Archive of SID

اثرات ضد ویروسی عصاره ی آبی الکلی نعنا بر روی ویروس سرخک در محیط آزمایشگاهی

سید حمید رضا منوری[1]- محمود شمسی شهرآبادی[2]- روح الله وهاب پور[3]- مهرشاد عزیزی[4]

چکیده

زمینه و هدف: داروهای شیمیایی ضد ویروسی مورد مصرف در حال حاضر دارای اشکالات عمده ای مانند تعداد و تنوع کم، اندکس درمانی پایین، موارد مصرف بالینی محدود و سمیت بالا هستند. از این رو بررسی و ارزیابی ترکیبات دارویی جدید به منظور دستیابی به روش های نوین درمان ضروری به نظر می رسد. محور اصلی این پژوهش مطالعه ی اثر عصاره ی آبی الکلی گیاه نعنا (Nepeta pungens) بر چرخه ی تکثیر ویروس سرخک می باشد.

روش تحقیق: این پژوهش از نوع مطالعات آزمایشگاهی می باشد که ابتدا سمیت عصاره ی گیاه نعنا روی سلول های کلیه ی میمون سبز آفریقایی مورد بررسی قرار گرفت. سپس اثرات ضد ویروسی آن در محدوده ی غلظتی کمتر از آستانه ی سمیت، با روش پنجاه درصد دوز آلوده کننده ی کشت سلولی مورد ارزیابی قرارگرفت.

یافته ها: با توجه به آزمایش های انجام شده، عصاره ی نعنا دارای اثر مهارکنندگی روی تکثیر ویروس سرخک می باشد. نتایج نشان می دهد بیشترین اثر ضد ویروسی عصاره ی نعنا در مراحل آغازین چرخه ی تکثیر ویروس مشاهده می شود.

نتیجه گیری: عصاره ی گیاهی نعنا می تواند کاندید مناسبی جهت تحقیقات بیشتر به منظور دستیابی به عوامل نوین ضد ویروسی باشد.

کلید واژه ها: ضد ویروسی؛ نعنا؛ ویروس سرخک؛ $TCID_{50}$

افق‌دانش؛ فصلنامه ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد (دوره ی۱۶؛ شماره ی۴؛ زمستان سال ۱۳۸۹)

دریافت: ۱۳۸۸/۱۱/۶ اصلاح نهایی: ۱۳۸۹/۹/۱۶ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۱۵

۱- **نویسنده ی مسؤول:** استادیار، گروه ویروس شناسی، دانشکده ی پزشکی، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
آدرس: تهران – بزرگراه همت – دانشگاه علوم پزشکی تهران – دانشکده ی پزشکی – گروه ویروس شناسی
تلفن: ۸۸۶۰۲۲۰۵ -۰۲۱ **نمابر:** ۰۲۱۸۸۶۰۲۲۰۵ **پست الکترونیکی:** hrmonavari@yahoo.com
۲- استاد، گروه ویروس شناسی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳- کارشناس ارشد ویروس شناسی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴- کارشناس بهداشت عمومی، دانشکده ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

درسال های اخیر تحقیقات زیادی در زمینه ی اثرات مهار کنندگی مواد طبیعی در برابر میکرو ارگانیسم ها صورت گرفته است. در این رابطه استفاده از ترکیباتی که برای انسان غیر سمی بوده و اثرات جانبی هم نداشته باشند ضروری است. ویروس سرخک عامل ایجاد بیماری حاد و بسیار مسری است و علائم اختصاصی آن، راش ماکولوپاپولار، تب و علائم تنفسی است و عوارض بعد از بیماری سرخک شایع بوده و گاهی بسیار خطرناک است (۱). هیچ گونه داروی ضد ویروسی مؤثری علیه سرخک یا عوارض آن وجود ندارد (۲,۳). از گیاه Nepeta در درمان بسیاری از بیماری ها در طب سنتی استفاده می گردد. داروهای شیمیایی ضد ویروسی مورد مصرف در حال حاضر دارای اشکالات عمده ای مانند تعداد و تنوع کم، اندکس درمانی پایین، موارد مصرف بالینی محدود و سمیت بالا هستند (۴,۱۱).

خوشبختانه کشور ایران با برخورداری از شرایط جغرافیایی و آب و هوایی مناسب، دارای گونه‌های مختلف گیاهی به میزان ۲ تا ۳ برابر قاره ی اروپا می‌باشد، تا جایی که فلور طبیعی ایران را «طلای سبز» نامیده‌اند و به همین جهت جا دارد تا در زمینه ی مطالعه ی خواص دارویی این گیاهان، پژوهش‌های جامعی به عمل آید (۵). یکی از مهمترین گام های برداشته شده، گرایش جهانی برای به کارگیری داروهای گیاهی است که دارای عوارض جانبی کم و هزینه ی پایین می‌باشند (۱۲). به دلیل این که بیماری سرخک دارای درمان دارویی نمی باشد و داروهای گیاهی از این لحاظ که عوارض جانبی کمتری دارند، برای این منظور در این پروژه استفاده گردیدند. جستجو برای یافتن داروهای ضد ویروسی جدید برای درمان عفونت های ناشی از ویروس در حال افزایش است (۶). عدم وجود مطالعات گسترده و عمیق بر روی غربال گری آثار ضد ویروسی عصاره های گیاهی و ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان دارویی در کشورمان ارزش چنین مطالعاتی را دو چندان می نماید. اکثر ترکیبات طبیعی جدا شده از گیاهان دارویی که دارای آثار ضد ویروسی شاخص در شرایط in vitro و یا in vivo بوده اند، جزء دستجات زیر می باشند: فلاونوییدها (۷,۸) و اسانس های فرار آلکالوئیدها و ترکیبات کینونی، تانن و سایر گروه های مواد مؤثر گیاهی (۹,۱۰). در این بررسی ما اثرات ضد ویروسی Nepeta pungens که گونه ی بومی ایران از تیره نعناعیان می باشد و با توجه به موارد استفاده ی فراوان این گیاه در کتب گیاهان دارویی، فعالیت های ضد ویروسی عصاره ی آن را بر روی ویروس سرخک مورد مطالعه قرار می دهیم. جنس Nepeta از خانواده ی Lamiaceae که دارای حدوداً ۲۵۰ گونه می‌باشد و اعضای خانواده ی آن را Catnips یا Catmints هم می‌نامند. جنس Nepeta بومی اروپا، آسیا و آفریقا است ولی بیشترین تعداد گونه‌های آن در منطقه ی مدیترانه وجود دارند. این گیاهان دارای ساقه‌هایی محکم با برگ هایی به شکل قلب به رنگ سبز متمایل به خاکستری هستند.

گیاه Nepeta pungens درختچه‌ای است با حدود ۱۰۰-۵۰ cm ارتفاع از زمین، ولی در آب و هوای مساعد به ارتفاع بیشتر نیز می‌رسد. این گیاه دارای برگ های سبز و گل های سفید با دانه‌های بنفش کمرنگ می‌باشد، میوه ی آن به صورت سته، بیضوی یا مدور، به بزرگی یک نخود، به رنگ سیاه مایل به آبی می‌باشد. خواص دارویی گیاه مربوط به برگ آن می‌باشد. لازم به ذکر است که گونه ی Nepeta pungens از گونه‌های نادر Nepeta می‌باشد که در بعضی مناطق ایران مانند استان فارس و اصفهان می‌روید. از گیاه Nepeta در درمان بسیاری از بیماری ها در طب سنتی نیز استفاده می گردد. در این پروژه برای پی بردن به خواص دیگر آن از جمله اثرات ضد ویروسی سرخک، ما به بررسی خواص گیاهی Nepeta بر ویروس سرخک در شرایط in vitro می پردازیم. لازم به ذکر است خلأ موجود که باعث اجرای این پروژه گردیده است، عدم وجود داروی مؤثر ضد ویروسی علیه ویروس سرخک می باشد و هدف اصلی از اجرای این پروژه، دستیابی به یک کاندید داروی گیاهی مؤثر بر علیه ویروس سرخک می باشد.

روش تحقیق

تهیه ی عصاره به روش ماسیراسیون:

۱۰۰ گرم از پودر دارویی مورد نظر را وزن نموده و در یک

www.SID.ir

Archive of SID

بطری شیشه‌ای تیره رنگ ریخته و حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر از حلال مورد نظر (که در این پژوهش از اتانول ۵۰ درصد، کلروفرم و اتر استفاده می‌شود) به آن اضافه کرده و هر سه روز محلول را صاف و تغلیظ کرده و مجدداً روی آن الکل ریخته و بعد از ۹ روز عصاره ی حاصل، صاف شده و توسط دستگاه روتاری تغلیظ می‌گردد. عصاره ی به این ترتیب توسط دستگاه روتاری کاملاً خشک و به صورت پودر در می آید و سپس ما برای تهیه عصاره ی آبی- الکلی از ۸۰ درصد متانول و ۲۰ درصد آب به عنوان حلال استفاده کردیم.

سلول و ویروس: دودمان سلولی Vero برای تکثیر ویروس سرخک سویه ادمونستون مورد استفاده گرفت (شکل ۱). برای کشت سلول محیط کشت DMEM Dulbeccos Modified Eagles Medium، دارای ۱۰ درصد سرم جنین گوساله، ۱۰۰ IU/ml پنی سیلین و ۱۰۰ mg/ml استرپتومایسین به کار برده شد. برای تعیین تیتر ویروس از روش پنجاه درصد دوز آلوده کننده ی کشت سلولی[1] استفاده شد (شکل ۲).

تعیین آستانه ی سمیت عصاره بر روی سلول های Vero: برای تعیین آستانه ی سمیت عصاره روی سلول های Vero از روش Trypan Blue Exclusion Method استفاده گردید. در این روش بعد از تشکیل تک لایه سلولی در چاهک های میکروپلیت ۹۶ خانه غلظت های ۰، ۱۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم عصاره ی نعنا در میلی لیتر محیط کشت DMEM بدون سرم جنین گوساله به چاهک های میکروپلیت اضافه گردید. برای هر غلظت یک ردیف میکروپیت در نظر گرفته شد و در چاهک انتهایی به عنوان کنترل سلول، فقط محیط کشت اضافه گردید. میکروپلیت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و ۵ درصد CO_2 قرار داده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت هر روز سلول های دو چاهک از هر غلظت با تریپسین کنده شد و با تریپان بلو ۱۰ درصد رنگ آمیزی گردید.

تریپان بلو سلول های مرده را رنگ می کند و سلول های زنده بی رنگ باقی می مانند. سپس شمارش سلول های زنده و مرده انجام گردید و این عمل تا روز چهارم تکرار شد. در روز چهارم غلظتی از عصاره که در حضور آن ۵۰ درصد سلول ها مرده بودند به عنوان 50^{CC}, 50% Cytotoxic Concentration در نظر گرفته شد.

بررسی اثر ویروسیدالی عصاره بر روی ویروس سرخک: مقدار ۱۰۰ $TCID_{50}$ ویروس با غلظت 50^{CC} عصاره تیمار گردید. پس از گذشت ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت سوسپانسیون فوق به سلول های تک لایه ی Vero اضافه گردید. پس از یک ساعت سلول ها سه بار شستشو داده شدند تا بقایای عصاره از محیط خارج گردد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت میزان کاهش عفونت زایی ویروس با روش $TCID_{50}$ تعیین گردید.

اثر مهار کنندگی عصاره در غلظت های مختلف بر روی تکثیر ویروس سرخک: برای تعیین غلظتی از عصاره که دارای ۵۰ درصد ممانعت کنندگی روی تکثیر ویروس باشد، ابتدا بعد از تشکیل تک لایه سلولی در چاهک های پلیت، مقدار ۱۰۰ $TCID_{50}$ ویروس به همه چاهک ها به جز چاهک انتهایی ردیف اضافه گردید. بعد از گذشت یک ساعت چاهک ها با بافر PBS برای خروج ویروس های جذب نشده شستشو داده شدند. سپس عصاره ی نعنا با غلظت های کمتر از 50^{CC} یعنی ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم عصاره ی نعنا در میلی لیتر محیط کشت DMEM بدون سرم جنین گوساله به چاهک های میکروپلیت اضافه گردید. در چاهک مربوط به کنترل سلول و کنترل ویروس فقط محیط کشت اضافه گردید. برای هر غلظت ۱۲ چاهک اختصاص داده شد. در این تست ($TCID_{50}$) برای هر غلظتی از ویروس و دارو، دو چاهک همراه با کنترل در نظر گرفته شده است. از ویروس های استاندارد و سلول حساس در شرایط استریل آزمایش ها انجام گرفته است. پس از گذشت ۴۸ ساعت میزان کاهش عفونت زایی ویروس با تعیین $TCID_{50}$ و با روش Read & Muench تعیین گردید. این فرآیند با افزودن غلظت ۵۰۰ میکروگرم عصاره ی نعنا در میلی لیتر محیط کشت DMEM در زمان های صفر، ۱، ۲، ۴، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از جذب ویروس به سلول ها تکرار گردید. برای تعیین تیتر ویروس با استفاده از $TCID_{50}$ از روش Reed and muench که یک فرمول در ارتباط با درصد سلول های مرده و زنده در رقت های مختلف ویروسی است

1- Tissue Culture Infections Dose 50 ($TCID_{50}$)

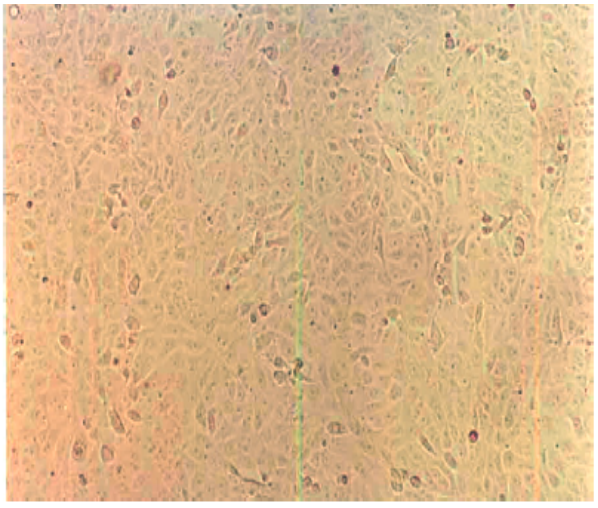
www.SID.ir

Archive of SID

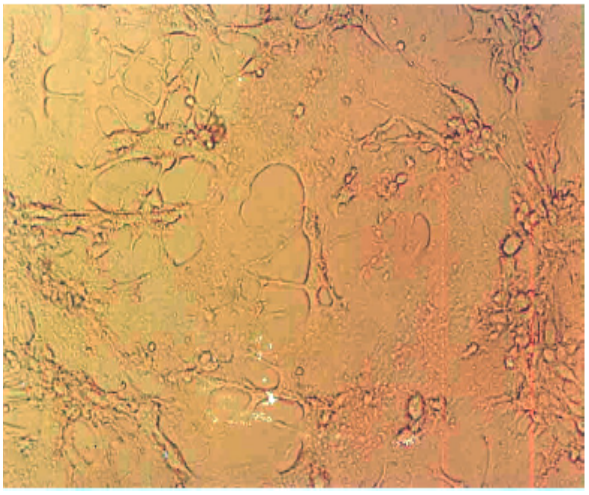
استفاده شده است و هیچ گونه آزمون آماری به دلیل عدم نیاز در این پروژه استفاده نشده است. تفاوت اثر ویروسیدالی با اثر مهارکنندگی در این است که خاصیت ویروسیدالی مربوط به اثر مستقیم عصاره بر روی ویروس در محیط خارج سلول می باشد، درحالی که اثر مهارکنندگی مربوط به اثر عصاره بر روی ویروس در محیط داخل سلول است. لازم به ذکر است که مدت زمان انجام تحقیق ۸ ماه بود.

یافته ها

عصاره ی نعنا در طیف غلظت های بین ۱۰ تا ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر هیچ گونه اثر توکسیک روی سلول ندارد. همان گونه که در جدول ۱ مشاهده می گردد، محدوده ی غلظتی که دارای ۵۰ درصد سمیت بر روی سلول باشد (CC50=>500) بین غلظت ۵۰۰ تا۲۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر است.



شکل ۱: سلول های طبیعی Vero



شکل۲: سلول های Vero چهار روز بعد از آلودگی با ویروس سرخک سوش ALK-C

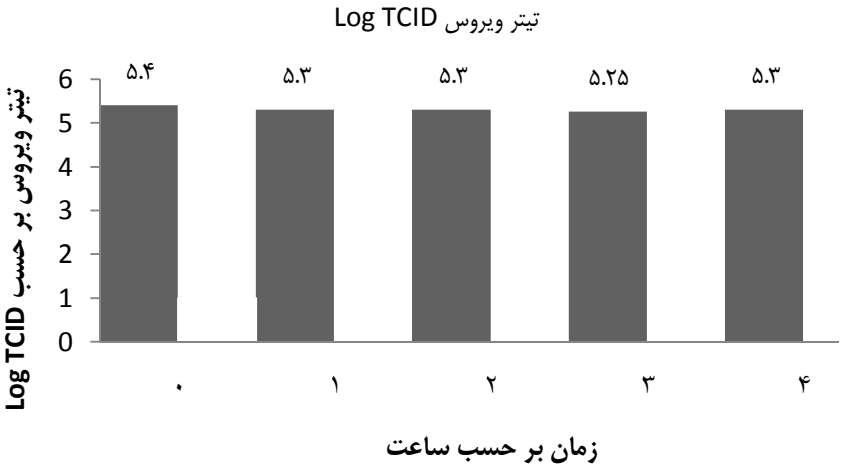
جدول ۱: اثرات سیتوتوکسیک غلظت های مختلف عصاره ی Nepeta pungens بر روی سلول های Vero بر حسب زمان

غلظت عصاره (µg/ml)	نسبت سلول های زنده بر حسب درصد			
	روز اول	روز دوم	روز سوم	روز چهارم
۰	۹۷	۹۶	۹۶	۹۵
۱۰	۹۷	۹۶	۹۵	۹۵
۱۰۰	۹۶	۹۵	۹۵	۹۴
۲۰۰	۹۶	۹۶	۹۲	۹۲
۴۰۰	۹۵	۹۴	۹۲	۹۲
۵۰۰	۹۰	۸۹	۸۸	۸۶
۱۰۰۰	۷۵	۷۰	۶۶	۵۱
۲۰۰۰	۵۲	۴۳	۲۹	۲۵

در بررسی اثرات ویروسیدالی عصاره ی نعنا مشخص گردید که غلظت های کمتر از آستانه توکسیسیته هیچ گونه تأثیر نامطلوبی بر سیکل تکثیر ویروس ندارد (نمودار ۱).

www.SID.ir

Archive of SID



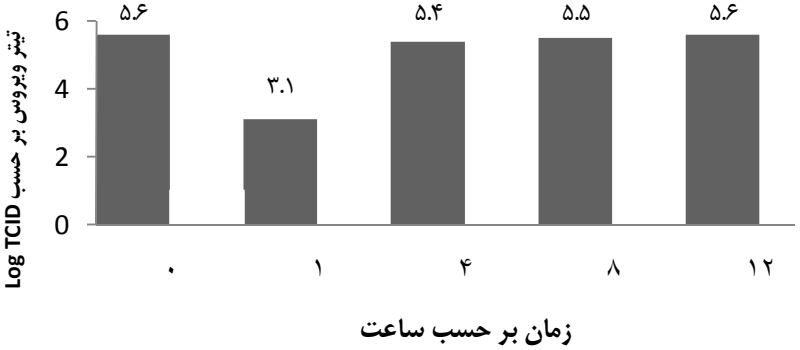
نمودار ۱: اثر ویروسیدالی عصاره ی Nepeta pungens در زمان های مختلف بر سیکل تکثیر سرخک

در بررسی اثر مهارکنندگی غلظت های مختلف نعنا بر میـزان تکثیر سرخک همان گونه که در جدول ۲ مشاهده می شـود، غلظتی از نعنا که می توانـد تیتـر ویـروس را تـا ۵۰ درصـد کاهش دهد. در حدود ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر است.

جدول ۲: اثر مهار کنندگی عصاره ی Nepeta pungens بر تکثیر سرخک بر حسب غلظت عصاره

غلظت عصاره ی Nepeta pungens بر حسب µg/ml	۰	۵	۱۰	۵۰	۱۰۰	۲۵۰	۵۰۰
تیتر ویروس	۱۰-۶	۱۰-۵/۹	۱۰-۵/۷	۱۰-۵/۵	۱۰-۵/۲	۱۰-۴/۸	۱۰-۳/۷

همانگونـه کـه در نمـودار ۲ مشـاهده مـی شـود، یافته ها نشان می دهند که بیشترین مقدار اثر مهاری نعنا بر چرخه ی تکثیر ویروس سرخک، مربوط به یک سـاعت اول پس از زمان جذب ویـروس و میـزان کـاهش عفونـت زایی در حدود ۵۰ درصد اسـت و در سـاعت هـای بعـدی تأثیر قابل ملاحظه ای بر تکثیر ویـروس مشـاهده نگردیـد The term half maximal effective concentration $EC50 = 500\ ^{\mu g}/_{ml}$.



نمودار۲: تأثیر غلظت مؤثر Nepeta pungens در زمان های مختلف بر سیکل تکثیر ویروس سرخک

بحث

همانگونه که شاهد هستیم داروهای شیمیایی ضد ویروسـی حاضر به علت اثـر بخشـی درمـانی محـدود، سـمیت و عـوارض ناخواسته بالا و پیـدایش مقاومـت دارویـی، ایجـاد نگرانـی هـای زیادی کرده اند (۱۱). گسترش شیمی درمانی علیـه ویـروس هـا همواره مد نظر محققان بوده است. ولی محدودیت هایی در ایـن زمینه وجود دارد که مانع از پیشـرفت شـیمی درمـانی علیـه ویروس ها شده است. از جمله ی ایـن موانـع ایـن اسـت کـه

www.SID.ir

Archive of SID

ویروس ها به صورت داخل سلولی همانند سازی می کنند. بنابراین ترکیبات مفید ضد ویروسی باید بین فعالیت های ویروس و میزبان با درجه ی اختصاصیت بالایی افتراق قائل شوند تا حداقل آسیب را به سلول های میزبان وارد کنند. در طی کوشش های اخیر برای یافتن موادی با خواص ضد ویروسی برای کاهش عوارض ناخواسته و بروز ویروس های مقاوم، گیاهان مورد توجه خاصی قرار گرفته اند (۱۲,۱۳). به عنوان مثال در طب یونان عصاره ی گیاه بادرنجبویه به صورت خوراکی برای درمان ویروس آنفلوانزا و هرپس سیمپلکس مورد استفاده قرار می گرفت (۱۴). همچنین عصاره ی گیاه ماژروم نیز دارای توانایی بسیار مؤثری علیه ویروس هرپس سیمپلکس دارا می باشد. Nepeta های مختلف یا به اصطلاح Catnip ها همیشه به عنوان مسکن های گیاهی مطرح بوده‌اند (۱۹,۲۰,۲۱). به طوری که به عنوان تسکین دهنده ی اضطراب، داروی ضد سرماخوردگی، آنفلوانزا و تب بر در کودکان به کار می‌رفته‌اند (۱۷,۱۸).

در سال ۱۹۷۴، ماده‌ای به نام Nepeta Lactone که نوعی terpene می‌باشد از گیاه استخراج شد که آثار درمانی آن را به احتمال زیاد در بر می‌گیرد. به دلیل عدم وجود مطالعات گسترده و عمیق بر روی screening آثار ضد ویروسی عصاره های گیاهی و ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان دارویی در کشورمان، ارزش چنین مطالعاتی را دو چندان می نماید و لازم به ذکر است که تحقیقاتی در این خصوص در داخل و خارج کشور در شرایط in vitro صورت نپذیرفته است. به همین منظور بررسی و ارزیابی فعالیت های ضد ویروسی عصاره ی Nepeta جهت دستیابی به روش های جدید درمان عفونت های ویروس سرخک با توجه به نکات ذکر شده، محور اصلی این پژوهش قرار گرفت. ابتدا همان گونه که در مراحل انجام تست مشخص گردید، عصاره ی Nepeta بر روی سلول Vero تا غلظت 500 µg/ml فاقد هر گونه خاصیت سمیت می باشد، ولی درغلظت های بالاتر موجب مرگ سلول می گردد.

نتایج نشان می دهند که این عصاره فاقد خاصیت ویروسیدالی بر روی ویروس سرخک می باشد؛ ولی همین عصاره بر روی ویروس سرخک دارای اثر مهارکنندگی قابل توجهی می باشد. نتایج نشان می دهند غلظت ۵۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر عصاره بیشترین اثر مهاری را نشان می دهد. این عصاره ی بیشترین اثر ضد ویروسی خود را احتمالاً بر روی اختلال در مراحل جذب و یا تداخل در بروز ژن های آلفا ویروس سرخک انجام می دهد. این فرضیه به خاطر وجود ترکیبات تانن موجود در گیاه قوت می گیرد. چون اثرات مداخله ای تانن ها در جذب ویروس های مختلف در سلولها ثابت شده است (۱۴,۱۵).

نتیجه گیری

با توجه به این که داروهای شیمیایی ضد ویروسی مورد مصرف در حال حاضر دارای اشکالات عمده ای مانند تعداد و تنوع کم، اندکس درمانی پایین، موارد مصرف بالینی محدود و سمیت بالا هستند و از طرف دیگر داروهای گیاهی دارای عوارض جانبی کم و هزینه پایین می‌باشند، از این رو بررسی و ارزیابی ترکیبات دارویی جدید به منظور دستیابی به روش های نوین درمان ضروری به نظر می رسد و عصاره ی گیاهی Nepeta pungens می تواند کاندید مناسبی جهت تحقیقات بیشتر به منظور دستیابی به عوامل نوین ضد ویروسی باشد. برای مطالعه ی دقیق تر و روشن شدن جزئیات مکانیزم اثر ضد ویروسی عصاره پیشنهاد می شود که در مطالعات بعدی با تکنیک هایی مانند ایمونوبلاتینگ روی پروتئین های مختلف ویروس و یا اندازه‌گیری آنزیم های اختصاصی ویروس، اثر دقیق عصاره روی اجزای مختلف ویروس در مراحل مختلف همانندسازی بررسی شود. هم چنین با جداسازی مواد متشکله گیاهان می توان آثار ضد ویروس هر کدام را به طور مجزا مورد بررسی قرار داد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی تهران در قالب یک طرح تحقیقاتی انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تشکر خود را ابراز می دارند.

www.SID.ir

Archive of SID

References:

1- Knipe D M, Howley P M. Fields Vifology. 4th ed. U.S.A: Lipincott. Raven Publishers, 2001: 1401-1441.

2- Uckerman A J, Banatvala J E, Pattison J R. Principles and Practice of Clinical Virology, 4th ed. U.S.A: John Wiley and Sons, 2000: 377-387.

3- Belsh R. Text book of human virology. 2th ed. U.S.A: Mosby INC, 1991: 432-450.

4- Dagna S L, Stuart E S. Resistance to antivirals. Antimic Res Ped 1995; 42(3): 583–599.

5- Zargari A. Medicinal Plants. Vol 4. Tehran: University Publications of Tehran, 1990: 28-38.

6- Vanden Berghe DA, Vlietinick AJ. Plant products as potential antiviral agents. Bull Inst Pasteur 1986; 84: 101-105.

7- Hayashi K, Hayashi T, Morita N. Mechanism of action of the antiherpesvirus biflavone ginketin. Antimicrob Agents Chemother 1992 ; 36 : 1890-1893.

8- Hayashi K, Hayashi T, Otsuka H. Antiviral activity of 5,6,7 -trimethoxyflavone and its potentiation of the antiherpes activity of acyclovir. J Antimicrob Chemother 1997; 39: 821-824.

9- 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.

10- Sydiskis RJ, Owen DG, Lohr JL, Rosler KH, Blomster RN. Inactivation of enveloped viruses by anthraquinones extracted from plants. Antimicrob. Agents Chenother 1991; 35: 2463-2466.

11- Field AK, Biron KK. The end of innocerice revisited: resistance of herpesvirus to antiviral drugs. Clin Microbiol Rev 1994; 7: 1-13.

12- Vlietinck AJ, Vanden Berghe DA. Can ethnopharmacology contribute to the development of antiviral drugs? J Ethnopharmacol 1991; 32: 141-53.

13- Cragg GM, Newman DJ, Snader KM. Natural products in drug discovery and development. J Nat Prod 1997; 60: 52-60.

14- Kucera LS, Herrmann EC. Antiviral substances in plants of the mint family (Labiatae). I. Tannin of Melissa officinalis. Proc Soc Exp Biol Med 1967; 124: 865–869.

15- Auf'Mkolk M, Ingbar JC, Kubota K, et al. Extracts and auto-oxidized constituents of certain plants inhibit the receptor-binding and the biological activity of Graves' immunoglobulins. Endocrinol 1985; 116: 1687–1693.

16- Mahy B W J, Kangro H O. Virology Methods Manual. London, New York, Academic Press, 1996: 35–37.

17- Aydin S, Beis R, Ozturk Y, Baser KHC. Nepetalactone- a new opioid analgesic from Nepeta caesarea Boiss. J Pharm Pharmacol 1998; 50: 813-817.

18- Skaltsa HD, Lazari DM, Loukis AE, Constantinidis T. Essential oil analysis of Nepeta argolica Bory & Chaub. Subsp. argolica (Lamiaceae) growing wild in Greece. Flavour Fragr J 2000; 15: 96-99.

19- Tzakou O, Harvala C, Galati EM, Sanogo R. Essential oil composition of Nepeta argolica Bory et Chaub. Subsp. argolica. Flavour Fragr J; 2000; 15: 115-118.

20- Rapisarda A, Galati EM, Tzakou O, Flores M, Miceli N. Nepeta sibthorpii Bentham (Lamiaceae)-micromorphological analysis of leaves and flowers. Il Pharmaco 2001; 56: 413-415.

21- Zargari A. Medicinal Plants. Vol 4. Tehran: University Publications of Tehran, 1990: 106-112.

www.SID.ir

Archive of SID

The Effects of the Anti-viral (Nepeta Pungens) on Measles Virus in Laboratory Environment

Seyed Hamid Reza Monavari[1], Mahmoud Shamsi Shahrabadi[2], Rouholah Vahabpour[3] and Mehrshad Azizi[4]

Abstract

Background and Aim: The chemical anti-viral drugs used nowadays have some main problems such as low number and type, low therapeutic index, limited clinical use and high toxicity. So, it seems essential to investigate and evaluate new pharmaceutical compounds for achieving new treatment methods. The main goal of this research is to study the effect of juice of Nepeta pungens on the measles virus replication cycle.

Materials and Methods: This study was an experimental one in which initially the toxicity of Nepeta pungens on vero cells was investigated. Then, its anti-viral effects in the concentration range less than toxicity were evaluated through Tissue Culture Infection Dose 50 ($TCLD_{50}$) method.

Results: The results showed that the juice of mint has a controlling effect on the measles virus replication. The results, also, indicated that the most effect of anti-viral the juice of Nepeta pungens was observed in the early stages of the virus replication cycle.

Conclusion: The juice of Nepeta pungens can be the suitable choice for further research to achieve new anti-viral factors.

Keywords: Anti-viral, measles virus, mint, $TCLD_{50}$

Ofogh-e-Danesh. GMUHS Journal. 2011; Vol. 17, No. 1

1- **Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Virology, School of Medicine, Research Center of Microbial Resistance, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Tel: +98 21 88602205 **Fax:** +98 21 88602205 **E-mail:** hrmonavari@yahoo.com
2- Lecturer, Department of Virology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- MSc in Virology, Department of Virology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Public Health Expert, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

www.SID.ir