

بررسی خاصیت ضد هرپسی عصاره ریشه گیاه جعفری مکزیکی علیه ویروس های هرپس سیمپلکس تیپ یک و دو انسانی در کشت سلول

امیر قائمی^۱، محمد فرشاد مقدم^۲، دکتر حوریه سلیمانجاهی^{۳*}، دکتر رضا امیدییگی^۴، دکتر طراوت بامداد^۵، داود حکمت پو^۶، کسری حمدی^۶

۱- دانشجوی دکتری ویروس شناسی دانشگاه تربیت مدرس، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان

۲- دانشجوی دکتری کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

۳- استادیار، عضو هیئت علمی گروه ویروس شناسی دانشگاه تربیت مدرس

۴- استاد، عضو هیئت علمی گروه کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

۵- دانشجوی دکتری پرستاری دانشگاه تربیت مدرس، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی اراک

۶- کارشناس ارشد میکروب شناسی

تاریخ دریافت ۸۵/۶/۲۷، تاریخ پذیرش ۸۵/۱۲/۱۶

چکیده

مقدمه: عوارض ناشی از داروهای شیمیایی منجر به گرایش به سمت داروهای طبیعی شده است که عوارض جانبی کمتری دارند. در این مطالعه اثر ضد ویروسی عصاره به دست آمده از ریشه جعفری مکزیکی بر علیه ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک و دو انسانی بررسی شد.

روش کار: این پژوهش یک مطالعه تجربی است. برای انجام آن عصاره الکلی از ریشه های این گیاه به روش مسراسیون تهیه و در شرایط خلاء تغلیظ شد. سلول Vero در محیط کشت DMEM حاوی ۵ درصد سرم جنین گوساله کشت داده شد. بعد از تهیه بذر ویروس و تعیین عیار آن، رقت های مختلف عصاره (۱/۱۶، ۱/۸، ۱/۴، ۱/۲، ۱/۱) با ویروس با عیار مشخص مجاور و به محیط کشت سلول اضافه گردید و اثرات ضد ویروسی آن با مقایسه با کنترل های مختلف ارزیابی شد. در تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون مقایسه چندگانه دانکن استفاده شد.

نتایج: یافته ها نشان داد که عصاره به دست آمده از ریشه جعفری مکزیکی به طور معنی داری باعث جلوگیری از تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱ و ۲ انسانی شد. این عصاره، ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۲ را نسبت به تیپ ۱ بهتر کنترل می کند. بررسی بر روی رقت های مختلف عصاره نشان داد که فعالیت ضد ویروسی در رقت های مختلف متفاوت است و بیشترین فعالیت ضد ویروسی بر علیه هر دو ویروس در رقت ۱/۱۰ حاصل گردید.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره به دست آمده از ریشه گیاه جعفری مکزیکی دارای پتانسیل ضد ویروسی خوبی بر علیه ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک و دو انسانی می باشد که می توان از آن به عنوان یک منبع دارویی برای کنترل این بیماری های ویروسی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: هرپس سیمپلکس تیپ یک و دو، جعفری مکزیکی، کشت سلول، عصاره ریشه

*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه ویروس شناسی

E-mail: soleim_h@modares.ac.ir

مقدمه

ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک و دو انسانی از جمله شایع‌ترین و مسری‌ترین ویروس‌های بیماری‌زا در انسان می‌باشد. این ویروس از راه دهان، دستگاه تنفس، تماس مستقیم شخص به شخص، بزاق، تماس جنسی و در زمان عبور نوزاد از کانال زایمان در زنانی که به تیپ یک و دو ویروس در دستگاه تناسلی مبتلا هستند، انتقال می‌یابد. عفونت اولیه معمولاً به صورت تاول‌های مجتمع و دسته‌ای بر روی پوست یا غشاءهای مخاطی ظاهر می‌شود که به شکل التهاب دهان، التهاب لثه‌ها و التهاب حلق نیز مشاهده می‌شود. این ویروس‌ها در نوزادان و افراد دارای نقص در سیستم ایمنی می‌تواند باعث آلودگی کبد، غدد آدرنال، چشم‌ها و به دنبال آن کوری گردد. هم‌چنین با هجوم به سیستم اعصاب مرکزی و مغز باعث بروز آنسفالیت، مننژیت و مرگ می‌شود (۱). برای درمان عفونت‌های هرپس از ویدراین، یدودی اکسی پوریدین و آسیکلوویر استفاده می‌شود (۲). در چند سال اخیر به دنبال درمان‌های طولانی مدت با آسیکلوویر، گزارش‌هایی در مورد پیدایش موتانت‌های مقاوم به دارو ایجاد شده است. موتانت‌های فاقد آنزیم تیمیدین کیناز که محل اصلی اثر دارو است از بیمارانی که اختلال سیستم ایمنی داشته‌اند، جدا شده است و ممکن است در سال‌های آینده به صورت یک مشکل مهم تظاهر کند (۳). هم‌چنین آثار نامطلوبی به صورت نارسایی کلیوی نیز به دلیل استفاده از ویدراین و آسیکلوویر دیده شده است (۲، ۴).

با توجه به موارد ذکر شده نیاز به دستیابی به داروهای جدید که دارای عوارض جانبی کم هستند احساس می‌شود. از آنجا که داروهای با منشأ گیاهی دارای عوارض جانبی نبوده و بسیاری از مواد موثره موجود در آنها به لحاظ پیچیدگی ساختار فرمول شیمیایی آنها به طور مصنوعی قابل سنتز نمی‌باشند، لذا داروهای با منشأ گیاهی جهت درمان این گونه بیماری‌ها مورد توجه قرار گرفته و در این راستا امروزه تعداد زیادی از گیاهان نیز جهت درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵-۷). یکی از گیاهانی که

خواص دارویی آن از دیرباز به اثبات رسیده است جعفری مکزیکی^۱ می‌باشد. این گیاه متعلق به تیره کاسنی^۲ و موطن آن آمریکای جنوبی است. بومیان قاره آمریکا از این گیاه از زمان‌های دور به صورت دارو و ادویه استفاده می‌نموده‌اند (۸-۱۰). متابولیت ثانویه متعددی در گیاه جعفری مکزیکی شناسایی شده است که شامل ترکیبات ترپنی، سزکوی ترپنی، فلاونوئیدها و تیوفن‌ها می‌باشند (۸). تیوفن‌ها ترکیباتی حاوی ۱۲ اتم کربن هستند. بیشترین فعالیت ضد ویروسی در عصاره این گیاه به این ترکیبات نسبت داده شده است (۹). مقدار این ترکیب در قسمت‌های مختلف گیاه جعفری مکزیکی متفاوت است اما بیشترین محل تجمع آن در ریشه گیاه می‌باشد (۱۰).

جوشانده این گیاه برای درمان سرماخوردگی، التهاب‌های دستگاه تنفسی، ناراحتی‌های سیستم هاضمه، تهوع و اختلالات معده‌ای، اسهال و ناخوشی کبدی به کار می‌رود (۱۱). فعالیت ضد ویروسی عصاره پیکره رویشی گیاه جعفری مکزیکی بر علیه RSV گزارش شده است (۱۲) ولی تاکنون هیچ مطالعه‌ای در خصوص فعالیت ضد ویروسی عصاره ریشه این گیاه بر علیه ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک و دو انسانی انجام نشده است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره به دست آمده از ریشه گیاه جعفری مکزیکی در پیش‌گیری از بروز آثار بیماری‌زای ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک (HSV-1) و دو (HSV-2) انسانی در یاخته‌های حساس می‌باشد.

روش کار

این پژوهش یک مطالعه تجربی است که در دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. بذر گیاه جعفری مکزیکی از کشور نامیبیا در سال ۱۳۸۱ برای اولین بار وارد کشور شد. بذر این گیاه برای به دست آوردن مواد گیاهی لازم در دانشکده کشاورزی کشت گردید. جهت تهیه عصاره از روش مسراسیون استفاده شد. بدین منظور در مرحله زایشی،

^۱ - *Tagetes minuta*.

^۲ - Asteraceae.

در این روش ابتدا رقت‌های سریال از سوسپانسیون ویروسی با فاصله نیم لگاریتمی تهیه شد. برای این منظور در ۱۲ لوله آزمایش استریل، ۲/۱۶ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM فاقد سرم استریل ریخته و با استفاده از سمپلر مقدار یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون ویروسی به لوله آزمایش اول اضافه و به خوبی مخلوط شد. پس از تعویض سر سمپلر یک میلی‌لیتر از محلول لوله آزمایش اول برداشته شد و به لوله آزمایش دوم اضافه گردید و این عمل تا آخرین لوله آزمایش ادامه یافت. به دنبال رقت سازی متوالی به مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از هر رقت به ۶ چاهک در ردیف‌های مختلف در داخل یک پلیت ۹۶ خانه‌ای 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 به گرم خانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. آنگاه به تمام چاهک‌ها ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی ۵ درصد سرم اضافه و چاهک‌ها هر روز از نظر آثار تخریب سلولی (CPE) مورد بررسی قرار گرفت. عیار عفونت‌زایی ویروس با استفاده از روش کربر توسط این فرمول محاسبه شد: $\text{Log TCID}_{50} = L - D (S - 0.5)$ که L منفی لگاریتم کمترین رقت، D فاصله رقت‌ها از نظر لگاریتمیک و S مجموع نسبت‌های قسمت‌های مثبت می‌باشد.

ابتدا اثر سمیت عصاره بر روی سلول Vero مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور سلول‌های Vero ابتدا در محیط کشت DMEM در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه مخصوص کشت داده و در انکوباتور گاز کربنیک‌دار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مقدار ۰/۱ حجم هر چاهک حاوی محیط کشت بود. عصاره گیاهی در ابتدا از فیلترهای ۰/۲ نانومتری از طریق یک سرنگ فیلتردار به منظور زدودن هر نوع آلودگی عبور داده شد. سپس رقت‌های سریال ۱/۱۶، ۱/۸، ۱/۴، ۱/۲، ۱/۱۰، ۱/۵ که به ترتیب از رقت‌های زیاد به کم، معادل غلظت‌های ۱۲، ۶، ۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۳۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر از عصاره می

بوته‌ها از خاک در آورده شده و ریشه‌های آنها از ساقه گیاه جدا گردید. ریشه‌ها به دقت و در چند مرحله جهت برطرف کردن آلودگی‌ها شسته شدند. سپس میزان ۵۰ گرم از ریشه‌ها آسیاب و درون ارلن ریخته شد و مقدار ۵۰۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درجه به آن اضافه گردید و به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه قرار داده شد (طی این مدت چندین بار ظرف تکان داده و بهم زده شد). پس از مدت مذکور محتویات درون ارلن با کاغذ صافی صاف گردید. سپس حلال به روش تقطیر در خلاء و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد از عصاره جدا گردید. به منظور تعیین وزن عصاره خشک، میزان ۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده درون شیشه ساعت که وزن آن با سه رقم اعشار معلوم شده بود ریخته شد. سپس به مدت سه ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا کاملاً خشک شود. پس از خشک شدن، مجدداً شیشه ساعت وزن شده و اختلاف وزن آن با وزن شیشه ساعت خالی به عنوان وزن عصاره خشک اندازه گرفته شد.

در این پژوهش از سلول‌های Vero که از کلیه میمون سبز آفریقایی به دست آمده است جهت ارزیابی فعالیت ضد ویروسی عصاره استفاده شد. با توجه به این که یاخته‌ها برای رشد علاوه بر محیط کشت به سرم گوساله نیز نیاز دارند، لذا به محیط کشت سلولی، مقدار ۵ درصد سرم غیر فعال شده گوساله اضافه شد. اسیدیته (pH) محیط کشت در حد ۷/۴ تنظیم شد. برای جلوگیری از تغییرات ناگهانی pH، از بافر کربنات سدیم و به منظور ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌های احتمالی، از مقادیر معینی آنتی‌بیوتیک استفاده گردید. سلول‌ها در حضور ۵ درصد گاز کربنیک در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به شکل منولایر (یک لایه سلولی) رشد می‌کنند و بستر مورد نیاز برای بررسی اثر ضد ویروسی عصاره تامین می‌گردد. برای انجام آزمون اصلی لازم بود تا عیار ویروس تعیین شود که در این پژوهش از روش TCID₅₀ برای مشخص کردن عفونت‌زایی ویروس‌ها استفاده شد.

باشد، تهیه شد. برای این منظور از محیط DMEM بدون سرم استفاده شد و برای یک ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس به هر دو حفره میکروپلیت حاوی یک لایه سلول Vero مقدار ۲۰۰ میکرولیتر مخلوط فوق اضافه و میکروپلیت مجدداً به انکوباتور برگردانده شد. مورفولوژی سلول‌ها روزانه به منظور ارزیابی هر گونه تغییر میکروسکوپی، برای مثال از بین رفتن حالت منولایر و گرانوله شدن در سیتوپلاسم، بررسی گردید. برای تعیین اثرات مرگ سلولی در اثر تلقیح عصاره، از روش رنگ آمیزی تریپان بلو (assay exclusion) استفاده و درصد سلول‌های زنده محاسبه گردید. پس از تعیین رقت‌هایی از عصاره که اثر سمیت بر روی سلول Vero نداشتند، خاصیت ضد ویروسی عصاره مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور عصاره و محیط کشت و منولایر Vero تهیه گردید. پس از تهیه رقت‌های سریال عصاره، رقت‌های مختلف در برابر TCID₅₀ ۱۰۰ و ویروس‌ها با همان حجم قرار داده شد و برای یک ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. آنگاه ۲۰۰ میکرولیتر از مخلوط به هر چاهک میکروپلیت آماده شده اضافه گردید و میکروپلیت مجدداً در انکوباتور قرار داده شد. در این آزمون شاهد عفونت‌زایی ویروس و شاهد یاخته بدون افزودن ویروس با عصاره جهت مقایسه مورد استفاده قرار گرفت.

سیمپلکس تیپ یک و دو مورد ارزیابی قرار گرفت. اندازه‌گیری میزان وزن خشک عصاره به دست آمده از ریشه گیاه جعفری مکزیکی نشان داد که وزن خشک عصاره به کار رفته در این آزمایش ۰/۳ میلی گرم در میلی لیتر بود. سمیت عصاره جعفری مکزیکی بر روی رده سلولی Vero در مقایسه با شاهد سلولی مورد آزمون قرار گرفت تا رقت‌هایی از عصاره انتخاب شوند که اثر سمی بر روی سلول Vero نداشته باشند. زیرا در صورت توکسیک بودن برای سلول، نمی‌توان تمایزی بین عصاره با آثاری که ویروس‌ها بر روی سلول بر جا می‌گذارند قائل شد. نتایج بررسی نشان داد که عصاره جعفری مکزیکی در رقت ۱/۵ (معادل غلظت ۱۲ میکروگرم در میلی لیتر از وزن عصاره خشک) موجب کاهش چشم‌گیری در درصد سلول Vero زنده می‌شود ($p=0/01$)، (نمودار ۱). بنابراین جهت ارزیابی خاصیت ضد ویروسی عصاره از همه رقت‌ها به جز رقت فوق استفاده شد.

نتایج تجزیه آماری اثر ضد ویروسی عصاره جعفری مکزیکی در جدول ۱ آورده شده است. همان طور که در این جدول آمده است عصاره به دست آمده از این گیاه به طور معنی‌داری ($p=0/01$) باعث جلوگیری از تکثیر ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک و دو انسانی شده است. بررسی‌ها بر روی رقت‌های مختلف عصاره نشان داد که فعالیت ضد ویروسی در بین رقت‌های مختلف متفاوت است. همان طور که در نمودار ۲ دیده می‌شود بیشترین و کمترین فعالیت ضد ویروسی عصاره بر علیه هر دو ویروس به ترتیب در رقت‌های ۱/۱ و ۱/۱۶۰ حاصل شد. هم‌چنین به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین رقت‌های ۱/۲ و ۱/۴ و ۱/۸۰ در کنترل ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱ وجود ندارد، در صورتی که در خصوص کنترل ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۲ رقت‌های ۱/۲ و ۱/۴ با هم اختلاف آماری نشان ندادند اما با رقت ۱/۸۰ این اختلاف معنی‌دار بود. این نتایج در مقایسه با شاهد عفونت‌زایی ویروس و شاهد یاخته در شرایط عادی رشد، به دست آمد.

آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. از هر تکرار پنج نمونه کاملاً تصادفی گرفته شد و میانگین نمونه‌گیری‌ها در تجزیه آماری بلاک قرار گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون مقایسه چندگانه دانکن استفاده شد.

برای افزایش دقت و کاهش خطا از روش تریپان بلو و مشاهده میزان رنگ‌پذیری سلول‌ها در زیر میکروسکوپ نوری استفاده شد.

نتایج

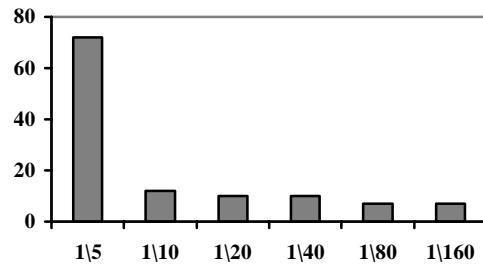
در این پژوهش قدرت مهارکنندگی عصاره به دست آمده از ریشه جعفری مکزیکی بر علیه ویروس هرپس

معدودی در رابطه با آثار ضد ویروسی اسانس یا پیکره رویشی این گیاه بر روی ویروس‌های گیاهی و برخی ویروس‌های انسانی مثل RSV انجام گرفته (۱۳،۱۲) که به لحاظ نوع ویروس و میزان آنها اثر بخشی متفاوتی را نشان می‌دهند و با عنایت به این مسئله که اسانس با عصاره به لحاظ استخراج و ترکیبات موثره متفاوت می‌باشند، در این تحقیق از عصاره ریشه‌ای این گیاه استفاده شد (۱۰).

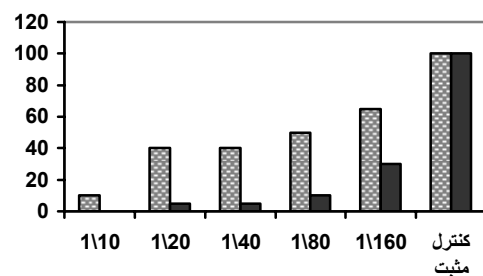
مقایسه اثر رقت‌های مختلف بر روی کنترل تکثیر ویروس‌ها نشان می‌دهد که عصاره جعفری مکزیکی ویروس هرپس سیمپلکس تیپ دو را نسبت به تیپ یک این ویروس بهتر کنترل می‌کند (نمودار ۲). در این مطالعه نشان داده شد که غلظت $1/10$ بیشترین فعالیت ضد ویروسی را در جهت کنترل هر دو تیپ ویروس هرپس سیمپلکس با حداقل اثر سمیت بر روی سلول Vero از خود نشان داده است به طوری که این رقت را می‌توان به عنوان موثرترین رقت در کنترل هر دو ویروس جهت ساخت دارو پیشنهاد نمود. رقت‌های $1/20$ و $1/40$ در کنترل هر دو نوع تیپ ویروس با هم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. بنابراین رقت $1/40$ را می‌توان بعد از رقت $1/10$ و از نظر اقتصادی با صرفه‌ترین رقت به جهت ساخت دارو پیشنهاد نمود. البته لازم به ذکر است که این هدف نیازمند انجام تست‌های تکمیلی بر روی حیوانات آزمایشگاهی و سپس انسان‌ها می‌باشد.

هر چند در سال‌های اخیر مطالعاتی در زمینه فعالیت ضد ویروسی گیاه جعفری مکزیکی انجام شده است اما تاکنون مطالعه‌ای در زمینه فعالیت ضد هرپسی این گیاه منتشر نشده است. در زمینه فعالیت ضد هرپسی گیاهان دیگر تحقیقات وسیعی صورت پذیرفته است که می‌توان به استفاده از عصاره گونه‌های مختلف جنس اکیناسه برای این منظور اشاره نمود که داروهای مختلفی نیز برای درمان بیماری‌های هرپسی از این گیاهان هم اکنون در دنیا تولید می‌شود (۱۴).

از آنجا که گیاه سرخارگل نیز متعلق به خانواده کاسنی است، مقایسه فعالیت ضد ویروسی این دو عصاره در



نمودار ۱. مقایسه اثر سمیت رقت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه جعفری مکزیکی بر روی سلول Vero



نمودار ۲. مقایسه اثر ضد ویروسی رقت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه جعفری مکزیکی با شاهد

جدول ۱. اثر رقت‌های مختلف عصاره جعفری مکزیکی در کاهش درصد تخریب سلولی تحت تاثیر ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک و دو انسانی

رقت‌های مختلف عصاره	درصد تخریب سلولی تحت تاثیر HSV-1	درصد تخریب سلولی تحت تاثیر HSV-2
$1/10$	$10 \pm 2/88$	$0 \pm 0/00$
$1/20$	$40 \pm 0/00$	$4/33 \pm 0/66$
$1/40$	$40 \pm 5/77$	$5 \pm 0/00$
$1/80$	$50 \pm 0/00$	$10 \pm 0/00$
$1/160$	$65 \pm 2/88$	$30 \pm 0/00$
شاهد	$100 \pm 0/00$	$100 \pm 0/00$

بحث

بر طبق مطالعات انجام شده ترکیبات ترپنی و تیوفن‌ها که به داشتن فعالیت ضد ویروسی معروف هستند در ریشه جعفری مکزیکی بیشتر تجمع می‌یابند. مطالعات

3. Roizman B, Sears AE. Herpes simplex viruses and their replication. In: Fields BN editor. Fields virology. 3rd ed. vol 2. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996. p. 2231-2295.
4. England JA. Acyclovir therapy in neonates. J Pediatrics 1991; 119:129-135.
5. Abad MJ, Bermejo P, Villar A, Sanchez-Palomino S, Carrasco L. Antiviral activity of medicinal plant extracts. Phytotherapy Research 1997;11(3):198-202.
6. Kott V, Barbini L, Cruanes M, de Munoz JD, Vivot E, Cruanes J, Martino V, Ferraro G, Cavallaro L, Campos R. Antiviral activity in Argentine medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology 1999;1:79-84.
7. Hudson JB, Lee MK, Rasoanaivo P. Antiviral activity in plants endemic to Madagascar. Pharmaceutical Biology 2000; 38(1): 36-39.
8. Soule JA. Tagetes minuta: A potential new herb from South American. New York: Wiley; 1993. p. 649-654.
9. Neher RT. The ethnobotany of Tagetes. Economic Botany 1968; 22: 317-325.
10. Wagner H, Farnsworth NR. Economic and medicinal plant research. Plant as a source of potential antiviral agents. vol 5. 1995.p.167-237.
11. Hudson JB. Antiviral compounds from plants. Oxford: CRC Press inc;1990.
12. Downum KR, Towers GHN. Analysis of thiophenes in the Tageteae (Asteraceae) by HPLC. J Nat Prod 1983; 46: 98-103.
13. Singh B, Joshi VP, Ram R, Sharma A, Zaidi AA. Use of tagetes minuta oil and its components as antiviral agents. United States: Patent; 2001. 6444458
14. Binns SE, Hudson J, Merali S, Arnason JT. Antiviral activity of characterized extracts from Echinacea spp (Heliantheae: Asteraceae) against Herpes simplex virus (HSV-1). Planta Med 2002; 68:780-783.

۱۵. قائمی ا، سلیمانجاهی ح، فرشلاف مقدم م، یزدانی ن، ذکی دیزجی ح. ارزیابی اثر ضد ویروسی عصاره پیکر رویشی سرخارگل در کنترل ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک انسانی. مجله علمی پژوهشی حکیم، زیر چاپ.

اینجا قابل بحث می‌باشد. قائمی و همکاران فعالیت ضد ویروسی عصاره الکلی به دست آمده از پیکر رویشی گیاه سرخارگل کشت شده در ایران را بر علیه ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱ نشان دادند (۱۵). مقایسه نتایج به دست آمده از این آزمایش‌ها نشان می‌دهد که عصاره ریشه گیاه جعفری مکزیکی همانند عصاره پیکر رویشی سرخارگل در کنترل ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک موثر می‌باشد. به علاوه تحقیق حاضر اثرات ضد ویروسی بر علیه هرپس تیپ دو را هم نشان داده است که این ویروس امروزه از جنبه کلینیکی خصوصاً در زنان باردار دارای اهمیت فوق العاده زیادی می‌باشد.

نتیجه گیری

پیدایش موتانت‌های مقاوم به دارو معضل بزرگی را در راه درمان عفونت‌های مختلف ژنتیکال و پوستی این دو ویروس ایجاد نموده است. لذا یافتن داروهایی با اثرات جانبی کمتر و کارایی درمانی بیشتر، بیش از پیش احساس می‌شود. نتیجه اثر ضد ویروسی این عصاره نیز همانند عصاره سرخارگل نوید بخش تولید دارویی گیاهی با اثرات جانبی کمتر بر علیه دو ویروس مهم در خانواده هرپس ویریده را مطرح می‌کند، لذا عصاره این گیاه را می‌توان به عنوان یک کاندیدای مناسب برای توسعه داروهای با منشأ طبیعی در آینده به حساب آورد.

نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره به دست آمده از ریشه گیاه جعفری مکزیکی دارای پتانسیل ضد ویروسی خوبی بر علیه ویروس هرپس سیمپلکس تیپ یک و دو انسانی می‌باشد که می‌توان از آن به عنوان یک منبع دارویی برای کنترل این بیماری‌های ویروسی استفاده نمود.

منابع

1. Singleton S, Sainsbury D. Dictionary of microbiology and molecular biology. 2nd ed. Trowbridge: John Willy and Sons Inc; 1995. p.416-417.
2. Campbell M. Acyclovir in herpes encephalitis. Lancet 1982;1: 38-41.

Evaluation of effects of root extract from *Tagetes minuta* against human herpes simplex virus type 1 and 2

Ghaemi A¹, Farshbaf Moghaddam M², Soleimanjahi H³, Omidbaigi R⁴, Bamdad T³, Hekmatpou D⁵, Hamdi K⁶

Abstract

Introduction: Nowadays, the attention of researchers has been focused on natural medicine in order to avoid the detrimental side effects of chemical drugs. In this study we assessed the effect of root extract of *Tagetes minuta* against HSV-1 and HSV-2.

Materials and Methods: This research is an experimental study. Root extract of *Tagetes minuta* was obtained with 70% ethanol by maceration. Vero cells were grown in DMEM containing 5% fetal bovine serum. Serial dilutions of extracted suspension ($1/10$, $1/20$, $1/40$, $1/80$, $1/160$) were incubated by the exact titer of viruses and monitored for antiviral activity of extract. Data was analyzed using Doncan test.

Results: Root extract obtained from *Tagetes minuta* significantly has antiviral activity against HSV-1 and HSV-2. This extract has more effect on HSV-2 than HSV-1. This study indicates that antiviral activity of the extract varies between different concentrations and the optimum antiviral activity on both viruses was obtained using $1/10$ concentration.

Conclusion: The results of this investigation showed that root extract of *Tagetes minuta* have good antiviral potenoial against HSV-1 and HSV-2, a good source of drug for treatment of diseases due to HSV-1 and HSV-2.

Key word: Herpes simplex virus type1 and 2, *Tagetes minuta*, cell culture, root extract

1 - Student of PhD of virology, Tarbiat Modares University, academic member of Gorgan University of medical sciences.

2 - Student of PhD of horticulture, Tarbiat Modares University.

3 - Assistant professor, department of virology, Tarbiat Modares University.

4 - Professor, department of horticulture, Tarbiat Modares University.

5 - Student of PhD of nursing, Tarbiat Modares University, academic member of Arak University of medical sciences.

6 - MSc of microbiology.