

## بررسی اثر ضد ویروسی اسانس آویشن شیرازی علیه ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک در کشت سلولی Vero

مریم مردانی<sup>\*</sup>، محمد معتمدی فر<sup>\*\*</sup>، راضیه حسینی پور<sup>\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup> استادیار گروه بیماری‌های دهان، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز، شیراز، ایران  
<sup>\*\*</sup> دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی و عضو مرکز تحقیقات HIV/AIDS، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز، شیراز، ایران  
<sup>\*\*\*</sup> دندانپزشک

### چکیده

**بیان مساله:** ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک (Herpes simplex type-1)، عامل عوارض متعددی در نقاط گوناگون بدن همچون دهان است. یکی از داروهایی که برای درمان عفونت‌های هرپسی به کار می‌رود، آسیکلوویر است. امروزه به دلیل افزایش موتان‌های ویروسی بدون آنزیم تیمیدین کیناز مقاومت این ویروس‌ها نسبت به این دارو رو به افزایش است، در نتیجه نیاز به یافتن راه‌حل‌های درمانی جایگزین احساس می‌شود.

**هدف:** هدف از این پژوهش، بررسی اثر ضد ویروسی اسانس آویشن شیرازی علیه ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک بود.

**مواد و روش:** در این پژوهش، اسانس آویشن شیرازی توسط دستگاه کلونجر فراهم و از کشت سلولی Vero برای انجام آزمایش‌ها استفاده گردید. در آغاز، آزمایش سیتوتوکسیسیته‌ی اسانس در غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۱ درصد روی سلول‌های Vero انجام شد. سپس اثر ضد ویروسی اسانس به روش بررسی کاهش پلاک در غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۲ ارزیابی گردید. واکاوی‌های آماری با کمک نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۷) انجام شد.

**یافته‌ها:** یافته‌ها نشان داد که غلظتی از اسانس که سبب تخریب ۵۰ درصد سلول‌های Vero گردید (CC50)، برابر ۰/۰۶۷۶ و غلظتی از اسانس که باعث ۵۰ درصد ممانعت در بروز پلاک ویروسی شد (IC50)، برابر ۰/۰۰۵۹ درصد بود. همه‌ی غلظت‌ها نسبت به گروه شاهد، بهتر توانستند سبب مهار پلاک ویروسی شوند ( $p < 0/05$ ). همچنین، اسانس مورد آزمایش در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۰۲ درصد توانست ویروس را ۱۰۰ درصد مهار کند.

**نتیجه‌گیری:** به گونه‌ی کلی یافته‌های این پژوهش بیانگر اثر بازدارندگی معنادار اسانس آویشن شیرازی روی تکثیر ویروس HSV-1 بود و می‌توان از آن به عنوان یک کاندیدای دهانشویه‌ی گیاهی، برای مهار این ویروس استفاده نمود. البته پیش از آن انجام آزمایش‌های درون دهانی نیز برای بررسی توانایی سمی آن برای مصرف کننده‌ی انسانی ضروری به نظر می‌رسد.

**واژگان کلیدی:** هرپس سیمپلکس تیپ یک، آویشن شیرازی، اسانس، کشت سلولی

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۲/۴، تاریخ پذیرش مقاله: ۹۰/۱۲/۲، J Dent Shiraz Univ Med Sci J 2012; Supplement: 414-420، مقاله‌ی پژوهشی اصیل

نویسنده‌ی مسوول مکاتبات: محمد معتمدی فر. شیراز، خیابان زند، دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز، گروه میکروبیولوژی  
تلفن و دورنگار: ۰۷۱۱-۲۳۰۴۳۵۶، پست الکترونیک: motamedm@sums.ac.ir

## درآمد

ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک (HSV-1)، از خانواده‌ی هرپس ویریده و زیر خانواده‌ی آلفا هرپس ویرینه است. DNA این ویروس دو رشته‌ای، خطی و به صورت مارپیچی است<sup>(۱)</sup>. این ویروس عامل اتیولوژیک بیماری‌های گوناگونی بوده و به گونه‌ی کلی نواحی بالای کمر را درگیر می‌کند<sup>(۲)</sup>. عفونت اولیه به دلیل تماس پوست، مخاط و چشم با ترشحات آلوده به این ویروس رخ می‌دهد. این ویروس در بیشتر موارد تمایل دارد پس از ایجاد عفونت آغازین، در گانگلیون‌های حسی به صورت نهفته باقی بماند<sup>(۳)</sup> و می‌تواند بر اثر عواملی همچون نور خورشید، ضربه، فشار، تب و عوامل هورمونی تحریک شده و از حالت خفتگی بیرون آمده و دوباره فعال شود<sup>(۳)</sup>. این ویروس بیشتر باعث ایجاد زخم‌هایی در پیرامون دهان، التهاب قرنیه و ملتحمه و انسفالیت می‌شود<sup>(۳)</sup>. یکی از داروهایی که برای درمان آسیب‌های به دست آمده از این ویروس به کار می‌رود، آسیکلوویر است. این دارو توسط تیمیدین کیناز ویروسی فعال می‌شود و سپس سبب مهار DNA پلی مرز ویروسی شده و از تکثیر ویروس در سلول‌های آلوده جلوگیری می‌کند. امروزه به دلیل افزایش موتان‌های ویروسی بدون این آنزیم مقاومت نسبت به آن، به ویژه در افراد دارای نقص سیستم ایمنی رو به افزایش است<sup>(۴)</sup>، در نتیجه پژوهشگران در تلاش هستند که از داروهای دیگری برای درمان عفونت‌های هرپسی استفاده کنند. امروزه داروهای گیاهی به دلیل داشتن عوارض جانبی کمتر و هزینه‌ی پایین‌تر مورد توجه واقع شده‌اند. گیاه آویشن شیرازی یا آویشن برگ پهن (*Zataria multiflora* Boiss) متعلق به خانواده‌ی نعناع (Labiatae) بوده و انتشار عمومی آن در ایران، افغانستان و پاکستان است. آویشن برای تقویت اعصاب، درمان افسردگی، خستگی و بی‌خوابی مفید بوده و همچنین نشاط‌آور است. این گیاه دارای خاصیت ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد انگلی بوده و مصرف آن به صورت جوشانده برای رفع تنگی نفس، برونشیت، سرفه، ناهنجاری‌های گوارشی، سیاه سرفه، سرگیجه، سردرد و زکام پیشنهاد می‌شود<sup>(۳)</sup>. تاکنون به صورت سیستماتیک اثر ضد ویروس اسانس آویشن شیرازی بر ویروس‌ها بررسی نگردیده، هر چند که در پژوهشی محدود، اثر ضد ویروسی اسانس آویشن بر ویروس هرپس تنها بررسی گردیده، ولی گزارش دقیقی از کمیت و کیفیت این تاثیر مشخص نشده است<sup>(۴)</sup>. بنابراین، در این پژوهش

با توجه به خواص فراوان آویشن شیرازی در کتاب‌های گیاهان دارویی، فعالیت ضد ویروسی آن روی HSV-1 ارزیابی گردید.

## مواد و روش

در این پژوهش تجربی، پس از گردآوری گیاه آویشن شیرازی در اوایل اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۹ از ارتفاعات کوه شهر واقع در ۱۵ کیلومتری جنوب شرق شهرستان گچساران و تایید نام علمی آن در بخش هرباریوم دانشکده‌ی علوم و تهیه‌ی نمونه‌ی هرباریومی به شماره‌ی ۲۴۹۸۶ برای این گیاه، اسانس‌گیری انجام شد. برای تهیه‌ی اسانس، بیشتر از بخش‌های برگ، گل و تا حدودی از ساقه‌های باریک آن استفاده گردید. پس از خشک کردن گیاه، آن را پودر کرده و به ازای هر ۱۰۰ گرم پودر آویشن، ۶۰۰ سی‌سی آب اضافه و به روش تقطیر با آب، در دستگاهی به نام کلونجر (Clevenger) قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، آبگیری انجام گردید و ۶ سی‌سی اسانس به دست آمد<sup>(۵)</sup>.

در این پژوهش، از کشت پیپای سلول‌های Vero (فیروبلست کلیه‌ی میمون سبز آفریقایی) در محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) که دارای ۷ درصد سرم جنین گوساله (محیط رشد)، ۰/۱۴ درصد بیکربنات سدیم، ۱۰۰ U/mL واحد در میلی لیتر پنی‌سیلین، ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر (μg/mL) سولفات استرپتومایسین و ۰/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر آمفوتریسین B بود، استفاده گردید<sup>(۶)</sup>. فلاسک دارای سلول‌های Vero موجود در محیط کشت DMEM در آنکوباتور که دارای شرایط دمایی ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و دی اکسید کربن ۵ درصد بود، قرار داده شد. پس از تشکیل تک لایه‌ی سلولی کامل بر روی بدنه‌ی فلاسک، محیط کشت از فلاسک بیرون آورده و تک لایه‌ی سلولی موجود روی بدنه‌ی فلاسک به وسیله‌ی فسفات بافر سالین (PBS) شست و شو داده شد. سپس یک سی‌سی از محلول تریپسین-ورسین جهت جداسازی سلول‌های Vero از یکدیگر به تک لایه‌ی سلولی افزوده گردید. سلول‌های Vero جدا شده و در محیط تازه‌ی DMEM به شیوه‌ی رقیق گردیدند که شمار آنها به میزان  $2 \times 10^5$  سلول در هر میلی لیتر از محیط DMEM شود.

برای تعیین اثر سیتوتوکسیسیته‌ی اسانس آویشن روی سلول‌های Vero، در آغاز مقدار یک سی‌سی از سوسپانسیون سلول‌های Vero به هر حفره از پلیت ۲۴ حفره‌ای اضافه گردید و

## جدول ۱ سیتوتوکسیسیته غلظت‌های گوناگون اسانس آویشن شیرازی بر سلول‌های Vero

غلظت‌ها	یک درصد	۰/۵ درصد	۰/۲۵ درصد	۰/۱ درصد	۰/۰۵ درصد	۰/۰۱ درصد	۰/۰۰۱ درصد	شاهد
درصد سلول‌های زنده	صفر	صفر	۰/۳۷	۰/۸۸	۷۶/۷۶	۹۶/۱۳	۹۹/۸۴	۱۰۰
درصد سلول‌های مرده	درصد	درصد	۹۹/۶۲	۹۹/۱۲	۲۳/۲۳	۳/۸۷	۰/۱۶	صفر

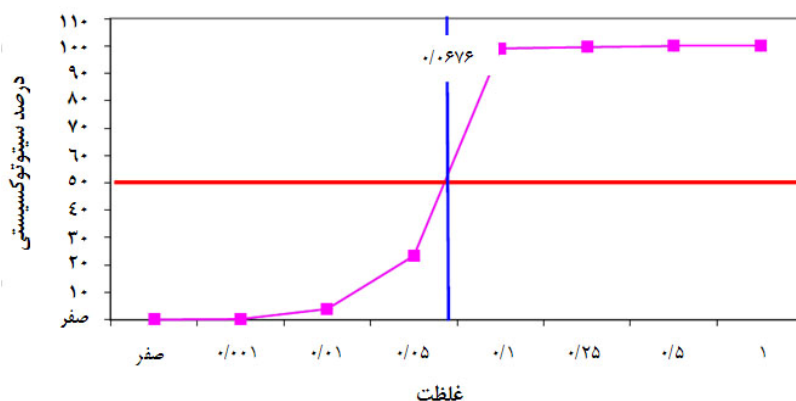
پلیت در انکوباتور قرار داده شد. طی دو روز سلول‌های Vero در این محیط کشت رشد کرده و دوباره تک لایه‌ی سلولی را تشکیل دادند. سپس، محیط کشت از روی حفره‌های پلیت بیرون آورده و تک لایه‌ی سلولی موجود در کف حفره‌ها توسط PBS شست و شو داده شد. در مرحله‌ی بعد، یک سی‌سی محیط نگهداری کشت سلول دارای ۲ درصد سرم جنین گوساله که دارای غلظت‌های افزایش‌یافته از اسانس (۰/۰۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد) بود، به هر یک از حفره‌های کشت سلولی افزوده گردید و برای هر غلظت یک ردیف از پلیت در نظر گرفته شد. یک ردیف نیز به عنوان گروه شاهد بود که شامل حفره‌های کشت سلولی دارای محیط نگهداری بدون اسانس بود. در مرحله‌ی بعد شمارش سلول‌های زنده‌ی Vero زیر میکروسکوپ معکوس با روش از میان بردن رنگ تریپان بلو انجام گرفت<sup>(۶)</sup>. سپس بر پایه‌ی آن درصد سلول‌های مرده (درصد سیتوتوکسیسیته) برای هر غلظت و گروه شاهد به دست آمد و پس از آن، CC50 غلظتی از اسانس که در حضور آن ۵۰ درصد سلول‌های Vero مرده باشند با استفاده از منحنی رگرسیون ارزیابی گردید.

در مرحله‌ی بعد برای بررسی اثر ضد ویروسی اسانس آویشن از روش بررسی کاهش پلاک (Plaque reduction assay) استفاده شد<sup>(۶)</sup>. به این گونه که مقدار یک سی‌سی از سوسپانسیون سلول‌های Vero به هر حفره از پلیت ۲۴ حفره‌ای اضافه گردید و پلیت در انکوباتور قرار داده شد. پس از تشکیل تک لایه‌ی سلولی بیرون آورده و تک لایه‌ی سلولی موجود در کف حفره‌های پلیت، توسط PBS شست و شو داده شد. پس از آن، یک سی‌سی محیط نگهداری دارای ۲ درصد سرم که دارای غلظت‌های افزایش‌یافته از اسانس (۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۰۵ درصد) بود به هر یک از حفره‌های کشت سلولی افزوده گردید و برای هر غلظت یک ردیف چهار حفره‌ای از پلیت در نظر گرفته و پلیت در انکوباتور قرار داده شد. سپس، اسانس از روی حفره‌های پلیت بیرون آورده شد و مقدار ۲۰۰ میکرولیتر ویروس HSV-۱ دارای ۵۰ پلاک ویروسی به هر یک از حفره‌ها اضافه گردید و پلیت به مدت یک

ساعت در انکوباتور قرار گرفت. پس از آن، محیط نگهداری دارای ۱ درصد کربوکسی متیل سلولز که دارای غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۰۵ درصد از اسانس بود به حفره‌های کشت سلولی اضافه گردید. یک ردیف نیز به عنوان گروه شاهد بود که شامل حفره‌های کشت سلولی بدون اسانس بودند. پلیت به مدت چهار روز در انکوباتور قرار گرفت. سپس محتوای هر حفره با متانول ثابت شده و با کریستال یولت ۰/۵ درصد به مدت یک دقیقه رنگ‌آمیزی گردید. پس از آن شمار پلاک‌های ویروسی تشکیل شده در هر حفره‌ی آزمایش و نیز شمار پلاک‌های ویروسی تشکیل شده در حفره‌های گروه شاهد شمارش گردیدند. سپس، میانگین و انحراف معیار شمار پلاک‌های ویروسی برای هر غلظت و گروه شاهد ارزیابی شد و بر پایه‌ی آن میانگین درصد مهار پلاک ویروسی برای هر غلظت و گروه شاهد به دست آمد. سپس IC50 غلظتی از اسانس که سبب ۵۰ درصد ممانعت در بروز پلاک ویروسی باشد، با ترسیم منحنی رگرسیون ارزیابی گردید<sup>(۷)</sup>. واکاوی‌های آماری با استفاده از آزمون واریانس یک سویه (ANOVA) و به کمک نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۷) انجام گرفت. همچنین، برای اینکه آشکار شود کدام غلظت یا غلظت‌ها نسبت به گروه شاهد بهتر توانسته‌اند سبب مهار پلاک ویروسی شوند، از آزمون مقایسه‌ی چند گانه به روش LSD استفاده گردید.

## یافته‌ها

در آزمایش سیتوتوکسیسیته‌ی اسانس آویشن آشکار گردید که اسانس در غلظت ۰/۰۰۱ درصد دارای اثر توکسیک بسیار کمی روی سلول‌های Vero است و در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد به گونه‌ی کامل از تکثیر سلول‌های Vero جلوگیری کرده و سبب مرگ این سلول‌ها شده است (جدول ۱). همچنین، CC50 برابر ۰/۰۶۷۶ درصد به دست آمد (نمودار ۱). در آزمایش سنجش پلاک ویروسی، نتایج آزمون مقایسه‌ی چندگانه به روش LSD نشان داد که همه‌ی غلظت‌ها نسبت به گروه شاهد بهتر توانستند سبب مهار پلاک ویروسی شوند ( $p < 0/05$ ).



نمودار ۱ درصد سیتوتوکسیسیته در غلظت‌های گوناگون اسانس آویشن

دستیابی به داروهای تازه جهت درمان عفونت‌های هرپسی احساس می‌شود.

با توجه به خاصیت‌های فراوان آویشن شیرازی در کتاب‌های گیاهان دارویی، همچون خاصیت ضد میکروبی آن ارزیابی فعالیت ضد ویروسی اسانس این گیاه جهت دستیابی به روش‌های جایگزین درمان عفونت‌های هرپسی محور اصلی این پژوهش قرار گرفت. در پژوهش خانوی و همکاران، سعی شد تا اثر ضد ویروس گیاه آویشن بررسی گردد اما همان‌گونه که توسط پژوهشگران یاد شده تاکید گردیده به دلیل سمیت غلظت‌های بالاتر از 0/001، برای سلول HeLa خواص ضد ویروسی به گونه‌ی کمی و دقیق مشخص نشده است.<sup>(۴)</sup>

اسانس‌ها مخلوطی از اجزای ترپنیک بوده که از اجزای گوناگون گیاهانی همچون دانه، ریشه، جوانه، پوست، شاخه، برگ، غنچه و گل و به روش تقطیر با آب به دست می‌آیند.<sup>(۸)</sup> آشکار شده که این مواد دارای نقش ضد میکروبی هستند. به طور عمده ترکیبات فنلی مسوول خواص ضد میکروبی اسانس‌ها هستند.<sup>(۹)</sup> بنابراین، هر چه مقادیر مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضد میکروبی آنها بیشتر خواهد بود. این مواد همچون کارواکرول، اوژنول و تیمول هستند.<sup>(۹، ۱۰)</sup> همچنین ثابت شده که واکنش اجزای اسانس با یکدیگر نقشی مهم در تعیین اثر ضد میکروبی گیاه بازی می‌کند. تیمول و کارواکرول دارای اثرات سینرژیک هستند.<sup>(۱۱)</sup>

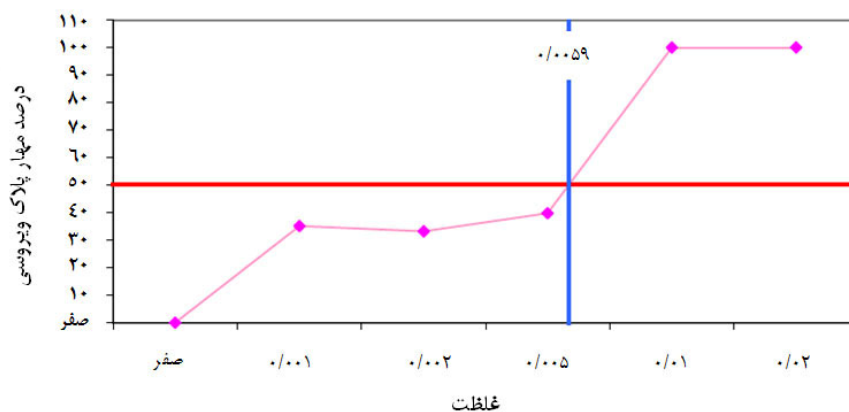
نتایج نشان داد که اثر مهار پلاک ویروسی توسط اسانس آویشن دارای الگوی وابسته به دوز بوده یعنی با افزایش غلظت اسانس، اثر مهار کنندگی افزایش می‌یابد، به گونه‌ای که در غلظت‌های 0/01 و 0/02 درصد، مهار رشد پلاک به 100 درصد رسید. آزمایش‌ها دو بار تکرار گردید و میانگین و انحراف معیار به دست آمد (جدول ۲). البته در مقایسه‌ای که میان غلظت‌های 0/001 و 0/002 درصد انجام گرفت مشخص شد که از نظر مهار پلاک ویروسی با یکدیگر تفاوت معنادار ندارند ( $p < 0/05$ ). در آزمایش سنجش پلاک ویروسی نیز، IC50 برابر 0/0059 درصد به دست آمد (نمودار ۲). در این آزمایش نمایه‌ی درمانی اسانس آویشن برابر 11/5 گزارش گردید.

## بحث

ویروس HSV-1 یکی از شایع‌ترین و واگیرترین ویروس‌های بیماری‌زا در انسان است که از راه تماس فرد با ترشحات آلوده به این ویروس منتقل می‌گردد. عفونت به طور معمول به صورت تاول‌های مجتمع و دسته‌ای بر روی پوست یا غشاهای مخاطی و یا به شکل التهاب لثه‌ها و حلق دیده می‌شود. آسیکلوویر یکی از داروهایی است که برای درمان عفونت‌های هرپسی به کار می‌رود. در چند سال گذشته به دنبال درمان‌های دراز مدت با آسیکلوویر، گزارش‌هایی در مورد پیدایش موتان‌های ویروسی مقاوم به این دارو دیده شده است.<sup>(۳)</sup> در نتیجه نیاز به

جدول ۲ درصد مهار پلاک ویروسی در غلظت‌های گوناگون اسانس آویشن شیرازی

غلظت‌ها	درصد 0/02	درصد 0/01	درصد 0/005	درصد 0/002	درصد 0/001	شاهد
میانگین $\pm$ انحراف معیار	صفر	صفر	22/75 $\pm$ 0/479	25/25 $\pm$ 1/109	24/50 $\pm$ 0/957	27/75 $\pm$ 0/854
درصد مهار پلاک ویروسی	100	100	39/74	33/11	25/10	صفر



نمودار ۲ درصد مهبلاک ویروسی در غلظت‌های گوناگون اسانس آویشن

محدود هستند که تنها در این زمینه می‌توان به یک مورد اشاره کرد. در بررسی خانوی و همکاران، پژوهشگران سعی در بررسی اثر ضد ویروس اسانس بر ویروس HSV داشتند که با توجه به اثر سمی بیشتر از حد اسانس یاد شده بر سلول مورد استفاده جهت کشت ویروس HSV (HeLa) نتایج کیفی و کمی دقیقی آشکار نگردیده است، بنابراین، بررسی کنونی نخستین مورد در رابطه با اثر ضد ویروس HSV-1 اسانس آویشن شیرازی است. تاکنون ساز و کار دقیق فعالیت ضد ویروسی اسانس آویشن بررسی نشده ولی به نظر می‌رسد که ترکیبات فنلی موجود در اسانس آویشن با ایجاد ناهنجاری در ساختار و کارکرد پروتئین‌های غشای سلول‌های Vero و یا انولوپ HSV-1 سبب جلوگیری از اتصال و نفوذ این ویروس به سلول‌ها شده‌اند.

### نتیجه‌گیری

با توجه به بررسی انجام شده، اسانس آویشن شیرازی دارای اثر بازدارندگی معنادار بر روی HSV-1 است و بنابراین می‌تواند به عنوان آنتی HSV-1 در چارچوب یک دهانشویه گیاهی، جایگزین ترکیبات درمانی کلاسیک که ویروس ممکن است به آنها مقاوم گردد، قرار گیرد. گر چه پیش از آن انجام آزمایش‌های درون دهانی در حیوان‌های آزمایشگاهی برای اطمینان از خصوصیات دارویی و توانایی سمی این اسانس در بدن مصرف‌کننده انسانی ضروری به نظر می‌رسد.

با توجه به گسترش رویشگاه‌های آویشن شیرازی در ایران و متفاوت بودن درصد ترکیبات این گیاه در یک منطقه با منطقه‌ای دیگر، برای بررسی دقیق‌تر اثر آنتی HSV-1 اسانس آویشن لازم است که در آغاز درصد همه‌ی اجزای موجود در آن

گرچه هیچ پژوهش سازمان یافته‌ای در بیرون از کشور در مورد اثر ضد ویروسی اسانس آویشن شیرازی انجام نگرفته ولی پژوهش‌های گوناگونی برای شناسایی ترکیبات موجود در اسانس این گیاه انجام گرفته است. میزان تیمول و کارواکرول در بررسی جاویدنیا و همکاران، به ترتیب ۲۵/۱۸ و ۶۱/۲۹ درصد<sup>(۱۲)</sup>، در پژوهش صادق‌زاده و همکاران، به ترتیب ۵۲/۴ و ۶/۱ درصد<sup>(۱۳)</sup> و در بررسی شریفی‌فر و همکاران، به ترتیب ۳۷/۵۹ و ۳۳/۶۵ درصد دست آمد<sup>(۱۴)</sup>.

ترکیب اسانس به دست آمده از یک گونه‌ی خاص گیاهی بر پایه‌ی جغرافیای منطقه، فصل برداشت، سن گیاه، عملیات کشاورزی، فاصله‌ی میان گیاهان کاشته شده و مرحله‌ی رشد متفاوت است. برای نمونه، اسانس به دست آمده از گیاه جوان به مراتب بیشتر از گیاه مسن است. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که در آویشن بیشترین میزان تیمول در آغاز گل دهی، در گیاهانی بود که در فاصله‌ی ۴۵ سانتی‌متری از یکدیگر کشت شده بودند. به گونه‌ی کلی اسانس در گیاه در طی گل دهی و یا بی‌درنگ پس از گل دهی دارای قوی‌ترین فعالیت ضد میکروبی است. ترکیب اسانس به دست آمده از بخش‌های گوناگون گیاه نیز می‌تواند به گونه‌ی چشمگیر متفاوت باشد<sup>(۹، ۱۷-۱۵)</sup>.

اثر قوی ضد میکروبی کارواکرول توسط پژوهشگران گوناگون نشان داده شده است<sup>(۱۰، ۱۱، ۱۹)</sup>. کارواکرول با غشای سلولی از طریق تغییر در نفوذپذیری کانال‌های  $H^+/K^+$  واکنش نشان می‌دهد و باعث ایجاد ناهنجاری در کارکرد غشای سلولی می‌شود<sup>(۲۰)</sup>. نتایج بررسی کنونی بر تاثیر ضد HSV-1 اسانس آویشن در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۰۲ درصد دلالت می‌کند. بررسی‌های همانند در کشور و حتی در بیرون از کشور بسیار

علوم پزشکی شیراز که این بررسی با پشتیبانی مالی آن معاونت انجام شده، سپاسگزاری می‌گردد. همچنین، از کمک‌های آقای پدرام طالعزاده شیرازی در انجام کارهای آزمایشگاهی قدردانی می‌شود.

### قابل توجه

این پژوهش از پایان نامه‌ی دوره‌ی دکترای عمومی دندانپزشکی، که به راهنمایی دکتر مریم مردانی، مشاوره‌ی دکتر محمد معتمدی‌فر و نگارش دکتر راضیه حسینی‌پور، به شماره‌ی ۱۳۹۱ در کتابخانه‌ی دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز ثبت شده، استخراج گردیده است.

شناسایی گردیده و سپس این ترکیبات به گونه‌ی جداگانه و با حفظ شرایط کشت سلولی مناسب روی این ویروس اثر داده شوند. همچنین با توجه به اهمیت ویروس ۱-HSV و شیوع گسترده‌ی آن در دنیا پژوهشگران همواره به دنبال یافتن ترکیبات دارویی نوین با کمترین اثرات جانبی علیه این ویروس هستند، از این رو برای مقایسه‌ی بهتر اثر گیاهان گوناگون بر این ویروس پیشنهاد می‌شود تا به گونه‌ی همزمان و تحت شرایط یکسان نتایج این بررسی‌ها مقایسه شود.

### سپاسگزاری

به این وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه

\*\*\*\*\*

### References

1. Geo F, Butel JS, Morse AM, Jawetz E, Melnick J, Adelberg's E. Medical microbiology, 24th ed., USA: Mcgraw Hill; 2007. p. 428-437.
2. Martin S, Greenburg M. Burket's oral medicine. 11th ed., USA: BC Decker Inc; 2008. p. 42-46.
3. شهر باغبانی: شناخت گیاهان دارویی: Available at: <http://www.horticulturecity.mihanblog.com/post/category/7>
4. Khanavi M, Norouzi M, Tabatabaee H, Noudeh AS, Safavi SB, Shafiee A. Chemical compositions and antiviral effects of the essential oil of Zataria multiflora Boiss. and Origanum majorana L. J Med Plant 2010; 9: 128-137.
5. Mann J, Davidson RS, Hobbs JB, Banthorpe DV, Harborne JB. Natural Products: Their Chemistry and Biological Significance. Longman Group UK Limited: U.K; 1994. p. 289-359.
6. Motamedifar M, Ghafari N, Talezadeh Shirazi P. The Effect of Cumin Seed Extracts against Herpes Simplex Virus Type 1 in Vero Cell Culture. Iran J Med Scien 2010; 35: 304-309.
7. George VJ, Hierholzer JC. Cell culture In: Mahy BWJ, Kangro HO, editors. Virology methods manual. Glasgow: Academic press; 1996. p. 3-25.
8. Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on Penicillium digitatum. J Agric Food Chem 2000; 48: 2576-2581.
9. Bart S. Essentialoils: their antibacterial propertied and potential application in foods-a review. Int Food Microbiol 2004; 94: 223-253.
10. Bagamboula CF, Uyttendaeleand M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards Shigella sonnei and S. flexneri. Food Microbio 2004; 21: 33-42.
11. Didry N, Dubreuil L, Pinkas M. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. Pharm Acta Helv 1994; 69: 25-28.
12. Shafiee A, Javidnia K. Composition of essential oil of Zataria multiflora. Planta Med 1997; 63: 371-372.

13. Saei-Dehkordi SS, Tajik H, Moradi M, Khalighi-Sigaroodi F. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. From different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 1562-1567.
14. Sharififar F, Moshafi MH, Mansouri SH, Khodashenas M, Khoshnoodi M. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control* 2007; 18: 800-805.
15. Bani NH, Yazdani D, Ali SM, Nazari F. Effect of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in *Thymus vulgaris*. *Industrial crops and products* 2004; 19: 231-236.
16. Delaquis PJ, Stanich K, Girard B, Mazza G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int J Food Microbiol* 2002; 74: 101-109.
17. Hudaib M, Speroni E, Di Pietra AM, Cavrini V. GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. *J Pharm Biomed Anal* 2002; 29: 691-700.
18. Bouchra C, Achouri M, Idrissi Hassani LM, Hmamouchi M. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. *J Ethnopharmacol* 2003; 89: 165-169.
19. Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J, Remmal A. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Braz J Infect Dis* 2004; 8: 217-226.
20. Ultee A, Kets EP, Smid EJ. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 4606-4610.