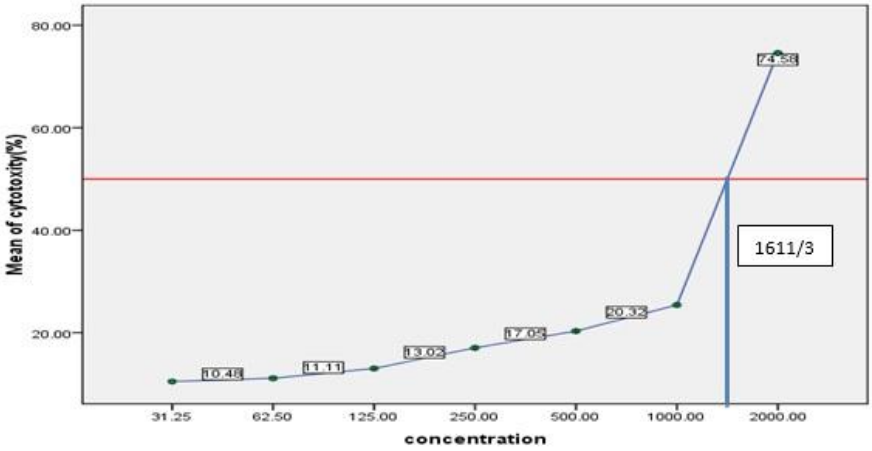
عصاره گیری: از جمله مشخصات عصاره گل های لعل کوهستان حاصل شده می توان به رنگ قهوه ای تیره و بوی نافذ و مشخص آن اشاره کرد و هم چنین در محاسبه وزن عصاره خشک، مقدار تقریبی ۷ گرم عصاره خشک به دست آمد.

سمیت سلولی: در این مطالعه اثر سمیت سلولی غلظت های مختلف عصاره متانولی گل های لعل کوهستان(۲۰۰۰-۳۱/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر) روی سلول های Vero با استفاده از روش MTT بررسی و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

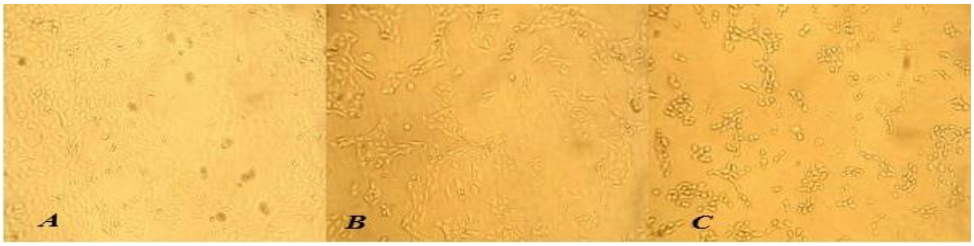
[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

جهت به دست آمدن غلظتی از عصاره که موجب مرگ ۵۰ درصد سلول ها می گردد(CC50) نمودار رگرسیونی ترسیم شد(نمودار شماره ۱). همان طور که در نمودار شماره ۱ دیده می شود CC50 برای عصاره مذکور، ۱۶۱۱/۳ میکروگرم در میلی لیتر به دست آمد.



نمودار شماره ۱. تعیین سمیت سلولی غلظت های مختلف عصاره متانولی لعل کوهستان بر میزان ۶۰۰۰ سلول Vero در هر چاهک پس از ۷۲ ساعت. هر نقطه روی نمودار بیانگر میانگین ۲ مرتبه آزمون است.

بررسی اثرات آسیب سلولی ناشی از سمیت عصاره گیاه لعل کوهستان بر سلول Vero: در شکل شماره ۱ تغییرات ریخت شناسی سلول ها ناشی از اثرات آسیب سلولی عصاره گیاه لعل کوهستان پس از ۷۲ ساعت بر ۶۰۰۰ سلول Vero در هر چاهک نشان داده شده است. همان طور که در شکل شماره ۱ ملاحظه می شود با افزایش غلظت عصاره، سلول ها گردتر و پراکنده تر شدند که بیانگر سمیت و به تبع آن اثرات آسیب سلولی بیشتری است.



شکل شماره ۱. تصویر میکروسکوپی مقایسه تک لایه سلول Vero پس از ۷۲ ساعت تیمار با عصاره متانولی لعل کوهستان
A: تک لایه سلول Vero بدون تیمار با عصاره لعل کوهستان
B: سلول های Vero در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره متانولی لعل کوهستان
C: سلول های Vero در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره متانولی لعل کوهستان

تعیین عیار ویروس با استفاده از روش TCID50: همان طور که ذکر شد برای تعیین عیار ویروس از روش TCID50 استفاده شد و بر اساس جدول شماره ۱ و با استفاده از فرمول Karber تعداد کل ویروس موجود در نمونه محاسبه شد.

فرمول Karber : = L–d (S–0.5)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

جدول شماره ۱. تعیین عیار ویروس HSV-1

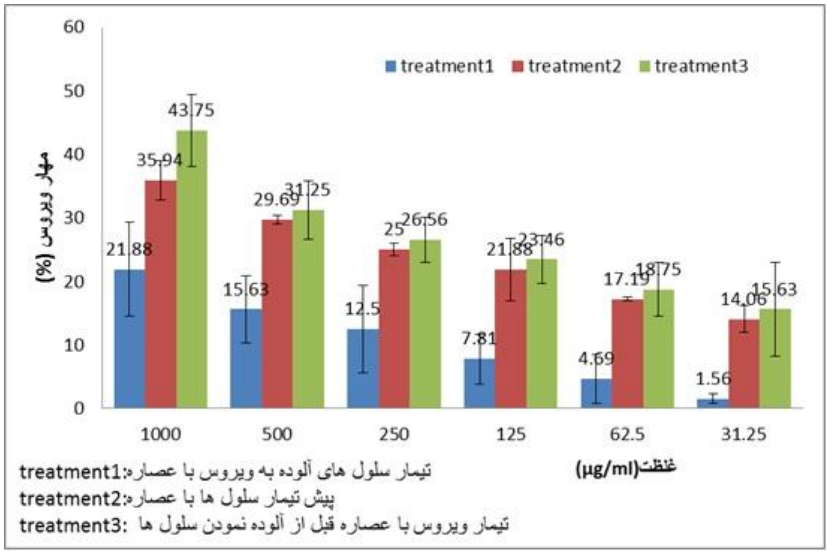
رقت ویروسی	$۱۰^{-۱}$	$۱۰^{-۲}$	$۱۰^{-۳}$	$۱۰^{-۴}$	$۱۰^{-۵}$	$۱۰^{-۶}$
عفونی شده	۴	۳	۲	۲	۱	۰
تلقیح شده	۴	۴	۴	۴	۴	۴
عفونی شده/تلقیح شده	۱	۰/۷۵	۰/۵	۰/۵	۰/۲۵	۰

در این پژوهش عیار ویروس HSV-1 کشت داده شده در سلول Vero، TCID50/ml $۱۰^{۴/۵}$ تعیین شد.

اثر ضد ویروسی عصاره: در این پژوهش، اثر ضد ویروسی غلظت های مختلف عصاره لعل کوهستان روی ویروس HSV-1 به روش MTT در میکروپلیت ۹۶ خانه بررسی شد و درصد مهار ویروس در سه مرحله پیش تیمار سلول ها با عصاره لعل کوهستان، تیمار مستقیم ویروس با عصاره قبل از آلوده نمودن با ویروس، تیمار سلول ها با عصاره پس از آلوده نمودن سلول ها با ویروس انجام گرفت.

نمودار شماره ۲ مربوط به میانگین های درصد مهار ویروس به تفکیک غلظت و مرحله(تیمار ۱، تیمار سلول های آلوده به ویروس با عصاره، تیمار ۲ پیش تیمار سلول ها با عصاره، تیمار ۳ تیمار ویروس با عصاره) و در زمان ۲۴ ساعت می باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین اثر ضد ویروسی از نظر درصد مهار ویروس HSV-1، در بالاترین غلظت غیر سمی عصاره لعل کوهستان یعنی غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به میزان ۴۳/۷۵±۵/۶ دیده شد(نمودار شماره ۲). بر همین اساس بیشترین اثر ضد ویروسی از نظر زمان افزودن عصاره به ترتیب در مراحل تیمار مستقیم ویروس با عصاره قبل از آلوده نمودن با ویروس(هم زمان با عفونت)، پیش تیمار سلول ها با عصاره لعل کوهستان (قبل از عفونت)، تیمار سلول ها با عصاره پس از آلوده نمودن سلول ها با ویروس(بعد از عفونت) و پس از گذشت زمان ۲۴ ساعت پس از آلوده شدن با ویروس دیده شد(نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲. مقایسه تیمارهای مختلف عصاره لعل کوهستان با ویروس HSV-1 در غلظت های مختلف پس از ۲۴ ساعت

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

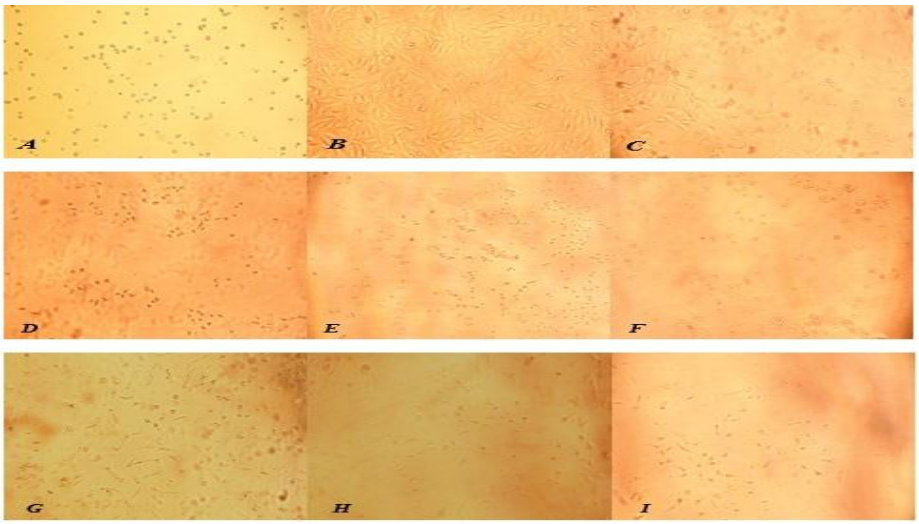
[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

نتیجه آنالیز آماری: آنالیز آنووا جهت مقایسه ۶ گروه غلظت برای درصد مهار ویروس پس از ۲۴ ساعت صورت گرفت و بر اساس تست دانکن، میانگین درصد مهار ویروسی در غلظت ۱۰۰۰ با میانگین درصد مهار ویروسی در غلظت های ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر در سطح ۵ درصد خطا دارای تفاوت معنی دار بود.

برای مقایسه متوسط درصد مهار ویروس برای غلظت های متفاوت از اندازه تکرار استفاده شد. نتایج نشان داد متوسط درصد مهار ویروس در هر سه مرحله با هم برابر نیست و هر سه مرحله در سطح خطای ۵ درصد معنی دار است($P<0.05$).

جهت مقایسه همبستگی بین متغیر I(متوسط درصد مهار ویروس) و غلظت از همبستگی پیرسون استفاده شد. نتایج به دست آمده نشان داد بین مقدار I و غلظت همبستگی وجود دارد و در سطح ۰/۰۱ معنی دار است($P <0.01$).

اثرات ضد ویروسی عصاره گیاهی لعل کوهستان بر ویروس HSV-1: در شکل شماره ۲ بررسی اثر عصاره بر ویروس دیده می شود. سلول های آلوده به HSV-1 بدون تیمار با عصاره لعل کوهستان به صورت کاملاً گرد دیده می شوند(شکل شماره ۲A). سلول های سالم بدون تیمار با عصاره و ویروس به صورت تک لایه سلول دیده می شوند(شکل شماره ۲B). سلول های تیمار شده با مخلوط غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره لعل کوهستان و HSV-1 ریخت ظاهری خود را کاملاً از دست نداده اند و دوکی شکل هستند که نشان دهنده اثر ضد ویروسی عصاره می باشد(شکل شماره ۲C) و سلول های تیمار شده در این غلظت نسبت به سلول های تیمار شده در سایر غلظت ها شباهت بیشتری به سلول های سالم دارند.



شکل شماره ۲. مقایسه اثر ضد ویروسی عصاره لعل کوهستان بر ویروس HSV-1 پس از ۲۴ ساعت

A: سلول های Vero آلوده به ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک بدون تیمار با عصاره لعل کوهستان

B: سلول های سالم Vero بدون تیمار با HSV-1 و عصاره لعل کوهستان

C: سلول های Vero تیمار شده با مخلوط HSV-1 و غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره متانولی لعل کوهستان

D: سلول های Vero پیش تیمار شده با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره متانولی لعل کوهستان

E: سلول های Vero پیش تیمار شده با غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره متانولی لعل کوهستان

F: سلول های Vero پیش تیمار شده با غلظت ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره متانولی لعل کوهستان

G: سلول های آلوده Vero تیمارشده با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره متانولی لعل کوهستان

H: سلول های آلوده Vero تیمارشده با غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره متانولی لعل کوهستان

I: سلول های آلوده Vero تیمارشده با غلظت ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره متانولی لعل کوهستان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

بحث و نتیجه گیری

ویروس HSV-1 یکی از شایع ترین ویروس های عفونت زا در انسان است و این در حالی است که در سال های اخیر مقاومت به داروهای ضد هرپسی مانند آسیکلوویر در حال افزایش است، از این رو به کار گیری عصاره های گیاهی که دارای عوارض جانبی کم و هزینه پایین هستند گرایش جهانی یافته است(۶). نکته حائز اهمیت در مورد این پژوهش این است که برای اولین بار اثر ضد ویروسی عصاره متانولی گل های لعل کوهستان مورد ارزیابی قرار گرفت.

عصاره گیری گیاه به روش خیساندن، توسط متانول ۸۰ درصد انجام شد. افزودن آب به حلال های آلی با تشکیل یک محیط نسبتاً قطبی همراه بوده و بنا بر این از استخراج مقادیر بیشتری از ترکیبات فنولی در این شرایط اطمینان حاصل می گردد(۲۴).

در این پژوهش از تک لایه سلولی Vero به عنوان سلول میزبان استفاده شد چرا که مطابق مطالعات بورگز و همکاران، بررسی پاسخ سلول های Vero نسبت به رنگ MTT می تواند جهت مطالعات سمیت به کار رود(۲۵) و علاوه بر این گزارش های متعددی در زمینه استفاده از این رده سلولی جهت تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک وجود دارد(۲۶،۲۱).

جهت بررسی رشد و زنده ماندن سلول ها و تعیین آستانه سمیت سلولی، روش های مختلف از جمله شمارش مستقیم سلول های زنده با استفاده از لام نئوبار در زیر میکروسکوپ و روش های رنگ سنجی معرفی شده است. در مقایسه با روش مستقیم که یک روش غیر دقیق، دشوار و غیر قابل اعتماد محسوب می شود، واکنش رنگ سنجی بر اساس احیای نمک تترازولیوم(MTT) دارای مزایای زیادی است که می توان به آسان، کم هزینه، حساس، قابل اعتماد و تکرار پذیر بودن آن اشاره کرد و هم چنین به دلیل عدم استفاده از مواد رادیو ایزوتروپ، ایمن و مطمئن می باشد(۲۷).

هر چند در سال های اخیر مطالعات زیادی در زمینه فعالیت ضد ویروسی گیاهان مختلف انجام شده است اما تاکنون مطالعه ای در زمینه فعالیت ضد ویروسی گیاه لعل کوهستان صورت نگرفته است در حالی که اثرات دارویی این گیاه از جمله اثر ضد باکتری و ضد قارچی توسط محققین در مطالعات مختلف گزارش شده است.

چندین تکنیک مختلف به منظور ارزیابی اثر ضد ویروسی به کار می رود که مبتنی بر، بررسی اثرات آسیب سلولی یا سنجش بقای سلول ها هستند؛ با این وجود در این زمینه، نوعی روش کار یکسان و مورد توافق محققان، وجود ندارد. همان طور که ذکر شد؛ رنگ سنجی با استفاده از روش MTT assay بر اساس احیای رنگ تترازولیوم، بقای سلول های زنده را مورد سنجش قرار داده و جهت ارزیابی اثر ضد ویروسی در برابر ویروس های مختلف به کار می رود. بر اساس مطالعات انجام شده در خصوص مقایسه نتایج حاصل از روش کاهش پلاک و MTT assay برای آدنوویروس و ویروس هرپس سیمپلکس انسانی نوع یک، تفاوت معنی دار و قابل توجهی دیده نشد(۲۰،۲۸) لذا در این پژوهش نیز جهت ارزیابی اثر ضد ویروسی عصاره متانولی لعل کوهستان در مهار ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک از روش MTT assay استفاده گردید.

در مطالعه حاضر، اثر ضد ویروسی غلظت های مختلف عصاره لعل کوهستان روی ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک بررسی شد و درصد مهار ویروس در سه مرحله که عبارت بودند از: پیش تیمار سلول ها با عصاره قبل از آلوده نمودن با ویروس، تیمار سلول ها با عصاره قبل از آلوده نمودن با ویروس، تیمار سلول ها با عصاره پس از آلوده نمودن سلول ها با ویروس، تعیین شد. نتایج این پژوهش نشان داد که موثرترین زمان اثر عصاره هنگامی است که ویروس با غلظت های مختلف عصاره به مدت ۲ ساعت قبل از آلوده نمودن سلول ها، گرم خانه گذاری گردد. تاثیر پیش تیمار سلول های Vero با عصاره متانولی کمی پایین تر از، مرحله تیمار ویروس با عصاره لعل کوهستان بوده است و این نتیجه احتمالاً بیانگر تاثیر عصاره بر سلول و تغییر گیرنده های ویروس در سطح سلول می باشد؛ به صورتی که با پوشاندن گیرنده های سطح سلول و یا تغییر ساختار آن ها قادر به کاهش میزان اتصال ویروس به سطح سلول گردیده است. البته

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

برای مشخص شدن مکانیسم دقیق این مرحله، نیازمند پژوهش های بیشتر در این زمینه می باشد. کمترین تاثیر عصاره، پس از جذب ویروس به سلول بوده است.

در مطالعه ای که توسط لای و همکاران در سال ۲۰۱۲ و در کشور تایوان انجام شد یافته ها حاکی از این بود که تیمول و کارواکرول، هر دو فعالیت ضد ویروسی قابل توجهی داشتند و ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک را در مدت یک ساعت تقریباً ۹۰ درصد غیر فعال می کردند. مطابق با گزارش آن ها، این اثر مهاری احتمالاً ناشی از واکنش مستقیم بین ترکیبات و ویروس بود. هم چنین در پژوهش آن ها بررسی مکانیسم عمل این ترکیبات توسط میکروسکوپ الکترونی مورد بررسی قرار گرفت و اثر مستقیم بر ویریون را آشکار کرد. نتایج نشان داد که درصد بالایی از ذرات ویروسی که با ترکیبات تیمول و کارواکرول تیمار نشده بودند پوشش سالم و دست نخورده ای داشتند و در مقابل بخش قابل توجهی از ویریون ها بعد از تیمار با این ترکیبات مورد آسیب قرار گرفته بودند(۲۶).

با توجه به نتایج یافته های مطالعه لای و همکاران، از آن جایی که تیمول و کارواکرول از ترکیبات اصلی گیاه لعل کوهستان محسوب می شوند شاید بتوان تاثیر مستقیم عصاره متانولی لعل کوهستان بر ویروس را به مواد موثره موجود در آن نسبت داد که موجب تخریب پوشش این ویروس شده و بدین ترتیب مانع ورود ویروس به سلول می شود. در زیر جزئیات بیشتری از کارهای محققان دیگر در این راستا آورده شده است .

در مطالعه آستانی و همکاران در سال ۲۰۱۰، اسانس های گیاهان آویشن، چای سبز، اکالیپتوس و هم چنین ترکیب های اصلی تشکیل دهنده آن ها از جمله تیمول، گاماترپنین، پاراسیمن در برابر هرپس سیمپلکس نوع یک بررسی شدند نتایج بیانگر این بود که مونوترپن های مورد مطالعه تقریباً بالای ۸۰ درصد توانستند ویروس را مهار کنند. به دنبال آن در مطالعه مکانیسم عمل ضد ویروسی آشکار شد که افزودن مونوترپن ها قبل از عفونت با سلول های میزبان و هم چنین پس از جذب ویروس به سلول ها اثر متوسطی را در مهار ویروسی نشان داد در حالی که هر دو ترکیب- مونوترپن و اسانس های مورد مطالعه- به طور مستقیم در غیر فعال کردن ویریون های آزاد ویروسی اثر بالایی نشان دادند و هم چنین مونوترپن های هیدروکربنی در مقایسه با مونوترپن های الکلی اثر نسبتاً بهتری در مهار ویروس داشتند(۲۹).

پژوهش دیگری توسط اورهان و همکاران و در کشور ترکیه صورت گرفت که در آن خاصیت ضد ویروسی اسانس های گیاهان خانواده نعناعیان و چتریان و هم چنین بسیاری از ترکیبات اصلی تشکیل دهنده آن ها از جمله تیمول، کارواکرول و گاماترپنین در برابر هرپس سیمپلکس نوع یک به روش TCID50 مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس نتایج آنان، ترکیب های تیمول، کارواکرول و گاما- ترپنین اثر ضد ویروسی بهتری نسبت به کنترل مثبت آسیکلوویر نشان دادند. هم چنین هر سه ترکیب دارای سمیت یکسان روی سلول های Vero بودند و در مقایسه با کنترل مثبت آسیکلوویر، سمیت کمتر و یا یکسانی داشتند(۳۰).

در سال های اخیر مطالعات متعددی در ارتباط با خواص ضد ویروسی گیاهان دارویی مختلف در ایران صورت گرفته است که در آن ها اثر عصاره بر مراحل مختلف تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس نوع یک مورد ارزیابی قرار گرفته است. در زیر به نتایج برخی از این مطالعات اشاره می شود:

در مطالعه ای که صبوری قناد و همکاران روی خاصیت ضد هرپسی عصاره متانولی ریشه های گیاه شیرین بیان انجام دادند نتایج افزودن عصاره در مراحل مختلف(پیش تیمار سلول ها با عصاره، تیمار مستقیم ویروس با عصاره و تیمار سلول ها با عصاره پس از آلوده نمودن سلول ها با ویروس) نشان داد که پیش تیمار ویروس ها با عصاره متانولی شیرین بیان به میزان دو لگاریتم و نیز پیش تیمار سلول ها با عصاره قبل از آلوده نمودن آن ها با ویروس به میزان یک لگاریتم، میزان TCID50 ویروس HSV-1 را در مقایسه با کنترل، کاهش داد که با یافته های این پژوهش در زمینه تاثیر مراحل مطابقت دارد(۲۷). در پژوهشی دیگر نتایج اثرات ضد ویروسی عصاره آبی و الکلی سیر بر HSV-1 نشان داد اثرات ضد ویروسی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

این عصاره احتمالاً از طریق بلوک کردن اتصال ویروس به سلول یا مداخله در عمل جذب ویروس بوده است. نتایج تاثیر مراحل مختلف در مطالعه حاضر با این پژوهش نیز هم خوانی داشت(۲۸).

در نتایج اثر ضد ویروسی عصاره گیاهی مرزنجوش روی همانندسازی و تکثیر این ویروس مشاهده گردید که بیشترین اثر عصاره پس از جذب ویروس توسط سلول و در مرحله اثر غیر مستقیم بوده است که با یافته های حاضر مطابقت ندارد(۲۹). در پژوهشی دیگر که توسط کریمی و همکاران انجام شد اثر ممانعت کنندگی عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس بر تکثیر ویروس HSV-1 در دو مرحله جلوگیری از اتصال و تکثیر بعد از اتصال ارزیابی شد و نتایج آنان نشان داد که موثرترین زمان عصاره بعد از اتصال ویروس به سلول بود که یافته های این پژوهش نیز با مطالعه حاضر هم خوانی نداشت(۳۰). در مطالعه دیگری که مرادی و همکاران روی گیاه «مورد» انجام دادند نتایج نشان داد که این گیاه اثر ضد ویروسی قابل توجهی دارد و احتمالاً مناسب ترین زمان اثر آن پس از جذب ویروس توسط سلول ها بوده است(۳۰). این تفاوت هایی که نتایج پژوهش های مذکور با پژوهش حاضر نشان دادند احتمالاً به دلیل تفاوت در نوع عصاره و نوع ترکیبات موثر موجود در این عصاره ها بوده است.

بر اساس شواهد، ارتباط مستقیمی بین میزان ترکیبات فنولی و خاصیت ضد ویروسی گیاهان وجود دارد بدین جهت می توان تاثیر ضد ویروسی متوسط عصاره را به میزان پودر خشک شده گیاه لعل کوهستان که از آن عصاره گیری به عمل آمد، نسبت داد و یا شرایط اکولوژیکی را در این امر دخیل دانست.

گیاه لعل کوهستان از جمله گیاهان دارویی بومی ایران بوده که به نظر می رسد به سبب حضور متابولیت های ثانویه مهم شامل اسانس و فنیل پروپانوئیدها دارای خواص گیاهی و درمانی باشد. عصاره ای که در این پژوهش بررسی گردید اثر ضد ویروسی متوسطی داشت. از آن جایی که هر چه CC50 یک دارو میزان بالایی باشد و IC50 آن (غلظتی از دارو که مانع مرگ ۵۰ درصد سلول ها توسط ویروس می شود) میزان پایینی را دارا باشد، به عنوان کاندید دارویی به حساب می آید؛ به نظر می رسد عصاره متانولی لعل کوهستان و مواد موثره موجود در آن، به دلیل داشتن این ویژگی، قابلیت این که کاندید دارویی مناسب باشد را دارا است. البته باید به این نکته نیز اشاره کرد که از جمله عوامل موثر بر رشد و نمو، تولید مواد موثره گیاهان دارویی و معطر، آب است و کمبود آن بیشتر از سایرعوامل بر کیفیت گیاهان دارویی اثر می گذارد(۳۰) و علی رغم این که این پژوهش در سالی انجام شده که کشور ما دچار بحران کم آبی بوده، نتایج نسبتاً مطلوبی در این آزمایش به دست آمد. اما همان طور که ذکر شد برای مشخص شدن تمام اثرات دارویی این گیاه، نیاز به پژوهش ها و آزمایشات بیشتری است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از جناب آقای دکتر محسن آسوری رئیس محترم پژوهشکده شمال کشور انستیتوپاستور ایران و نیز جناب آقای دکتر علی اصغر احمدی جهت فراهم آوردن امکانات لازم برای انجام این تحقیق و هم چنین از مسئولان محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر جهت شناسایی گیاه مذکور و سر کار خانم دکتر اکرم آستانی عضو محترم هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی یزد که ویروس به کار برده شده در این تحقیق را به صورت هدیه ارسال نمودند، صمیمانه تشکر می گردد.

References

1. Khan MT, Ather A, Thompson KD, Gambari R. Extracts and molecules from medicinal plants against herpes simplex viruses. Antiviral Res2005; 67:107-19. Doi:10.1016/j.antiviral.2005.05.002.

2. De Clercq E. Antiviral drugs in current clinical use. J Clin Virol2004; 30:115-33. Doi: 10.1016/j.jcv.2004.02.009

3. Moradi MT, Karimi A, Rafieian M, Kheiri S, Saedi M. [The inhibitory effects of myrtle (Myrtus communis) extract on Herpes simplex virus-1 replication in Baby Hamster Kidney cells]. J Shahrekord Med Sci2011; 12:54-61. (Persian)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

4. Che CT. Plants as a source of potential antiviral agents. Econ Med Plant Res1991;5:167-251.
5. Mozaffarian V. [The family of umbelliferae in Iran]. Res Inst for Rangel Tehran 2007; 2:312-3. (Persian)
6.Mahboubi M, Feyzabadi M, Haghi G, Hosseini H. [Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil from Oliveria decumbens vent]. Iranian J Med Arom Plants2008; 24:56-65. (Persian)
7. Bahmani M, Avijgan M, Hossaini SR, Najafzadehvarizi H, Bahmani E, Mehrzadi S. [Traditional application of medicinal plants in southern area of Ilam province for treatment diseases and clinical syndromes in small ruminants]. J Herb Drugs2010; 1:49-57. (Persian)
8. Sartavi K, Gholamian F. [Medicinal Plants of Bushehr Province]. Iranian J Med Arom Plants Res2004; 20:213-27.(Persian)
9. Rahimi Kazerouni S, Mokhtari M, Shariati M, Rahimi Kazerooni M. [Hepatoprotective effect of hydro-alcoholic extract of Oliveria decumbens against hepatotoxicity induced by cadmium chloride in adult male Rat]. Med Sci J Islamic Azad UniTehran Branch 2015; 25:105-11. (Persian)
10. Motamedi H, Darabpour E, Gholipour M, Seyyednejad SM. Antibacterial effect of ethanolic and methanolic extracts of Plantago ovata and Oliveria decumbens endemic in Iran against some pathogenic bacteria. Int J Pharmacol 2010; 6:117-22.
11. Motamedi H, Darabpour E, Gholipour, Seyyednejad SM. Invitro assay for the anti-Brucella activity of medicinal plants against Tetracycline resistant Brucella melitensis. J Zhejiang Uni Sci2010; 11: 506-511.
12.Mahboubi M, Feizabadi MM. Antifungal activity of essential oil from Oliveria decumbens Vent and its synergy with amphotricin B. Int J Essen Oil Therap2008;2:26-8.
13.Ehsandoost E, Gholami SP, Nazemi M. Effect of denak Oliveria decumbens vent on growth and survival of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum for production of probiotic herbal milk and yoghurt. Pakistan J Biol Sci2013; 16:2009-14. Doi: 10.3923/pjbs.2013.2009.2014
14. Vijayarathna S, Sasidharan S. Cytotoxicity of methanol extracts of Elaeis guineensis on MCF-7 and Vero cell lines. Asian PacJ Trop Biomed2012; 2:826-9.Doi: 10.1016/S2221-1691(12)60237-8
15. Chiang LC, Chiang W, Chang MY, Ng LT, Lin CC. Antiviral activity of Plantago major extracts and related compounds in vitro. Antiviral Res2002; 55:53-62 .doi:10.1016/s0166-3542(02)00007-4.
16. Finney DJ. The Spearman karber method. Stat Meth Biolo Assay1964:524-30.
17. Pilau MR, Alves SH, Weiblen R, Arenhart S, Cueto AP, Lovato LT. Antiviral activity of the Lippia graveolens essential oil and its main compound carvacrol against human and animal viruses. Brazilian J Microbiol2011; 42:1616-24.
18. Li Z, Liu J, Zhao Y. Possible mechanism underlying the antiherpetic activity of a proteoglycan isolated from the mycelia of Ganoderma lucidum in vitro. BMB Rep 2005; 38:34-40. Doi: 10.5483/bmbrep.2005.38.1.034
19. Silva AC, Kratz JM, Farias FM, Henriques AT, Santos J, Leonel RM, et al. In vitro antiviral activity of marine sponges collected off Brazilian coast. Biol Pharm Bull2006; 29:135-40.
20. Ghaderi Ghahfarokhi M, Sadeghi Mahoonak AR, Alami M, Ghorbani M, Azizi MH. [Determmination of antiradical activity reducing power and total antioxidant activity of phenolic extracts of acorn fruit Q. branti ver persica]. J Food Res2011; 21:93-104. (Persian)
21. Borges GD, Gonzaga LV, Jardini FA, Mancinifilho J, Heller M, Micke G, et al. Protective effect of Euterpe edulis M. on vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC− ESI-MS/MS. Food Res Int 2013;51:363-9.Doi: 10.1016/j.foodres.2012.12.035
22. Lai WL, Chuang HS, Lee MH, Wei CL, Lin CF, Tsai YC. Inhibition of herpes simplex virus type 1 by thymol related monoterpenoids. Planta Med2012; 78:1636-8. Doi: 10.1055/s-0032-1315208
23. Chapdelaine J. MTT reduction-a tetrazolium based colorimetric assay for cell survival and proliferation. Pharm Res Int2010:1-6.
24. Chen CH, Chou TW, Cheng LH, Ho CW. Invitro anti adenoviral activity of five Allium plants. J Taiwan Ins Chem

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

Engin2011; 42:228-32.Doi: 10.1016/j.jtice.2010.07.011
25. Astani A, Reichling J, Schnitzler P. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. Phytotherap Res2010; 24:673-9.Doi: 10.1002/ptr.2955
26. Orhan IE, Ozcelik B, Kartal M, Kan Y. Antimicrobial and antiviral effects of essential oils from selected Umbelliferae and Labiatae plants and individual essential oil components. Turkish J Biol2012; 36:239-46. Doi: 10.3906/biy-0912-30
27. Sabouri GM, Mohammadi A, Safiallahy S, Faradmal J. [The evaluation of methanolic extract of glycyrrhiza glabra effect on the replication of herpes simplex virus type 1 in vero cell line]. Sci J Hamadan Uni Med Sci2014; 20:325-32. (Persian)
28. Razavi SM, Azizolahi B, Rahimi H. [An investigation on antiviral effect of Garlic extract on herpes simplex virus via cell culture]. J Dent Sch Shahid Beheshti Uni Med Sci2006;24: 34-9.(Persian)
29. Zehtabian SH, Shamsshahrabadi M. [The antiviral effects of botany extract from marjoram on proliferation and replication herpes simplex virus type I]. Sci J Ilam Med Uni2008; 16:28-35. (Persian)
30. Karimi A, Moradi MT, Saedi M, Salimzadeh L, Rafieian M. [The inhibitory effects of eucalyptus extract on herpes simplex virus-1 replication in baby hamster kidney cells]. Qom Uni Med Sci J2012; 6:3-8. (Persian)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]

Antiviral Effects of Oliveria decumbens Vent. Extract against Herpes Simplex Virus Type 1

Dashtimakan E [1], Roodbari F [1], Mohajerani M[1], Mahmoudiotaghvari A [2], Kavoosian S[3], Zahedi Z[4], Hasanzadeh N[3]*

(Received: August 7, 2016 Accepted: December 12, 2016)

Abstract

Introduction: Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is an enveloped DNA virus in the Herpesviridae family which causes various infections globally. Acyclovir (ACV) is a choice treatment, and the widespread usage of ACV has lead to the emergence of HSV strains resistant to ACV. Therefore, the discovery of novel anti-HSV drugs deserves great effort. Oliveria decumbens is a traditional medicinal plant used in Iran for many purposes, particularly for gastrointestinal disorders and analgesia. There is no report about antiviral effects of this plant; so, this report was the first study to evaluate antiviral effects of Oliveria decumbens. The aim of this study was to investigate the in vitro antiviral activity of Oliveria decumbens flowers methanolic extract against HSV-1.

Materials & Methods: In this laboratorial study, methanolic extract of the dried powder was obtained through maceration method. Then, the solvent was removed by rotary evaporator. The cytotoxicity and antiviral activity were evaluated by MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay in Vero cell line and at different incubation times. Cell cultures were treated with the extract before, during, and after infection to study its antiviral activity.

Findings: The cytotoxicity results revealed that cytotoxic concentration of the extract which reduced viable cells number by 50% (CC50) was above the range of 1500µg/ml. The findings also indicated that the plant extract had the most antiviral activity when it was mixed with the virus, and this mixture was used to infect the cells where it reached a high antiviral activity of 43.75percent.

Discussion & Conclusion: As demonsterated by our gains, the tested methanolic extract displayed a moderate antiviral activity against herpes simplex virus-1.

Keywords: antiviral activity, herpes simplex virus type 1 ,vero cell line, Oliveria decumbens

1. Dept of Molecular and Cell Biology, Faculty of Basic Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran
2. Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Mazandaran University, Baboulsar, Iran
3. North Research Center, Pasteur Institute of Iran, Amol, Iran
4. Dept of Molecular and Cell Biology, Science and Research Branch, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University,Tehran, Iran
**Corresponding author Email: roudbari@umz.ac.ir*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.113]