مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره ششم ـ شماره اول ـ بهار ۹۱
صفحات ۳ الی ۸

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تعیین اثر عصاره اکالیپتوس بر تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس در کشت سلول کلیه نوزاد هامستر

علی کریمی[۱]، محمدتقی مرادی[۲]، مجتبی ساعدی[۳]، لقمان سلیم‌زاده[۴]، محمود رفیعیان[۵]

[۱]دانشیار ویروس‌شناسی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، شهر کرد، ایران.
[۲]کارشناس ارشد حشره‌شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، شهر کرد، ایران.
[۳]کارشناس آزمایشگاه، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، شهر کرد، ایران.
[۴]کارشناس ارشد ایمنی‌شناسی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، شهر کرد، ایران.
[۵]استاد فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، شهر کرد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: در سالهای اخیر با افزایش سویه‌های مقاوم به دارو در انواع ویروس‌ها، یافتن مواد طبیعی با خواص ضد ویروسی که دارای اثرات جانبی کمتری باشند، مورد توجه محققین قرار گرفته است. اکالیپتوس از تیره مورد است که دارای اثرات مختلف درمانی از جمله اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی می‌باشد. لذا این مطالعه با هدف تعیین حداقل غلظت کشنده عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس روی ویروس هرپس سیمپلکس در کشت سلولی صورت گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ابتدا عصاره هیدروالکلی برگهای اکالیپتوس به روش خیساندن با اتانول ۷۰٪ تهیه شد. سپس سلول BHK (Baby Hamster Kidney) در محیط کشت حاوی ۵٪ سرم جنین گوساله در میکروپلیت‌های ۴۸ خانه‌ای کشت داده شد. پس از تعیین سمیت سلولی ۵۰٪ (CC_{50}, Cytotoxic Concentration$_{50}$) عصاره بر روی سلول‌های BHK، اثر ممانعت‌کنندگی ۵۰٪ (IC_{50}, Inhibitory concentration) آن بر تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس نوع ۱ (HSV1) در دو مرحله (جلوگیری از اتصال و تکثیر بعد از اتصال) ارزیابی شد. اطلاعات به دست آمده به کمک آزمون پروبیت در هر مرحله محاسبه گردید.

یافته‌ها: براساس آنالیز پروبیت، CC_{50} عصاره ۰/۶۵۰mg/ml تعیین شد. مدل پروبیت ارتباط معنی‌داری بین غلظت عصاره اکالیپتوس و مرگ سلول‌ها نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). براساس آنالیز پروبیت، IC_{50} عصاره برای مرحله قبل از اتصال ویروس برابر ۴۵۶/۸۲µg/ml و برای مرحله تکثیر بعد از اتصال برابر ۱۸۰/۷۵µg/ml به‌دست آمد. همچنین با افزایش غلظت عصاره، درصد مهار CPE در هر دو مرحله افزایش یافت ($p <۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری: طبق نتایج این مطالعه، عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس احتمالاً یک داروی گیاهی مناسب با اثرات ضد هرپسی است که در صورت انجام مطالعات تکمیلی می‌توان از آن به‌عنوان یک داروی جایگزین یا مکمل استفاده نمود.

کلید واژه‌ها: اکالیپتوس؛ هرپس سیمپلکس- ویروس‌شناسی؛ هرپس سیمپلکس- درمان.

نویسنده مسئول مکاتبات: مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، شهر کرد، ایران؛
آدرس پست الکترونیکی:rafieian@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۱۹ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۱/۲۷

مقدمه

هرپس سیمپلکس ویروس نوع ۱ (Herpes Simplex Virus) از خانواده هرپس ویروس‌ها و یکی از شایع‌ترین ویروس‌های عفونت‌زا در انسان است (۲،۱). این ویروس عامل عفونت‌های متعددی از جمله تبخال، فارنژیت، کراتیت و آنسفالیت در انسان بوده و از جمله عوامل ویروسی مرگ و میر انسان نیز محسوب

www.SID.ir

می‌شود. تعدادی از آنزیم‌های این ویروس از جمله پلیمرازها می‌توانند به‌عنوان اهداف داروهای ضد ویروسی به کار روند (۴،۳). تعدادی از این داروها مانند آسیکلوویر، مشابه‌های نوکلئوزیدی هستند، که از تکثیر ویروس جلوگیری می‌کنند. در سالهای اخیر مقاومت به داروهای مذکور در حال افزایش بوده و اگرچه آسیکلوویر هنوز داروی مؤثری محسوب می‌شود، اما عوارض جانبی آن از جمله محدودیت مصرف در دوران شیردهی و نیز مقاومت در مقابل این دارو، موارد مصرف آن را محدود ساخته است (۸-۵). لذا این امر بیانگر لزوم توجه بیشتر به انجام تحقیقات گسترده در زمینه یافتن داروهای جدید، به‌ویژه داروهای گیاهی به‌علت عوارض جانبی کمتر می‌باشد.

در ایران نیز به‌علت وفور گونه‌های گیاهی متعدد، بررسی‌هایی در این زمینه صورت گرفته و به‌ویژه در رابطه با تأثیر تعدادی از ترکیبات گیاهی بر ویروس مذکور، تحقیقاتی نیز انجام شده است. یک مطالعه در این زمینه نشان داد عصاره گیاه سرخارگل اثر ضد ویروسی قابل‌توجهی بر ویروس هرپس نوع ۱ دارد (۹). همچنین براساس بررسی انجام‌شده در بوشهر، عصاره یک نوع جلبک سبز به‌نام "*کالر پا سرتولاریوایدس*" اثر بازدارندگی قابل‌توجهی بر یک سویه از این ویروس در کشت سلولی "ورو" داشته است (۱۰).

یکی از گیاهان مورد بررسی در این زمینه، اکالیپتوس است. اکالیپتوس از تیره مورد (*Myrtaceae*) بوده که غالب گونه‌های آن درختی و دارای ارتفاع زیاد هستند. یکی از این گونه‌ها *Eucalyptus amigdalina* می‌باشد، که موطن اصلی آن استرالیا بوده و از این قاره به مناطق دیگر برده شده است (۱۱). روغن‌های فرار اکالیپتوس از آغاز تمدن، در استرالیا مورد توجه قرار گرفت و از همان زمان روغنی که از برگهای تقطیرشده اکالیپتوس به دست می‌آمد، یکی از اقلام صادراتی محسوب می‌شد. برخی روغن‌های استخراج‌شده از برگ این گیاه، در معالجه بعضی امراض مؤثر بوده و لذا مورد توجه داروسازان قرار گرفته است. از این روغن‌ها بسته به ترکیب شیمیایی آن، در صنایع دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده می‌شود. یکی از ترکیبات مهم این روغن‌ها، سینئول (Cineol) است که یک ماده درمانی مؤثر محسوب می‌شود (۱۲). اسانس اکالیپتوس دارای خواص ضد التهابی، ضد عفونی‌کنندگی و ضد باکتری، ضد نزله و خلط‌آور است. این اسانس از التهاب غشاهای موکوسی مخاط بینی، مخاط حلق و بینی، التهاب گوش، سینوس‌ها و التهاب واژن ممانعت می‌کند (۱۳).

با توجه به نکات یادشده، و اثرات مختلف ضد باکتریایی و قارچی گیاه اکالیپتوس، همچنین با توجه به اینکه در ایران تاکنون مطالعه چندانی در مورد اثر عصاره اکالیپتوس روی ویروس هرپس سیمپلکس نوع ۱ صورت نگرفته است، این مطالعه با هدف تعیین اثر عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس بر ویروس هرپس سیمپلکس و یافتن غلظت مناسبی از این عصاره بر ضد ویروس مذکور صورت گرفت.

روش بررسی

در این پژوهش تجربی که در سال ۱۳۸۹ در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد انجام شد، از سلول‌های کلیه نوزاد هامستر، (Baby Hamster Kidney, BHK) که از انستیتو پاستور ایران خریداری شده بود، و از محیط کشت سلول، DMEM (Dulbecco Modified Eagle Medium) شرکت PAA آلمان حاوی ۱۰٪ سرم غیرفعال‌شده گوساله با اسیدیته ۷/۴ و ۵٪ CO2 در دمای ۳۷°c، به‌منظور ایجاد تک لایه سلولی استفاده شد.

جهت تهیه عصاره از روش خیساندن استفاده گردید. بدین منظور، میزان ۵۰g برگ اکالیپتوس خشک‌شده را آسیاب کرده و پس از ریختن درون ارلن، مقدار ۵۰۰ml الکل ۷۰° به آن اضافه شد و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه قرار گرفت. طی این مدت چندین بار ظرف را تکان داده و به‌هم زده شد. پس از این مدت، محتویات درون ارلن را با کاغذ صافی صاف کرده و حلال به روش تقطیر در خلأ و در دمای ۴۰°c جدا گردید. جهت تعیین وزن عصاره خشک، میزان ۵ml از محلول صاف‌شده درون شیشه ساعت که وزن آن با ۳ رقم اعشار معلوم شده بود، ریخته شد. سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۰°c قرار گرفت تا کاملاً خشک شود. پس از خشک شدن، مجدداً شیشه ساعت را وزن کرده و اختلاف وزن آن با وزن شیشه ساعت خالی به‌عنوان وزن عصاره خشک، اندازه‌گیری شد. عصاره تهیه‌شده پس از فیلتر شدن با فیلتر سرنگی ۰/۲ نانومتری، در ۲۰°c- قرار گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

جهت تهیه پلیت‌های حاوی تک لایه سلولی، ابتدا سلول‌های BHK (۴۵۰۰۰ سلول جهت هر چاهک) در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ سرم در میکروپلیت‌های ۴۸ خانه مخصوص کشت داده شدند. به چاهک‌های حاوی تک لایه سلولی رقت‌های مختلف عصاره (به ازای هر رقت ۴ چاهک) اضافه شد و سلول‌ها به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور ۳۷° در مجاورت ۵٪ CO2 تحت تیمار قرار گرفتند. میزان سلول‌های مرده با استفاده از رنگ تریپان بلو (۴٪) و لام نئوبار بررسی شدند. با ثبت نتایج به دست آمده بر روی منحنی استاندارد و به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ و آزمون پروبیت، میزان (CC_{50} (Cytotoxic Concentration 50 عصاره اکالیپتوس محاسبه گردید.

در ادامه، ویروس هرپس نوع ۱ از ضایعات تبخال و با تکثیر در کشت سلولی فوق‌الذکر جدا شد، و با روش PCR تأیید گردید. سپس در فریز ۷۰°c- نگهداری شد.

جهت مشخص کردن عفونت‌زایی ویروس از روش ($TCID_{50}$ (Tissue Culture Infectious Dose 50 استفاده شد و رقتی از سوسپانسیون ویروس که آلوده‌کننده ۵۰٪ از سلول‌های سالم باشد، به‌عنوان نقطه پایان این ارزیابی در نظر گرفته شد. برای این منظور ابتدا رقت‌های سریال از یک لگاریتم در محیط کشت DMEM تهیه گردید. در پی رقت‌سازی متوالی، به مقدار ۲۰۰µl از هر رقت به ۶ چاهک در ردیف‌های مختلف، در داخل یک پلیت ۴۸ خانه‌ای حاوی تک لایه سلولی افزوده شد. در هر ردیف، یک چاهک به شاهد ویروس و یک چاهک به شاهد سلولی اختصاص داده شد. سپس میکروپلیت به مدت یک ساعت در دمای ۳۷°c انکوبه شد. در ادامه، به تمام چاهک‌ها ۲۰۰µl محیط کشت حاوی ۵٪ سرم اضافه گردید و چاهک‌ها هر روز از نظر آثار تخریب سلولی (Cytopathic Effect=CPE) بررسی شدند. نتایج عیار عفونت‌زایی حداکثر ۹۶ ساعت پس از تلقیح با ویروس ثبت گردید و با استفاده از روش کربر(Kerber) توسط فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{Log } TCID_{50}=L-D(S-0.5)$$

(D = فاصله لگاریتمی رقت‌ها، L=منفی لگاریتم کمترین رقت، S=مجموع نسبت‌های قسمت‌های مثبت).

برای تعیین تأثیر مستقیم عصاره بر سوسپانسیون ویروس هرپس سیمپلکس، از پلیت ۴۸ حفره‌ای حاوی تک لایه سلولی BHK که از قبل تهیه شده بود، استفاده گردید. مخلوطی از ویروس HSV1 با عیار ۱۰۰ $TCID_{50}$ تهیه و به همراه ۱۰۰µl از غلظت‌های مختلف عصاره (در محدوده‌ای که برای سلول سمی نبود) به هر چاهک اضافه گردید و برای هر غلظت عصاره ۴ چاهک در نظر گرفته شد. در هر مرحله نیز یک‌سری کنترل طراحی و همراه تست مورد ارزیابی قرار گرفت. (کنترل سلول: بدون افزودن ویروس و عصاره، کنترل ویروس: بدون افزودن عصاره، کنترل دارو: بدون افزودن ویروس). پس از اینکه سلول‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۳۷°c تحت تیمار قرار گرفتند، مخلوط اضافه‌شده از سطح چاهک تخلیه شده و پس از افزون ۲۰۰µl محیط کشت DMEM حاوی ۳٪ سرم، تا زمان بروز کامل CPE در چاهک کنترل ویروس، در دمای ۳۷°c در مجاورت ۵٪ CO2 قرار گرفت. میزان بروز CPE در چاهک‌های حاوی غلظت مختلف عصاره با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{درصد CPE واقعی} = \frac{\text{CPE ناشی از گروه مورد مطالعه}}{\text{CPE ناشی از گروه شاهد ویروس}} \times 100$$

برای تعیین تأثیرغیرمستقیم عصاره بر همانندسازی و تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس جذب‌شده به سلول، بعد از مرحله جذب ویروس به سلول در طی یک ساعت و خارج نمودن ویروس از سطح سلول‌ها، غلظت‌های مختلف عصاره (در محدوده‌ای که برای سلول سمی نبود) تهیه‌شده در پایه محیط DMEM، به محیط کشت سلول آلوده به ویروس اضافه گردید، و ادامه کار همانند روش قبلی انجام شد.

اطلاعات به‌دست آمده در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۱ وارد و به کمک آزمون پروبیت، میزان (IC_{50} (Inhibitory concentration 50 مربوط به عصاره در هر مرحله محاسبه گردید.

با حاصل تقسیم اعداد به دست آمده از برای CC_{50} به IC_{50}، ملاک انتخاب SI (Selectivity Index) به دست آمد.

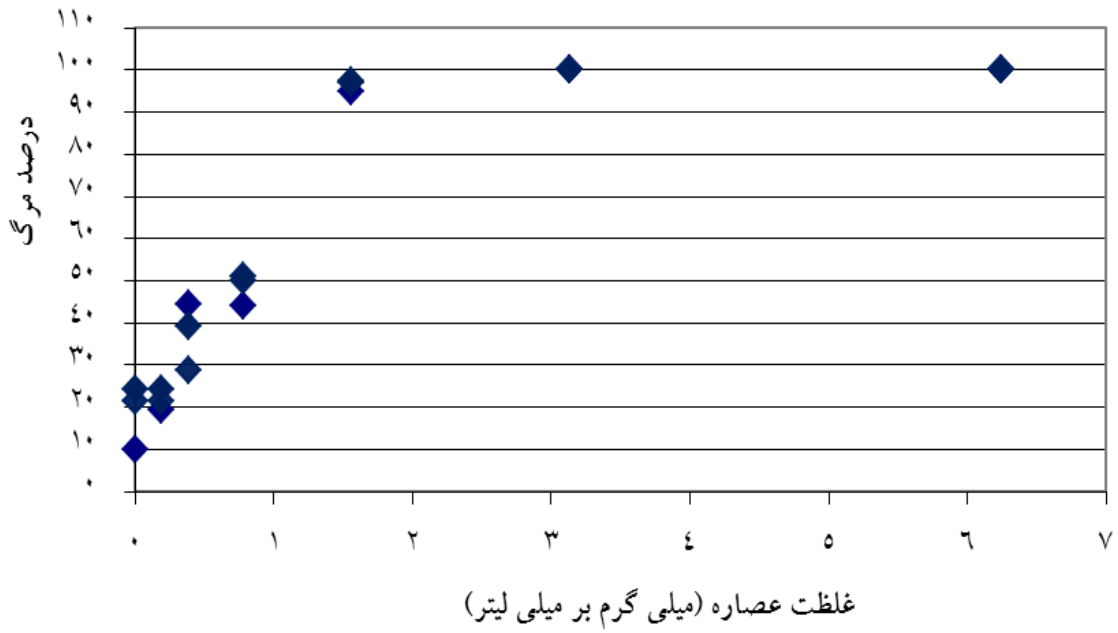
یافته‌ها

در این مطالعه، سمیت عصاره اکالیپتوس در غلظت ۰/۱۹۵mg/ml کمتر بود و در غلظت‌های بالاتر از ۳/۱۲۵mg باعث مرگ ۱۰۰٪ سلول‌های محیط کشت پس از گذشت ۷۲ ساعت شد. مدل پروبیت ارتباط معنی‌داری بین غلظت عصاره اکالیپتوس و مرگ

Archive of SID

www.SID.ir

سلول‌ها نشان داد (p<۰/۰۰۱)، به‌طوری‌که با افزایش غلظت، درصد مرگ سلول‌ها افزایش یافت. براساس آنالیز پروبیت، غلظتی از عصاره اکالیپتوس که در آن ۵۰٪ سلول‌های کشت داده‌شده از بین رفته بود (CC_{50})، ۰/۶۵۰mg/ml (فاصله اطمینان ۹۵٪، ۰/۶۰–۰/۷۰mg/ml) تعیین گردید (نمودار شماره ۱).



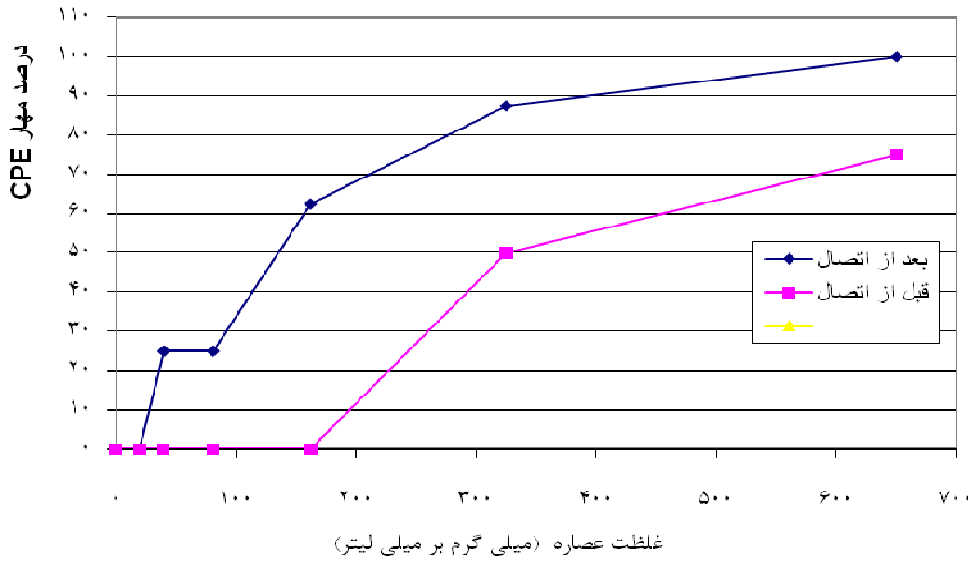
نمودار شماره ۱: درصد تخریب سلول‌ها در اثر غلظت‌های مختلف عصاره اکالیپتوس

عیار ویروس HSV-1 کشت داده‌شده در سلول‌های BHK با استفاده از روش CPE و فرمول کربر $TCID_{50}$/ml، ۱۰–۳/۵ تعیین شد.

غلظت ۱۶۲/۵µg/ml عصاره هیچ‌گونه اثری بر ممانعت از تکثیر ویروس نداشت. در حالی‌که غلظت ۶۵۰µg/ml از عصاره که برابر CC_{50} آن بود، ۷۵٪ از بروز CPE ناشی از ویروس جلوگیری کرد. مدل پروبیت ارتباط معنی‌داری بین غلظت عصاره اکالیپتوس و جلوگیری از اتصال و ورود ویروس به سلول نشان داد (p<۰/۰۱)، به‌طوری‌که با افزایش غلظت، درصد مهار CPE افزایش یافت. براساس آنالیز پروبیت، غلظتی از عصاره اکالیپتوس که باعث ۵۰٪ کاهش در CPE ایجادشده توسط ویروس هرپس سیمپلکس می‌شود (IC_{50})؛ برای مرحله قبل از اتصال ویروس برابر ۴۵۶/۸۲µg/ml به دست آمد. غلظت ۲۰/۳۰µg/ml هیچ‌گونه اثری در جلوگیری از تکثیر ویروس بعد از اتصال به سلول BHK نداشت و غلظت ۶۵۰µg/ml عصاره کمترین غلظتی بود که ۱۰۰٪ مانع بروز CPE شد. مدل پروبیت، ارتباط معنی‌داری بین غلظت عصاره اکالیپتوس و جلوگیری از مراحل تکثیر ویروس بعد از اتصال به سلول نشان داد (p<۰/۰۱)، به‌طوری‌که با افزایش غلظت، درصد مهار CPE افزایش یافت. براساس آنالیز پروبیت نتایج حاصل از تأثیر عصاره بعد از اتصال ویروس به سلول نشان داد IC_{50} عصاره در این مرحله برابر ۱۸۰/۷۵µg/ml می‌باشد (نمودار شماره ۲). ملاک انتخاب (SI) برای مرحله قبل از اتصال ۱/۴ و برای مرحله بعد از اتصال ۳/۶ به دست آمد.

به دلیل یک اشکال تکنیکی که در حین انجام آزمایش پیش آمد، نتایج حاصل از داروی کنترل مثبت (آسیکلوویر) قابل اعتماد نبود، لذا از ارائه یافته‌های مربوطه خودداری شد.

Archive of SID
www.SID.ir



نمودارشماره ۲: نتایج تأثیر عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس قبل و بعد از اتصال ویروس HSV-1 به سلول BHK در کشت سلول

بحث

با توجه به اینکه عفونت‌های ناشی از هرپس سیمپلکس ویروس نوع ۱ به‌طور نسبتاً وسیعی در همه نقاط جهان یافت می‌شوند، استفاده از داروهای ضد این ویروس نیز به‌همین نسبت متداول است. به‌علت استفاده مکرر و طولانی از این داروها علاوه بر مشکل عوارض جانبی آنها، معضل مهم‌تر، پیدایش سویه‌ای مقاوم به دارو در بین این ویروس می‌باشد. لذا استفاده از داروهایی با منشأ گیاهی که دارای عوارض جانبی کمتر بوده و احتمال بروز مقاومت به آنها نیز کمتر باشد، احساس می‌شود (۱۳). در این مطالعه نیز اثر ضد ویروسی عصاره اکالیپتوس روی ویروس هرپس سیمپلکس بررسی گردید. براساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، حداقل غلظت بازدارنده (IC_{50}) عصاره اکالیپتوس از تکثیر ویروس در کشت سلول BHK قبل و بعد از اتصال ویروس به سلول به ترتیب، ۴۵۶/۸۲µg/ml و ۱۸۰/۷۵µg/ml بود.

در یک مطالعه با بررسی اثر عصاره اکالیپتوس بر کاهش CPE در سلول‌های آلوده به HSV1، مشخص گردید عصاره اکالیپتوس نقش مثبت در کاهش CPE حاصل از این ویروس را در مرحله اثر مستقیم و در مرحله اثر غیرمستقیم دارد، ولی بهترین زمان اثر عصاره، پس از جذب ویروس توسط سلول بوده است (۱۴). نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه فوق همخوانی داشت.

در مطالعه حاضر به دلیل اشکال تکنیکی که در حین انجام آزمایش پیش آمد، نتایج حاصل از داروی کنترل مثبت (آسیکلوویر) قابل اعتماد نبود، لذا از ارائه آن در قسمت نتایج خودداری شد. در نتایج مطالعه دیگری مشاهده گردید عصاره ۲۴ گیاه، از جمله اکالیپتوس بر روی هرپس سیمپلکس اثر مهاری داشته و موجب کاهش CPE حاصل از این ویروس می‌شود. همچنین بهترین زمان اثر عصاره، پس از جذب ویروس توسط سلول بود (۱۵)، که مطابق با نتایج این پژوهش است. در یک پژوهش دیگر، نتایج اثر عصاره جلبک سبز بر عفونت‌زایی HSV1، نشان داد این عصاره قبل از اتصال ویروس به سلول تأثیر قابل توجهی در ممانعت از تکثیر آن داشته است (۱۶) که این یافته با نتایج مطالعه حاضر متفاوت می‌باشد. این تفاوت احتمالاً به دلیل نوع عصاره مورد استفاده است.

اثرات ضد ویروسی نتایج یک بررسی دیگر نیز نشان داد بیشترین اثر ضد ویروسی عصاره شیرین‌بیان بر روی HSV1 پس از جذب ویروس توسط سلول بوده (۱۷) که با یافته‌های این پژوهش همخوانی داشت.

در نتایج اثرات ضد ویروسی عصاره گیاهی مرزنجوش بر روی همانندسازی و تکثیر این ویروس مشاهده گردید بیشترین اثر این عصاره پس از جذب ویروس توسط سلول و در مرحله اثر غیرمستقیم بوده است (۱۸) که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت داشت. نتایج اثرات ضد ویروسی عصاره آبکی و الکلی سیر بر روی HSV1 نشان داد اثرات ضد ویروسی این عصاره احتمالاً از طریق بلوک کردن اتصال ویروس به سلول یا مداخله در عمل جذب ویروس بوده است (۱۹). این یافته با مطالعه حاضر همخوانی نداشت، این تفاوت احتمالاً به دلیل تفاوت در نوع عصاره و روش عصاره‌گیری می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

در مجموع می‌توان گفت که عصاره اکالیپتوس احتمالاً روی هرپس سیمپلکس ویروس نوع ۱ قبل و به‌ویژه بعد از اتصال آن به سلول اثرات بازدارنده قابل توجهی دارد. ولی به‌نظر می‌رسد مؤثرترین زمان اثر آن پس از جذب ویروس توسط سلول بوده است.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به دست آمده در این بررسی، عصاره هیدروالکلی اکالیپتوس احتمالاً یک داروی گیاهی مناسب با اثرات ضد هرپسی است. ولیکن انجام مطالعات گسترده‌تری را نیاز دارد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه به‌صورت طرح تحقیقاتی در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد با هزینه معاونت پژوهشی دانشگاه انجام شده است.

References:

1. Khan MT, Ather A, Thompson KD, Gambari R. Extracts and Molecules from Medicinal Plants Against Herpes Simplex Viruses. Antiviral Res 2005;67(2):107-19.

2. Whitley RJ, Roizman B. Herpes Simplex Virus Infections. Lancet 2001;357(9267):1513-18.

3. Brady RC, Bernstein DI. Treatment of Herpes Simplex Virus Infections. Antiviral Res 2004;61(2):73-81.

4. De Clercq E. Antiviral Drugs in Current Clinical Use. J Clin Virol 2004;30(2):115-33.

5. Whitley RJ, Levin M, Barton N, Hershey BJ, Davis G, Keeney RE, et al. Infections Caused by Herpes Simplex in the Immunocompromised Host: Natural History and Topical Acyclovir Therapy. J Infect Dis 1984;150(3):323-29.

6. Reusser P. Herpesvirus Resistance to Antiviral Drugs: A Review of the Mechanisms, Clinical Importance and Therapeutic Options. J Hosp Infect 1996;33(4):235-48.

7. Cassady KA, Whitley RJ. New Therapeutic Approaches to the Alphaherpesvirus Infections. J Antimicrob Chemother 1997;39(2):119-28.

8. Reichling J. Plant-Microbe Interactions and Secondary Metabolites with Antibacterial, Antifungal and Antiviral Properties. In: Annual Plant Reviews Volume 39: Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites. Sheffield: Wiley-Blackwell; 2010. p. 214-347.

9. Ghaemi A, Soleimanjahi H, Farshbaf Moghaddam M, Yazdani N, Zaki Dizaji H. Evaluation of Antiviral Activity of Aerial Part of Echinacea Purpurea Extract Against Herpes Simplex Virus Type 1. Hakim Research Journal 2007;9(4):59-64. [Full Text in Persian]

10. Zandi K, Bahmanyar M, Sartavi K. The Effect of Antiviral Activity of A Green Seaweed from the Persian Gulf, Caulerpa Sertularioides on Herpes Simplex Virus Type 1. Iranian South Medical Journal 2006;9(1):1-8. [Full Text in Persian]

11. Ghahreman A. Cormophytes of Iran (Plant systematic). Tehran: Publication of Center of University; 1994. p. 841. (V2). [Text in Persian]

12. Javanshir K, Mossadegh A. Eucalyptus. Tehran: Tehran University Pub; 1973. p. 435. [Text in Persian]

13. Perrucci S, Marcianti F, Cionti PL. In Vitro Antifungal Activity of Essential Oils Against Some Isolates of Microsperum Canis and M. Gypseum. Planta Med 1994;60:84-7.

14. Hosseinzadeh HM. Study of Effect of Eucalyptus Extract in Comparison with Acyclovir on Herpes Simplex Virus Type1 (Dissertation). Tehran: Tarbiat Modares University, School of Medical Sciences; 2001. [Text in Persian]

15. Lopez A, Hunson JB. Antiviral and Antimicrobial Activities of Colombian Medical Plants. J Ethnopharmacology 2002;77(2-3):189-196.

16. Zandi K, Bahmanyar M, Sartavi K. Effects of Green Algae on Herpes Simplex Virus Type1 in Vero Culture. J Boshehr Univ Med Sci 2006;9(1):1-8. [Full Text in Persian]

17. Monavari H, Shahrabadi M, Mortazkar P. Effects of Glycyrrhiz Glabra on Herpes Simplex Virus Type1. Planta Medica 2009;7(4):137-144. [Full Text in Persian]

18. Zahtabian Sh, Bahmanyar M, Sartavi K. Effects of Marjoram on Herpes Simplex Virus Type1. J Ilam Univ Med Sci 2008;16(2):63-72. [Full Text in Persian]

19. Weber OD, Andersen DO, North JA, Murray BK, Lawson LD, Hughes BG. In Vitro Virucidal Effects of Allium Sativum (Garlic) Extract and Compounds. Planta Med 1992;58(5):417-423.

Archive of SID

www.SID.ir