مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۱ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۶، صفحات ۴۹- ۵۹

بررسی اثرات ضد ویروسی بیست و پنج گونه از تیره های مختلف گیاهان دارویی ایران

سید حمید رضا منوری[۱]، رسول همکار*[۲]، زهرا نوروزبابایی[۲]، لادن ادیبی[۲]، مرضیه نوروزی[۳] ، سید علی ضیایی[۴]

۱) دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
۲) بخش ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳) دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه
۴) دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
نویسنده رابط: رسول همکار، بخش ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، صندوق پستی: ۶۴۴۶-۱۴۱۵۵
نمابر: ۸۸۹۵۰۵۹۵ rhamkar@sina.tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۶/۱۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۷/۲

چکیده:

زمینه و اهداف: گیاهان دارویی در طب سنتی برای درمان انواع بیماری ها از جمله بیماری های عفونی بکار می روند. با توجه به اینکه درمان عفونت های ویروسی با داروهای شیمیایی موجود به علت پیدایش مقاومت دارویی در ویروس ها معمولا با مشکلاتی روبرو می شود، نیاز مبرم به داروهای ضد ویروسی نوین همیشه احساس می شود. در این پژوهش بیست و پنج گونه گیاهان دارویی ایران که در طب سنتی بر علیه بیماری های عفونی بکار می روند از نظر داشتن اثرات ضد ویروسی در برابر آدنو ویروس، ویروس سرخک، روتا ویروس، اکو ویروس ۱۱ و HSV-1 مورد بررسی قرار گرفتند.

روش بررسی: عصاره آبی گیاهان مورد نظر تهیه گردید و آستانه توکسیسیته آنها روی دودمان های سلولی Vero، Hep-II، BSC-1 و RD با روش جذب رنگ قرمز خنثی و مشاهده میکروسکوپی CPE تعیین گردید. اثرات ضد ویروسی داروها با روش های سنجش مهار اثرات CPE و سنجش کاهش پلاک مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: از بین گیاهان مورد بررسی عصاره برگ نیلوفر سفید، سماق، مامیران و هلیله زرد روی HSV-1 و آدنو ویروس موثر بودند. غلظت ۱۰۰۰ µg/ml مامیران بطور کامل تکثیر HSV-1 و آدنو ویروس را مهار کرد؛ ولی اثر آن روی HSV-1 چشمگیرتر بود؛ بطوریکه غلظت ۵۰۰ µg/ml آن نیز از تکثیر ویروس کاملا جلوگیری می کرد. هلیله زرد اثر کمتری در ممانعت از تکثیر هر دو ویروس از خود نشان داد.

نتیجه گیری: گیاهان دارویی یکی از زمینه هایی هستند که با بررسی آنها با احتمال قریب به یقین می توان به عوامل دارویی مؤثری دست پیدا کرد. در این بررسی نیز اثر ضد ویروسی چهار نوع از آنها مشخص گردید ولی برای مشخص شدن مکانیسم اثر داروها و بدست آوردن داروهای موثری از آنها، پژوهش های بیشتری لازم است.

کلید واژه ها: گیاهان دارویی، اثرات ضد ویروسی، هرپس سیمپلکس ویروس، آدنوویروس

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه:

در طراحی و ساخت داروهای تازه دو گرایش نوین و قوی پدید آمده است. بیوتکنولوژی دست به تولید گروه نوینی از داروهای بیولـوژیک زده است و روشی کـاملا نـو را در طـراحی داروها ارائه می کند. و بطور همسو گرایش فزاینده ای برای استفاده از فرآورده های گیاهی در درمان بیماری ها مشاهده می گردد (۱). استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری ها قرن ها سابقه دارد و هم اکنون نیز در بسیاری از کشورهای پیشرفته و در حال پیشرفت بعنوان یک راه اصلی درمان بشمار می رود (۲). در حال حاضر بخش عمده داروهای مدرن شیمیایی هستند ولی در عین حال تقریبا ۳۰ درصد فرآورده های دارویی منشا گیاهی دارند (۱و۳).

در پـزشکی سنتـی بسیاری از کشورها از جمله ایران، گیاهان دارویی برای درمان بسیاری از بیماری ها بکار می روند و در منابع گیاه شناسی دارویی هر کشوری توضیحات مفصلی در مورد کاربرد درمانی گیاهان مختلف آورده شده است (۵-۱). در کشورهای غربی غالبا بطور استاندارد عصاره یک نوع گیاه برای درمان در یک شرایط مشخص بکار گرفته می شود؛ بعنوان مثال والریان Valerian و جوشانده سنت جونز St. John's wort (گل هزارچشم) به ترتیب در درمان بی خوابی و افسردگی ملایم بکار می روند (۱). ولی در طب سنتی ایران معمولا ترکیبی از عصاره های گیاهی توصیه می گردد و غالبا این ترکیب در مورد هر فرد بیمار و با توجه بـه شرایط وی تعیین می شود (٦و۷). درمان با گیاهان در ایران سابقه ای طولانی دارد بطوریکه در منابع پزشکی قدیمی ایران مانند نوشته های ابن سینا بخش های مفصلی به این موضوع اختصاص داده شده است (۷) و حتی با توجه به کارهای مهم وی در نامیدن گیاهان دارویی علاوه بر نام علمی گیاه نام وی را بصورت پسوندی Officinalis (یعنی خانواده گیاهان دارویی) بعد از نام گونه گیاه دارویی می آورند (۸-۶). در پزشکی سنتی ایران شیوه های بسیار گونـاگونی در استفـاده از گیاهـان برای درمان بیماری ها مشاهده می شود؛ که با وسعت جغرافیایی و گوناگونی بسیار زیاد پوشش گیاهی آن همسویی دارد؛ بطوریکه تنوع گیاهی در ایران با داشتن تقریبا ۹۵۰۰ گونه از گیاهان آوندی بیش از کل قاره اروپا است(۸).

پژوهش های نوین نشان داده اند که برخی از گیاهان دارویی که در پزشکی سنتی مورد استفاده قرار می گیرند اثرات ضد ویروسی دارند. عصاره برخی از گیاهان بعنوان عوامل ضد ویروسی توصیف شده اند (۹)، بویژه اثرات ضد ویروسی چندین نوع از فلاونوئیدها (۱۰و۱۱)، آنتراکینونها و مشتقات آنها مورد بررسی قرار گرفته اند (۱۲و۱۳). Hypericin و Pseudohypericin که اثر قابل توجهی در برابر رتروویروس ها دارند، از گونه های گیاه Hypericum (گل راعی) گرفته می شوند (۱۴). همچنین نشان داده شده است آنتروکینونهایی که استخلاف پلی فنلی یا پلی سولفونـات دارند آنزیم رونوشت بردار معکوس HIV-1 را مهار می سازند (۱۵).

درمان عفونت های ویروسی با داروهای موجود بنا به دلایلی مانند پیدایش مقاومت دارویی در اثر جهش هایی که در ویروس ها دیده می شود، بودن برخی عفونت های نهفته و عفونت های عود کننده، گاهی با شکست روبرو می شود و از اینرو نیاز فزاینده ای جهت یافتن ترکیبات ضد ویروسی جدید وجود دارد (۱۶). تحقیق در مورد گیاهان دارویی و ترکیبات موجود در آنها راهبرد مفیدی در این مورد می باشد (۱۷). در پژوهش حاضر اثرات ضد ویروسی بیست و پنج گونه از گیاهان دارویی ایران در شرایط آزمایشگاهی روی تعدادی از ویروس ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها:

۱- تهیه عصاره گیاهان:

با مراجعـه به کتب طب قدیـم و کتـاب های پزشکـی سنتی ایران (۶و۷) بیست و پنج گونه گیاهی که در درمان آبله مرغان، آبله، ورم لوزه‌ها، ذات‌الریه، سرطان، خروسک و آفت دهان مورد استفاده قرار می گرفتند، انتخاب شد (جدول ۱). بعد از فراهم آوردن گیاهان و شنـاسـایی و تایید آن توسط کارشنـاس گیـاه‌شناسی، بر اساس روش های توصیه شده در طب سنتی بخش های مورد استفاده آنها تهیه گردید. در مورد گیاهانی مانند پرسیاوشان و بابونه که جوشانده آنها توصیه می گردد ابتدا بخش های مورد استفاده آنها بطور جداگانه در دمای محیط خشک گردید. سپس ماده کاملا خشک بوسیله آسیاب پودر گردید، و پودر حاصله به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد. در مورد افتیمون به علت اینکه در طب سنتی جوشاندن آنها را باعث بی‌اثر شدنشان می‌دانند، در حمام اولتراسوند عصارهٔ آبی از آنها به دست آمد. همچنین در مورد تخم کتان و شنبلیله که لعاب آنها مورد استفاده قرار گرفت، ابتدا تخم های مذکور در آب خیسانده شدند، سپس با استفاده از حرارت، لعاب بیشتری بدست آمد. مانند شاهتره و گلاب از روش تقطیر استفاده شد و همینطور در مورد کاهو و ترنجبین از آب برگ و در مورد صبر زرد از شیرابه آن استفاده شد، در حالیکه از توت سیاه رب تهیه گردید. عصاره‌های آبی بدست آمده با روش های یاد شده توسط صافی صاف گردیده و سپس در دستگاه فریز درایر قرار گرفتند تا

Archive of SID

www.SID.ir

کاملاً خشک شوند. پودرهای حاصل در ویالهای جداگانه تا زمان آزمایش نگهداری شدند. در هنگام آزمایش از پودر گیاهان با استفاده از محیط کشت DMEM محلول mg/ml ۲۰ تهیه گردید. سپس با فیلترهای ۰/۲۲ میکرون مورد فیلتراسیون قرار گرفتند.

۲- ویروس و سلول:

ویروس سرخک سویه ادمونستون بعنوان یک ویروس دارای ژنوم RNAی تک رشته منفی(اهدایی جناب آقای دکتر عباس شفیعی، از آزمایشگاه ویروس شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرمسازی رازی)، اکو ویروس تیپ ۱۱ سویه رفرنس WHO بعنوان یک ویروس دارای ژنوم RNAی تک رشته مثبت (اهدایی سرکار خانم دکتر حمیده طباطبائی از آزمایشگاه ملی تشخیص فلج اطفال دانشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی تهران)، روتا ویروس سویه SA11 بعنوان یک ویـروس دارای ژنـوم RNAی دو رشته (از آزمایشگاه ویروس شناسی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران)، آدنو ویروس شناسی تیپ ۵ ثبت شده در Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene (RIVM) هلند بعنوان یک ویروس دارای ژنوم DNAی دو رشته (اهدایی سرکار خانم دکتر حوریه صادری از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه شاهد) و هرپس سیمپلکس ویروس تیپ۱ سویه KOS بعنوان یک ویروس دارای ژنوم DNAی دو رشته (از آزمایشگاه ویروس شناسی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران) فراهم گردیدند. در انتخاب ویـروس ها سعی گردیـد که از همه استراتژی های تکثیری ویروس ها، ویروسی در مجموعه مورد بررسی حضور داشته باشد.

برای کشت ویروس های سرخک و هرپس سیمپلکس از سلـولهای Vero، برای کشت روتاویروس از سلول های BS-C-1، برای آدنوویروس از سلول های Hep-II و برای کشت اکو ویروس تیپ۱۱ از سلول های RD استفاده گردید. سلول های یاد شده از آزمایشگاه های ویروس شناسی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران فراهم شدند و برای کشت آنها از محیط کشت DMEM دارای ۱۰٪ سرم جنین گوساله استفاده گردید.

۳- تیتراسیون بذر ویروس ها:

بـرای تهیـه بذر ویـروس های یاد شده، بعد از این که تک لایه سلول های مناسب کامل گردید، ویروس به آنها تلقیح گردید. پس از آنکه اثرات سیتوپاتیک ویروس ها به حدی رسید که بیش از ۸۰٪ تک لایه سلول ها را فراگرفت، ویروس ها برداشت شدند و سپس با دو روش TCID50 و PFU مورد تیتراسیون قرار گرفتند (۱۸). بذر ویروس ها که عیار آنها مشخص شده بود تا زمان استفاده در ازت مایع نگهداری شدند.

۴- تعیین آستانه توکسیسیته عصاره ها روی رده های سلولی:

برای این منظور از دو روش مشاهد میکروسکوپی اثرات سیتوتوکسیک بصورت CPE و رنگ آمیزی نوترال رد استفاده گردید. در روش مشاهد میکروسکوپی نخست سلول های یاد شده در میکروپلیتهای ۹۶ خانه کشت داده شدند و بعد از اینکه تک لایه کاملی از سلول ها حاصل شد، رقت های مختلفی از هر عصاره گیاهی در محیط کشت DMEM به سلول ها اضافه گردید. برای هر عصاره در یک چاهک انتهایی بعنوان کنترل سلول در نظر گرفته شد و فقط محیط کشت به آن اضافه گردید. برای اطمینان بیشتر برای هر عصاره چهار ردیف اختصاص داده شد. سپس سلول ها در انکوباتور قرار داده شدند و تا یک هفته هر روز از نظر خصوصیات میکروسکوپی و ظهور اثرات توکسیک عصاره ها بصورت CPE مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. بالاترین غلظتی از عصاره که سلول ها در حضور آن ظاهری همانند کنترل داشتند و هیچگونه اثر توکسیک روی آنها نبود بعنوان آستانه توکسیسیته تلقی گردید.

در روش رنگ آمیزی حیاتی نوترال رد فقط سلول های زنده رنگ می گیرند. در این روش سلول ها در میکروپلیتهای ۹۶ چاهکی کشت داده شدند و پس از اینکه تک لایه کاملی از سلول ها بدست آمد، رقت های مختلفی از هر عصاره در محیط کشت DMEM به سلول ها اضافه گردید. برای هر عصاره در یک چاهک انتهایی بعنوان کنترل سلول در نظر گرفته شد و فقط محیط کشت به آن اضافه گردید و بمدت ۴۸ ساعت در گرمخانه دارای گاز CO_2 نگهداری گردید. بعد از تخلیه محیط کشت ۱۰۰ میکرولیتر نوترال رد با رقت µg/ml ۱۲۰ به همه چاهکها اضافه گردید و بمدت سه ساعت در $37^{o}C$ قرار داده شد. سپس چاهکها از رنگ تخلیه شدند و سلول ها دو بار توسط فیکساتیو فرمالدئید (متشکل از w/v ٪۰/۵ فرمالدئید و w/v ۱٪ کلسیم کلرآید) شستشو داده شدند. سپس به هر یک از چاهکها ۲۰۰ میکرولیتر بافر سیترات- الکل با PH=۴/۲ اضافه گردید و بمدت ۲ ساعت در $4^{o}C$ گذاشته شدند. سپس OD چاهکها با طول موج ۵۵۰nm مورد سنجش قرار گرفت. OD هر چاهک با میزان رنگ جذب شده توسط سلول ها و نهایتا با تعداد سلول های زنده ارتباط دارد (۱۹). چاهکی از سلول ها که در حضور بالاترین غلظت عصاره OD مشابه با OD چاهک کنترل سلول داشت بعنوان آستانه توکسیسیته عصاره تلقی قرائت گردید. دقت این روش از روش قبلی بالاتر می باشد (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

۵- بررسی اثرات ضد ویروسی عصاره های گیاهان دارویی مورد نظر:

برای بررسی اثرات ضد ویروسی عصاره های گیاهان دارویی بر روی ویروس ها نخست در پلیت ۹۶ خانه کشت سلول تهیه گردید. بعد از تشکیل تک لایه سلول ویروس و عصاره های گیاهان دارویی به صورت زیر به سلول ها اضافه گردید.

- یک چاهک بعنوان کنترل سلول؛ حاوی تک لایه سلول + محیط کشت
- یک چاهک بعنوان کنترل ویروس؛ حاوی تک لایه سلول + محیط کشت + ۱۰۰ TCID50 ویروس
- یک چاهک بعنوان کنترل دارو؛ حاوی تک لایه سلول + محیط کشت + بالاترین غلظت غیر توکسیک عصاره های گیاهان دارویی
- یک چاهک بعنوان کنترل اثر آنتی سپتیکی عصاره؛ حاوی تک لایه سلول + محیط کشت+ ۱۰۰ TCID50 ویروس + بالاترین غلظت غیر توکسیک عصاره های گیاهان دارویی
- دو چاهک بعنوان بررسی اثر ضد ویروسی عصاره های گیاهان دارویی؛ حاوی تک لایه سلول + محیط کشت + ۱۰۰ TCID50 ویروس (یک ساعت بعد بالاترین غلظت غیر توکسیک عصاره های گیاهان دارویی به چاهک افزوده شد)
- دو چاهک بعنوان بررسی اثر ضد ویروسی عصاره های گیاهان دارویی؛ حاوی تک لایه سلول + محیط کشت + ۱۰۰ TCID50 ویروس (دو ساعت بعد بالاترین غلظت غیر توکسیک عصاره های گیاهان دارویی به چاهک افزوده شد)

به مدت ۳ روز الی یک هفته ظاهر میکروسکوپی سلول ها مورد بررسی قرار گرفتند و اثرات CPE مربوط به ویروس ها در چاهکهای مختلف مورد مشاهده قرار گرفتند. در چاهک کنترل سلول، سلول ها باید از ظاهر نرمال برخوردار باشند. در چاهک مربوط به کنترل ویروس باید ویروس بطور کامل تک لایه سلولی را تخریب کرده باشد و اثرات CPE تیپیک ویروس در آن مشهود باشد. در چاهک مربوط به کنترل دارو نیز همانند کنترل سلول، باید سلول ها از ظاهر نرمال برخوردار باشند. در چاهکهای مربوط به کنترل اثر آنتی سپتیکی عصاره های گیاهان دارویی، اگر عصاره اثر ممانعت کننده ای روی ویروس داشته باشد سلول ها نرمال خواهند بود ولی اثر عصاره بر ویروس می تواند ترکیبی از اثر آنتی سپتیکی و اثر آنتی ویروسی و یا هر یک به تنهایی قلمداد شود، در حالیکه در چاهکهای مربوط به اثر ضد ویروسی یک ساعت بعد و دو ساعت بعد اثرات آنتی ویروسی عصاره مورد مطالعه می باشد و در صورت موثر بودن دارو سلول ها ظاهری نرمال خواهند داشت و در غیر اینصورت مشابه خانه مربوط به کنترل ویروس اثرات CPE مربوط به ویروس مشاهده خواهد شد.

۶- تعیین طیف غلظت و زمان موثر عصاره های گیاهان دارویی:

در مورد عصاره های دارای اثر ضد ویروسی با روش های Neutralization Test (NT) و Plaque Reduction Assay(PRA) ، تیترها و زمان های موثر عصاره تعیین گردید. در روش NT بعد از تشکیل تک لایه سلولی به همه چاهکهای میکروپلیت ۱۰۰TCID50 ویروس اضافه گردید. سپس رقت سریال دوتایی از عصاره هایی که روی آن ویروس موثر بودند یک ساعت، دو ساعت بعد و سه ساعت بعد به چاهکها اضافه گردید. در هر ردیف یک چاهک بعنوان کنترل سلول در نظر گرفته شد. بعد از انکوباسیون به مدت ۲ روز الی یک هفته ظواهر میکروسکوپی سلول ها مورد مشاهده قرار می گرفتند تا رقت هایی از عصاره و زمان هایی که می توانستند ویروس را خنثی کنند مشخص گردد.

در روش PRA مطابق روش NT عمل گردید با این تفاوت که به چاهکهای پلیت ۱۰۰PFU ویروس اضافه گردید و بعنوان محیط کشت نگهدارنده از DMEM حاوی آگارز استفاده گردید. اثر عصاره بصورت کاهش تعداد پلاکهای ویروسی در مقایسه با کنترل ویروسی در خانه های مربوطه مشخص می گردد.

یافته ها:

نتایج نشان دادند که آستانه توکسیسیته عصاره ها روی هر چهار دودمان سلولی Vero، RD، BSC-1 و Hep-II یکسان می باشد (جدول ۱). برخی از آنها مانند کندر بسیار توکسیک بودند و غلظت های بالای ۵۰ µg/ml آنها قابل استفاده نبود در حالیکه هر چهار دودمان سلولی تا حد غلظت ۱۰۰۰ µg/ml برخی عصاره ها مانند عصاره مامیران، انجیر و ریشه کبر را تحمل می کردند (جدول ۱).

بررسی اثرات ضد ویروسی عصاره ها نشان داد که هیچ کدام از عصاره های مورد بررسی روی ویروس سرخک، روتاویروس و اکوویروس ۱۱ موثر نیستند. به عبارت دیگر عصاره ها روی RNA ویروس های مورد بررسی اثری نداشتند و در هیچ یک از مراحل تکثیر این ویروس ها ممانعت ایجاد نمی کردند (جدول ۲). از بین عصاره های مورد بررسی تنها چهار مورد برگ نیلوفر سفید، سماق، مامیران و هلیله زرد روی آدنوویروس و HSV-1 موثر بودند و در مقایسه اثر ممانعتی عصاره ها روی HSV-1 به مراتب بیشتر بود (جدول ۲).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۱: تعیین آستانه توکسیسیته گیاهان دارویی روی کشت سلول های Vero، RD، BSC-1 و Hep-II

نام گیاهان دارویی		روش تهیه	آستانه توکسیسیته روی سلولها*			
نام فارسی	نام علمی		Vero	BSC1	Hep2	RD
افتیمون	*Cuscuta campestris*	دم کرده اولتراسوند	۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰
انجیر	*Ficus carica*	جوشانده	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
انزروت (کنجیده سرخ و سفید)	*Astragalus fasciculifolius Boiss*	جوشانده	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰
بابونه (معروف به بابونه شیرازی)	*Tripleurospermum disciforme*	جوشانده	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰
برگ نیلوفر سفید	*Nymphea alba*	جوشانده	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
بلغور جو (جومقشر)	*Houdeum vulgare*	جوشانده	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
پرسیاوشان	*Adianthum capillus veneris L.*	جوشانده	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰
تخم شنبلیله	*Trigonella foenum-graceum L.*	لعاب+ جوشانده	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
تخم کتان	*Linum usitatissimum L.*	لعاب	۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰	۶۰۰
ترنجبین	*Alhagi pseudoalhagi (M.B.) Desv*	آب	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰
توت سیاه	*Morus alba L. var. nigra*	رب	۹۰۰	۹۰۰	۹۰۰	۹۰۰
ریشه کبر	*Capparis spinosa L.*	جوشانده	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
سماق	*Rhus coriaria L.*	جوشانده	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰
شاهتره	*Fumaria parviflora*	تقطیر	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰
صبرزرد	*Aloe spp.*	شیرابه	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
عاقرقرحا	*Anacyclus pyrtrum*	جوشانده	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
کاهو	*Lactuca sativa L.*	آب برگ	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰
کندر	*Bowswellia sp.*	عصاره آبی	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰
گشنیز	*Coriandrum sativum L.*	آب برگ	۸۰۰	۸۰۰	۸۰۰	۸۰۰
گلاب	*Rose Water*	تقطیر	۹۰۰	۹۰۰	۹۰۰	۹۰۰
گل ارمنی (چوب درخت صندل*+ اکسید آهن+ کربنات کلسیم)	*Santalum album*	جوشانده	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
گل ختمی	*Alcea ficifolia* L.	جوشانده	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰
گل سرخ (گل محمدی)	*Rosa damascena* Mill.	عصاره آبی	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰	٤۰۰
مامیران	*Chelidonium majus*	جوشانده	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰

* غلظت داروها بر حسب µg/ml

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۲: تعیین اثرات ضد ویروسی گیاهان دارویی روی ویروس هرپس سیمپلکس تیپ۱، روتا ویروس، ویروس سرخک، آدنوویروس و اکوویروس تیپ۱۱

نام گیاهان دارویی		اثر دارو روی ویروسها				
نام فارسی	نام علمی	HSV1[a]	RV[b]	MV[c]	AdV[d]	Eco11[e]
افتیمون	*Cuscuta campestris*	−	−	−	−	−
انجیر	*Ficus carica*	−	−	−	−	−
انزروت (کنجیده سرخ و سفید)	*Astragalus fasciculifolius Boiss*	−	−	−	−	−
بابونه (معروف به بابونه شیرازی)	*Tripleurospermum disciforme*	−	−	−	−	−
برگ نیلوفر سفید	*Nymphea alba*	+	−	−	+	−
بلغور جو (جومقشر)	*Houdeum vulgare*	−	−	−	−	−
پرسیاوشان	*Adianthum capillus veneris L.*	−	−	−	−	−
تخم شنبلیله	*Trigonella foenum-graceum L.*	−	−	−	−	−
تخم کتان	*Linum usitatissimum L.*	−	−	−	−	−
ترنجبین	*Alhagi pseudoalhagi (M.B.) Desv*	−	−	−	−	−
توت سیاه	*Morus alba L. var. nigra*	−	−	−	−	−
ریشه کبر	*Capparis spinosa L.*	−	−	−	−	−
سماق	*Rhus coriaria L.*	+	−	−	+	−
شاهتره	*Fumaria parviflora*	−	−	−	−	−
صبرزرد	*Aloe spp.*	−	−	−	−	−
عاقرقرحا	*Anacyclus pyrtrum*	−	−	−	−	−
کاهو	*Lactuca sativa L.*	−	−	−	−	−
کندر	*Bowswellia sp.*	−	−	−	−	−
گشنیز	*Coriandrum sativum L.*	−	−	−	−	−
گلاب	*Rose Water*	−	−	−	−	−
گل ارمنی (چوب درخت صندل*+ اکسید آهن+ کربنات کلسیم)	*Santalum album*	−	−	−	−	−
گل ختمی	*Alcea ficifolia* L.	−	−	−	−	−
گل سرخ (گل محمدی)	*Rosa damascena* Mill.	−	−	−	−	−
مامیران	*Chelidonium majus*	+	−	−	+	−
هلیله زرد	*Terminalia chebula* Retz.	+	−	−	+	−

a) ویروس هرپس سیمپلکس تیپ۱ b) روتا ویروس c) ویروس سرخک d) آدنوویروس e) اکوویروس تیپ۱۱

Archive of SID

www.SID.ir

یافته ها در مورد تاثیر برگ نیلوفر سفید بر روی آدنوویروس و HSV-1 نشان داد که وقتی غلظت µg/ml ۱۰۰۰ عصاره یک ساعت بعد از تلقیح ویروس مورد استفاده قرار گرفت تکثیر HSV-1 را ۵۰٪ کاهش داد، در حالیکه با همین شرایط تکثیر آدنو ویروس در حد ۲۷٪ کاهش یافت و تعداد ۷۳ پلاک ویروسی در مقایسه با کنترل که ۱۰۰ پلاک بود در چاهک مربوطه مشاهده شد (جدول ۳). همین غلظت دارو وقتی ۲ ساعت بعد مورد استفاده قرار گرفت، تعداد پلاک های HSV-1 را از ۱۰۰ عدد به ۷۸ عدد و در آدنوویروس از ۱۰۰ عدد به ۹۳ عدد کاهش داد ولی بعد از سه ساعت تقریبا روی هیچ یک از ویروس ها اثر قابل توجهی نداشت (جدول ۳). غلظت های کمتر از µg/ml ۵۰۰ برگ نیلوفر سفید در تکثیر آدنوویروس و HSV-1 تاثیر ممانعت کننده ای نشان نداد (جدول ۳).

یافته ها در مورد تاثیر سماق بر روی آدنوویروس و HSV-1 نشان داد که وقتی غلظت µg/ml ۴۰۰ عصاره یک ساعت بعد از تلقیح ویروس مورد استفاده قرار گرفت تکثیر HSV-1 را به ۴۸٪ (۴۸پلاک) کاهش داد، در حالیکه با همین شرایط تکثیر آدنوویروس تا حد ۷۲٪ کاهش یافت و تعداد ۷۲ پلاک ویروسی در مقایسه با کنترل که ۱۰۰ پلاک بود در چاهک مربوطه مشاهده شد (جدول ۴). غلظت های کمتر از µg/ml ۳۰۰ سماق تقریبا روی هیچ یک از ویروس ها موثر نبودند (جدول ۴).

یافته ها در مورد تاثیر مامیران بر روی آدنوویروس و HSV-1 نشان داد که وقتی غلظت µg/ml ۱۰۰۰ عصاره یک ساعت بعد از تلقیح ویروس مورد استفاده قرار گرفت تکثیر هر دو ویروس را کاملا مهار نمود (جدول ۵). همین غلظت دارو وقتی ۲ ساعت بعد مورد استفاده قرار گرفت، تعداد پلاک های HSV-1 و آدنوویروس را به ترتیب از ۱۰۰ عدد به ۲۲ عدد و ۳۶ عدد کاهش داد، در حالیکه وقتی سه ساعت بعد از تلقیح ویروس مورد استفاده قرار گرفت تکثیر HSV-1 را ۲۶٪ و آدنوویروس را ۹٪ کاهش داد (جدول ۵). غلظت های µg/ml ۵۰۰ و µg/ml ۴۰۰ مامیران نیز اثر قابل توجهی روی ویروس ها از خود نشان دادند ولی غلظت های کمتر از آن اثر مطلوبی روی ویروس ها نداشتند (جدول ۵).

یافته ها در مورد تاثیر هلیله زرد بر روی آدنوویروس و HSV-1 نشان داد که وقتی غلظت µg/ml ۲۰۰ عصاره یک ساعت بعد از تلقیح ویروس مورد استفاده قرار گرفت تکثیر HSV-1 و آدنوویروس را به ترتیب ۵۰٪ و ۲۴٪ کاهش داد (جدول ۶). همین غلظت دارو وقتی ۲ ساعت بعد مورد استفاده قرارگرفت، تعداد پلاک های HSV-1 را از ۱۰۰ عدد به ۸۰ عدد کاهش داد ولی دیگر اثری روی آدنوویروس نداشت، در حالیکه وقتی سه ساعت بعد از تلقیح ویروس مورد استفاده قرارگرفت روی هیچ یک از ویروس ها موثر نبود (جدول ۶). غلظت µg/ml ۱۰۰ هلیله زرد اثر ناچیزی روی تکثیر هر دو ویروس نشان داد ولی غلظت های پایین تر از آن روی هیچکدام موثر نبود (جدول ۶). در مقایسه مامیران نسبت به بقیه اثر بسیار مطلوبتری از خود نشان داد.

جدول شماره ۳: بررسی اثر ضد ویروسی غلظتهای غیرتوکسیک برگ نیلوفر سفید در زمانهای مختلف روی ویروسهای HSV-1 و آدنوویروس بروش Plaque Reduction Assay

غلظت دارو	هرپس سیمپلکس ویروس			آدنوویروس		
µg/ml	بعد از ۱ ساعت	بعد از ۲ ساعت	بعد از ۳ ساعت	بعد از ۱ ساعت	بعد از ۲ ساعت	بعد از ۳ ساعت
۱۰۰۰	۵۰*	۷۸	۱۰۰	۷۳	۹۳	۱۰۰
۵۰۰	۷۷	۹۰	۱۰۰	۹۱	۹۲	۱۰۰
۴۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
Virus control	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

* تعداد پلاکهای ویروس

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۴: بررسی اثر ضد ویروسی غلظتهای غیرتوکسیک سماق در زمانهای مختلف روی ویروسهای HSV-1 و آدنوویروس بروش Plaque Reduction Assay

غلظت دارو	هرپس سیمپلکس ویروس			آدنوویروس		
µg/ml	بعد از ۱ ساعت	بعد از ۲ ساعت	بعد از ۳ ساعت	بعد از ۱ ساعت	بعد از ۲ ساعت	بعد از ۳ ساعت
۴۰۰	۴۸*	۷۴	۶۲	۷۲	۱۰۰	۱۰۰
۳۰۰	۷۸	۹۲	۱۰۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰
۲۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
Virus control	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

* تعداد پلاکهای ویروس

جدول شماره ۵: بررسی اثر ضد ویروسی غلظتهای غیرتوکسیک مامیران در زمانهای مختلف روی ویروسهای HSV-1 و آدنوویروس بروش Plaque Reduction Assay

غلظت دارو	هرپس سیمپلکس ویروس			آدنوویروس		
µg/ml	بعد از ۱ ساعت	بعد از ۲ ساعت	بعد از ۳ ساعت	بعد از ۱ ساعت	بعد از ۲ ساعت	بعد از ۳ ساعت
۱۰۰۰	۰*	۲۲	۷۴	۰	۳۶	۹۱
۵۰۰	۰	۵۸	۱۰۰	۵۲	۶۲	۹۴
۴۰۰	۲۰	۷۶	۱۰۰	۶۴	۸۸	۱۰۰
۲۰۰	۵۲	۹۱	۱۰۰	۹۳	۹۶	۱۰۰
۱۰۰	۷۶	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۵۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
Virus control	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

* تعداد پلاکهای ویروس

جدول شماره ۶: بررسی اثر ضد ویروسی غلظتهای غیرتوکسیک هلیله زرد در زمانهای مختلف روی ویروسهای HSV-1 و آدنوویروس بروش Plaque Reduction Assay

غلظت دارو	هرپس سیمپلکس ویروس			آدنوویروس		
µg/ml	بعد از ۱ ساعت	بعد از ۲ ساعت	بعد از ۳ ساعت	بعد از ۱ ساعت	بعد از ۲ ساعت	بعد از ۳ ساعت
۲۰۰	۵۰*	۸۰	۱۰۰	۷۶	۱۰۰	۱۰۰
۱۰۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰
۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۶۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۴۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
Virus control	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

* تعداد پلاکهای ویروس

Archive of SID

www.SID.ir

بحث:

گیاهان دارویی بطور سنتی در موارد متنوعی از جمله بیماری های عفونی بکار می روند. در تحقیقاتی که در مورد این گونه گیاهان به عمل آمده است نشان داده اند که برخی از این گیاهان خواص ضد ویروسی دارند (۱۷-۹). بر مبنای گزارش هایی تقریبا ۶۰٪ داروهای ضد سرطان و ضد بیماری های عفونی منشا طبیعی دارند (۲۰). بنابراین شکی نیست که گیاهان دارویی سنتی می توانند به عنوان دستمایه بسیار مناسبی جهت کشف و تولید داروهای ضد ویروسی در آینده باشند. در درمان عفونت های ویروسی با داروهای شیمیایی مشکلات بسیار زیادی وجود دارد؛ و غالبا یا به درمان قطعی منتهی نمی شود و یا با پیدایش مقاومت دارویی در ویروس ها دارو اثری روی بیماری نمی گذارد، و یا اثر بسیار کمی روی عامل ویروسی خواهد داشت (۱۶). بنابراین یک نیاز دائمی برای تحقیق و پژوهش در جهت پیدایش عوامل ضد ویروسی نو و موثر وجود دارد.

نتایج این پژوهش اولیه حاکی از آن است که از طب سنتی می توان به عنوان راهنمایی اولیه در جهت بررسی غربالگرایانه گروه هایی از گیاهان دارویی که فعالیت های بیولوژیکی ویژه ای دارند، استفاده نمود. در این پژوهش اثرات ضد ویروسی بیست و پنج گونه گیاهی بر روی ویروس سرخک، آدنو ویروس، روتا ویروس، اکویروس تیپ ۱۱ و هرپس سیمپلکس ویروس تیپ ۱ مورد بررسی قرار گرفت. یافته ها نشان دادند که عصاره های مورد استفاده هیچ اثری روی ویروس های سرخک، روتا ویروس و اکو ویروس تیپ ۱۱ ندارند. ژنوم هر سه این ویروس ها RNA می باشد و توسط آنزیم RNA پلی مراز وابسته به RNA (RDRP)، اختصاصی خود ویروس همانند سازی می شود. عدم تاثیر نشان می دهد که این داروها در هیچ کدام از مراحل تکثیر ویروس موثر نیستند و بطور قطع و یقین آنزیم RDRP را نیز مهار نمی کنند. اما چهار گونه از گیاهان مورد استفاده یعنی برگ نیلوفر سفید، Nymphea alba ، سماق Rhus coriaria L، ماميران Chelidonium majus و هلیله زرد Terminalia chebula Retz روی آدنوویروس و HSV-1 موثر بودند. اثر ضد ویروسی هر چهار مورد روی HSV-1 بارزتر از اثرشان روی آدنوویروس بود بطوریکه غلظت های ۱۰۰۰ µg/ml و ۵۰۰ µg/ml ماميران تکثیر HSV-1 را کاملا مهار می کنند ولی غلظت ۵۰۰ µg/ml آن تکثیر آدنو ویروس را فقط ۴۸٪ کاهش می دهد حضور غلظت های یاد شده داروها کاهش می یابد (جدول های ۶-۳). با توجه به توکسیسیته بالای هلیله زرد روی سلول ها بالاترین غلظت غیر توکسیک این دارو یعنی ۲۰۰ µg/ml مورد استفاده قرار گرفت این دوز دارو اثر مطلوبی روی ویروس ها نشان نداد ولی تقریبا توانست به ترتیب ۵۰ و ۲۴ درصد تکثیر HSV-1 و آدنوویروس را مهار سازد.

طی پژوهش هایی خواص ضد سرطانی، آنتی دیابتیک و آنتی اکسیدان بودن برگ نیلوفر سفید مورد بررسی قرار گرفته است (۲۳-۲۱)، ولی گزارشی در مورد اثرات ضد ویروسی آن مشاهده نگردید. سماق در طب سنتی بسیار مد نظر بوده است و ضمن پژوهش هایی که روی گونه های مختلف سماق انجام شده است اثرات ضد ویروسی آن روی ویروس های آنفلوانزای A، CMV و HSV نشان داده شده است (۲۶-۲۴). استفاده از ماميران در طب سنتی چینی، هندی و اروپا سابقه تاریخی طولانی دارد و اثرات ضد سرطانی، ضد ویروسی و ضد باکتریایی در آن نشان داده شده است (۲۹-۲۷). در یک پژوهش در اوکراین نشان داده شده است که تکثیر ویروس آنفلوانزای A در حضور عصاره ماميران مهار می گردد (۳۰). یافته های پژوهش حاضر نیز نشان دادند که تکثیر هر دو ویروس در حضور عصاره ماميران مهار می گردد. اثرات آنتی موتاژنی و ضد ویروسی گونه های مختلف هلیله (زرد و سیاه) طی پژوهش هایی مورد بررسی قرار گرفته است در پژوهش هایی که در هند و کره انجام شده است نشان داده اند که هر دو نوع هلیله در تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس ممانعت ایجاد می کند (۳۲-۳۱).

نتیجه گیری:

گیاهان دارویی یکی از زمینه هایی هستند که با بررسی آنها با احتمال قریب به یقین می توان به عوامل دارویی مؤثری دست پیدا کرد. در این بررسی نیز اثر ضد ویروسی چهار نوع از آنها مشخص گردید. هر چهار عصاره زمانی بیشترین اثر را از خود نشان می دهند که ۱ ساعت بعد از تلقیح ویروس مورد استفاده قرار گیرند، و احتمالا در مراحل اولیه تکثیر موثر واقع می شوند. در عین حال با این پژوهش اولیه نمی توان محل و موقعیت اثر دارو را مشخص نمود و پژوهش های دقیق تری لازم است تا مکانیسم اثر عصاره ها را مشخص نمود.

Archive of SID

www.SID.ir

تقدیر و تشکر:

در پایان از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران و پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی که بخش هایی از هزینه های طرح را بر عهده داشتند و از عزیزانی که در پژوهشکده گیاهان دارویی و بخش ویروس شناسی دانشکده بهداشت در اجرای پژوهش همکاری داشتند تشکر و قدردانی می گردد.

فهرست مراجع:

1. Robert Yuan, Yuan Lin; Traditional Chinese Medicine: an approach to scientific proof and clinical validation. *Pharmacology & Therapeutics* 2000, 86: 191–198.
2. Sindambiwe JB, Calomme M, Cos P, Totte J, Pieters L, Vlietinck A, Vanden Berghe D. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 65: 71–77.

۳. آیینه چی یعقوب ؛ مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۵۸.

۴. زرگری علی، گیاهان دارویی. چاپ هفتم، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۱.

5. Vijayan P, Raghu C, Ashok G, Dhanaraj SA, & Suresh B. Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. *Indian J Med Res* 2004; 120: 24-29.

۶. محمد صادق رجحان : درمان بوسیله گیاهان دارویی ، چاپ اول، انتشارات فرهنگی آبان ، سال ۱۳۷۴.

۷. ابوعلی حسین بن عبدالله مشهور به ابن سینا: قانون در طب، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۶۳.

۸. احمد قهرمان: فلور ایران، چاپ اول، انتشارات سازمان حفاظت محیط زیست، سال ۱۳۷۵.

9. Vanden Berghe DA, Vlietinick AJ, Van Hoof L. Plant products as potential antiviral agents. *Bull. Inst. Pasteur* 1986; 84:101–105.
10. Hayashi K, Hayashi T, Morita N. Mechanism of action of the anti herpesvirus biflavone ginketin. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:1890–1893.
11. Hayashi K, Hayashi T, Otsuka H, Takeda Y. Antiviral activity of 5, 6, 7-trimethoxyflavone and its potentiation of the anti herpes activity of acyclovir. J Antimicrob Chemother 1997; 39:821–824.
12. Andersen DO, Weber ND, Wood SG, Hughes BG, Murray BK, North JA. *In vitro* virucidal activity of selected anthraquinones and anthraquinone derivatives. *Antiviral Res* 1991; 16: 185–196.
13. Sydiskis RJ, Owen DG, Lohr JL, Rosler KH, Blomster RN. Inactivation of enveloped viruses by anthraquinones extracted from plants. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 2463–2466.
14. Meruelo D, Lavie G, Lavie D. Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity as effective doses: aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85: 5230– 5236.
15. Schinazi, RF, Chu CK, Babu JR, Oswald BJ, Saalmann V, Cannon DL, Eriksson BFH., Nasar M. Anthraquinones as a new class of antiviral agents against human immunodeficiency virus. *Antiviral Res* 1990; 13: 265–272.
16. Field AK, Biron KK. The end of innocerice revisited: resistance of herpes virus to antiviral drugs. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7 : 1-13.
17. Vlietinck AJ, Vanden Berghe DA. Can ethnopharmacology contribute to the development of antiviral drugs *J Ethnopharmacol* 1991; 32: 141-53.
18. Edwin H. Diagnostic procedures lennett. Diagnostic procedures for viral, Rickettsial and chlamydial infections. American public health association 1995 ; pp. 447-454.
19. Putnam KP, Bombick DW, Avalos JT, & Doolittle DJ. Comparison of the Cytotoxic and Mutagenic Potential of Liquid Smoke Food Flavourings, Cigarette Smoke Condensate and Wood Smoke Condensate. Food and Chemical Toxicology 1999; 37:1113-1118.
20. Cragg GM, Newman DJ, Snader KM. Natural products in drug discovery and development. *J Nat Prod,* 1997; 60: 52-60.
21. Liu RN, Wang W, Ding Y, Xie WD, Ma C, Du LJ. 2007; A new flavonol glycoside and activity of compounds from the flower of

Archive of SID

www.SID.ir

Nymphaea candida. J Asian Nat Prod Res 2007; 9(4):333-338.
22. Dhanabal SP, Raja MK, Ramanathan M, Suresh B. Hypoglycemic activity of Nymphaea stellata leaves ethanolic extract in alloxan induced diabetic rats. Fitoterapia 2007; 78(4):288-291.
23. Khan N, Sultana S. Anti carcinogenic effect of *Nymphaea alba* against oxidative damage, hyperproliferative response and renal carcinogenesis in Wistar rats. *Mol Cell Biochem* 2005; 271(1-2):1-11.
24. Giancarlo S, Rosa LM, Nadjafi F, Francesco M. Hypoglycaemic activity of two spices extracts: *Rhus coriaria* L. and *Bunium persicum Boiss*. *Nat Prod Res* 2006; 20(9):882-886.
25. Nasar-Abbas SM, Halkman AK. Antimicrobial effect of water extract of sumac (Rhus coriaria L.) on the growth of some food borne bacteria including pathogens. *Int J Food Microbiol* 2004; 97(1):63-69.
26. Kim SW, Chang IM, Oh KB. Inhibition of the bacterial surface protein anchoring transpeptidase sortase by medicinal plants. *Biosci Biotechnol Biochem* 2002; 66(12):2751-2754.
27. Colombo ML, Bosisio E. Pharmacological activities of *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae). *Pharmacol Res* 1996; 33(2):127-134.
28. Kéry A, Horváth J, Nász I, Verzár-Petri G, Kulcsár G, Dán P. Antiviral alkaloid in Chelidonium majus L. *Acta Pharm Hung* 1987; 57(1-2):19-25.
29. Lozjuk RM, Lisnyak OI, Lozjuk LV. heoretical grounds and experimental confirmation of the antiviral effect of the preparation Ukrain. Drugs Exp Clin Res 1997; 22(3-5):213-217.
30. Ciebiada I, Korczak E, Nowicky JW, Denys A. Estimation of direct influence of Ukrain preparation on influenza viruses and the bacteria E. coli and S. aureus. *Drugs Exp Clin Res* 1996; 22(3-5):219-223.
31. Kim TG, Kang SY, Jung KK, Kang JH, Lee E, Han HM, Kim SH. 2001; Antiviral activities of extracts isolated from Terminalis chebula Retz., Sanguisorba officinalis L., Rubus coreanus Miq. and Rheum palmatum L. against hepatitis B virus. National Institute of Toxicological Research, Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea. Phytother Res. 2001 Dec; 15(8):718-20.
32. Badmaev V, Nowakowski M. Protection of epithelial cells against Influenza A virus by a plant derived biological response modifier Ledretan-96. *Phytother Res* 2000; 14(4):245-249.

Archive of SID

www.SID.ir