

## ارزیابی اثر ضدویروسی گیاهان آویشن و خرزهره بر HSV-1 در شرایط آزمایشگاهی

ملیحه فراهانی\*<sup>۱</sup>

۱- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۴/۲۴

### چکیده

مقدمه: امروزه درمان بیماری‌های ویروس HSV-1 با داروهای ضدهرپسی مانند آسیکلوویر به دلیل پیدایش مقاومت دارویی در ویروس با مشکلاتی روبرو می‌شود و بایستی داروهایی با کارایی بهتر را یافت. در این پژوهش ویژگی ضدویروسی گیاه آویشن و خرزهره با داشتن کاربرد دارویی در پزشکی سنتی بر روی HSV-1 بررسی شد. روش بررسی: نخست عصاره آبی گیاهان فراهم گردید و پس از سنجش سیتوکسیسیته آنها بر روی یاخته‌های Hep-2: Human epithelial type 2) با ارزیابی (CPE: Cyto Pathic Effect)، اثر ضد ویروسی عصاره‌های گیاهی با روش بازدارندگی از CPE ویروس بررسی گردید. نتایج: عصاره خرزهره در غلظت‌های  $4/73 \mu\text{g/ml}$  و آویشن در غلظت  $9/28 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$  به دست آمد. عصاره آویشن در غلظت‌های  $200-900 \mu\text{g/ml}$  ویروس HSV-1 را از تکثیر بازداشت. EC50 و IC50 آن  $48/36 \mu\text{g/ml}$  و  $1/12 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$  بود. نتیجه‌گیری: گیاه آویشن در غلظت‌های غیرتوکسیک اثر ضدویروسی بسیار خوبی را بر روی HSV-1 نشان داد، ولی اثر گیاه خرزهره بر ویروس کشنده بود. برای یافتن مکانیسم اثر این داروها نیاز به پژوهش‌های بیشتر می‌باشد تا در ساخت داروهای ضدهرپسی به کار رود.

واژه‌های کلیدی: اثر ضدویروسی، آویشن، خرزهره، HSV-1

## مقدمه

گیاهان دارویی همیشه در زندگی انسان دارای جایگاه ویژه‌ای بوده‌اند و در بسیاری از کشورهای پیشرفته و در حال پیشرفت یک راهکار درمانی به شمار می‌روند (۱،۲). امروزه نیز گیاهان در ساخت داروها به کار می‌روند و ۳۰ درصد فرآورده‌های دارویی از گیاه به دست می‌آید (۳-۵).

در پژوهش‌های نوین مشخص گردیده گروهی از گیاهان دارویی دارای اثرات ضدویروسی می‌باشند (۶-۸). در بررسی‌های بسیاری دیده شده که گیاهان سرشار از تانن‌ها، فلاونوئیدها (۹،۱۰) و آلکالوئیدها ویژگی‌های ضدویروسی، ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدانگلی دارند (۲،۱۱،۱۲). امروزه درمان بیماری‌های ویروس HSV-1 با داروهای ضدهرپسی در دسترس به دلیل پیدایش مقاومت دارویی در ویروس (۱۳) مانند مقاومت HSV به آسیکلوویر در پی جهش‌های رخ داده در ژن TK ویروسی یا ژن DNA پلیمرز ویروسی (۱۴)، دوره نهفتگی آن در بدن میزبان و برگشت بیماری با مشکلاتی روبرو می‌گردد. بنابراین بایستی در پی یافتن داروهای ضدویروسی نوین باشیم (۱۷-۱۵) و گیاهان دارویی می‌توانند یک راهکار تازه برای درمان بیماری‌های این ویروس باشند (۱۸).

آویشن گونه *Thymus vulgaris* گیاهی علفی و چند ساله است که بخش دارویی آن گل و به ویژه برگ‌هایش می‌باشد (۱۹). آویشن دارای تیمول ۲۰A تا ۶۰ درصد، کارواکرول، ترپن‌ها، برنئول، لینالول، تانن، فلاونوئیدها (۹،۱۰)، اسید کافئیک و اسید رزمارینیک می‌باشد. پزشکان سنتی ایران مانند ابوعلی سینا آویشن را در درمان زگیل، درد مفاصل، بند آمدن پیشاب و نابودی کرم به کار می‌بردند. آویشن در پزشکی نوین ضدسرفه، ضدآلرژی (۴)، ضدسرطان، ضدتب، ضدقارچ و ضدکرم می‌باشد که برای درمان بیماری‌های پوستی مانند زونا و سیاه سرفه کاربرد دارد (۱۹). خرزهره (*Nerium oleander*) گیاهی درختچه‌ای و همیشه سبز می‌باشد که بخش کاربردی آن برگ‌ها و پوستش است. خرزهره دارای اولئاندرین (*oleandrin*) و اولئاندرینین (*oleanderigenine*) و نری نین (*neriine*) و نری آنتین (*neriantine*) و فولی نری

(*folinerin*) به عنوان گلیکوزیدهای قلبی، فلاونوئیدها، تانن‌ها (۷،۸،۱۰)، روتین، تری‌ترپنوئیدها و پلی‌ساکاریدها مانند اسید D- گالاکتوآورونیک، رزین‌ها و آلکالوئید پزودوکورانین می‌باشد (۱۱،۱۲). پزشکان سنتی ایران گیاه خرزهره را برای کچلی، خارش و پوسته شدن پوست به کار می‌بردند. در پزشکی نوین نیز گلیکوزیدهای این گیاه را برای درمان ناراحتی‌های قلبی به جای گلیکوزیدهای گل انگشتانه به کار می‌برند که تقویت‌کننده قلب است (۲۰). در این پژوهش اثر ضدویروسی گیاه آویشن و خرزهره که گیاهان بومی ایران می‌باشند بر روی ویروس HSV-1 بررسی گردید.

## روش بررسی

در این مطالعه پژوهشی گیاه آویشن باغی (*Vulgaris Thymus*) و خرزهره (*Nerium Oleander*) از بازار گیاهان دارویی شهر تهران فراهم گردید و به تأیید کارشناس گیاه‌شناسی رسید. بخش ساقه‌های گل‌دار و برگ‌های آنها جداگانه در دمای محیط خشک گردید و سپس با آسیاب ه صورت پودر در آورده شد (۲۱). ۵۰ گرم از گرد گیاهان به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد و با کاغذ صافی ۰/۲۲ میکرون پالایه شد (۲۲). عصاره پالایه شده در دستگاه فریزدراپر خشک گردید (۲۴،۲۳). از عصاره آبی به دست آمده هر دو گیاه با رقیق‌سازی ۱:۲۰ در (DMEM: Dulbecco's Modified Eagles Medium) یک محلول کاربردی با غلظت ۱۰۰۰ µg/ml فراهم گردید و تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری شد.

با فراهم کردن کشت یاخته‌های Hep-2 (انستیتو پاستور ایران) با روش پاساژ دادن و بردن ویروس بر روی آن با گذشت ۲ تا ۳ روز، شمار زیادی ویروس هرپس سیمپلکس ویروس نوع ۱ سویه KOS (انستیتو پاستور ایران) برای بررسی عیار ویروس به دست می‌آید. هنگامی که اثر سایتوپاتیک ویروس‌ها بیش از ۸۰٪ تک لایه یاخته‌ها را فراگرفت، ویروس‌ها برداشت شدند و سپس با روش (TCID50: 50% Tissue Culture Infectivity Dose) عیار ویروس سنجیده شد (۲۵).

یک هفته هر روز ویژگی ضدویروسی عصاره‌ها با روش بازدارندگی از CPE ویروس از دید میکروسکوپی بررسی گردید و (EC50: Effective Concentration 50) و (IC50: Inhibitory Concentration 50) هر عصاره گیاهی با کمک منحنی رگرسیون به دست آمد. همچنین نمایه درمانی (Therapeutic Index) با ارزیابی CC50/EC50 و SI (Selectivity Index) آنها با ارزیابی CC50/IC50 به دست آمد. هرکدام از آزمایش‌ها در ۳ مرتبه بررسی گردید.

### نتایج

در بررسی سیتوکسیسیته عصاره‌های گیاهی دیده شد که CC50 برای عصاره گیاه خرزهره  $4/73 \mu\text{g/ml}$  و عصاره آویشن  $9/28 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$  به دست آمد (جدول ۱). در آزمایش اثر ضدویروسی عصاره‌های گیاهی نشان داد که عصاره آویشن در غلظت‌های  $200-900 \mu\text{g/ml}$  ویژگی ضدهرپسی بسیار خوبی بر روی HSV-1 دارد. این گیاه در غلظت‌های  $100 \mu\text{g/ml}$  به بالا ویروس را از تکثیر بازداشت و تنها در دو چاهک دارای کمترین غلظت عصاره گیاهی ( $50-100 \mu\text{g/ml}$ )، یاخته‌های Hep-2 آسیب دیدند و CPE ویروس HSV-1 پدیدار گردید (جدول ۳). در حالی که گیاه خرزهره در دامنه غلظتی  $5-50 \mu\text{g/ml}$  بر روی ویروس و یاخته‌ها کشنده بود (جدول ۴). EC50 و Therapeutic Index عصاره گیاهی آویشن به ترتیب  $48/36 \mu\text{g/ml}$ ،  $19/18$  و همچنین IC50 و SI آن به ترتیب  $1/12 \times 10^2 \mu\text{g/m}$ ،  $8/28$  به دست آمد، ولی برای خرزهره به دلیل توکسیک بودن بر ویروس و یاخته‌ها به دست نیامد (جدول ۱ و ۲).

جهت سنجش سیتوکسیسیته عصاره‌های گیاهی روی یاخته نخست یاخته‌های Hep-2 در میکروپلیت ۹۶ خانه (Nalge NUNC, Denmark) کشت داده شدند و پس از این که تک لایه کاملی از یاخته‌ها با گذشت دو روز پدیدار شد، رقت‌های گوناگونی از عصاره کاربردی آویشن ( $50-1000 \mu\text{g/ml}$ ) و خرزهره ( $5-50 \mu\text{g/ml}$ ) به یاخته‌ها افزوده گردید و در چاهک کنترل یاخته به عنوان کنترل مثبت تنها محیط کشت ریخته شد. در پایان پلیت آماده شده در گرمخانه  $37^\circ\text{C}$  گذاشته شد و (Cytotoxic Concentration)  $CC50: 50\%$  عصاره‌های گیاهی با شمارش یاخته‌های زنده Hep-2 زیر میکروسکوپ وارونه با روش از میان بردن رنگ نوترال رد به کمک منحنی رگرسیون خطی بررسی گردید (۲۶). غلظتی از عصاره که ۵۰ درصد توده یاخته‌های زنده را کاهش دهد CC50 آن عصاره گفته می‌شود.

جهت بررسی اثر ضدویروسی عصاره‌های گیاهی، نخست یاخته‌های Hep-2 در میکروپلیت ۹۶ خانه کشت داده شدند و پس از این که تک لایه کاملی از یاخته‌ها با گذشت دو روز پدیدار شد، ویروس HSV-1 به اندازه  $40 \mu\text{g/ml}$  بر روی کشت یاخته‌ای برده شد و پس از گذشت نیم ساعت و جذب ویروس به درون یاخته‌ها، رقت‌های گوناگونی از عصاره گیاهی آویشن ( $50-900 \mu\text{g/ml}$ ) و خرزهره ( $5-50 \mu\text{g/ml}$ ) به یاخته‌ها (برای هر رقت سه چاهک) افزوده گردید و در خانه کنترل یاخته به عنوان کنترل مثبت تنها محیط کشت و در خانه کنترل ویروس به عنوان کنترل منفی محیط کشت ریخته شد. در پایان پلیت آماده شده در گرمخانه  $37^\circ\text{C}$  گذاشته شد و تا

جدول ۱: سنجش CC50, EC50 و Therapeutic index عصاره‌های گیاهی روی HSV-1 و یاخته‌های Hep-2

نام فارسی	نام علمی	Therapeutic Index	EC50	CC50
آویشن	Thymus kotschyanus	۱۹/۱۸	۴۸/۳۶	$9/28 \times 10^2$
خرزهره	Nerium oleander L.	-	-	۴/۷۳

جدول ۲: سنجش CC50, IC50 و SI عصاره‌های گیاهی روی HSV-1 و یاخته‌های Hep-2

نام فارسی	SI	IC50	CC50
آویشن	۸/۲۸	$1/12 \times 10^2$	$9/28 \times 10^2$
خرزهره	-	-	۴/۷۳

جدول ۳: بررسی اثر ضدویروسی عصاره آویشن بر روی ویروس HSV-1

عصاره گیاهی	*۵۰	*۱۰۰	*۲۰۰	*۳۰۰	*۴۰۰	*۵۰۰	*۶۰۰	*۷۰۰	*۸۰۰	*۹۰۰
آویشن	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	* غلظت عصاره بر پایه $\mu\text{g/ml}$			- دیده نشدن CPE ویروس			+ دیده شدن CPE ویروس			

جدول ۴: بررسی اثر ضدویروسی عصاره خرزهره بر روی ویروس HSV-1

عصاره گیاهی	*۵	*۱۰	*۲۰	*۳۰	*۴۰	*۵۰
خرزهره	T	T	T	T	T	T
	* غلظت عصاره بر پایه $\mu\text{g/ml}$			T: توکسیک بودن عصاره بر HSV-1		

### بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش یافته‌های آزمایش سیتوکسیسیته عصاره‌ها نشانگر کشندگی بسیار بالای عصاره خرزهره در غلظت‌های بالای  $4/73 \mu\text{g/ml}$  بر روی یاخته‌های Hep-2 بود. در این زمینه در پژوهش Juay Jami و همکارانش بر روی اثر ضدویروسی خرزهره یافته‌های به دست آمده نشان داد که این گیاه بر روی یاخته‌های Hep-2 کشنده است (۲۷). در بررسی اثر ضدویروسی عصاره‌های گیاهی بر روی ویروس HSV-1 عصاره خرزهره در همه غلظت‌های به کار رفته ( $5-50 \mu\text{g/ml}$ ) بر روی ویروس کشنده بود. بر پایه این یافته‌ها می‌توان احتمال داد که کاربرد بالینی خرزهره آسیب‌هایی را در بر خواهد داشت و شاید بتوان از کاربرد احتمالی گندزدایی آن در زندگی امروزی بهره گرفت. در حالی که در آزمایشی دیگر ویژگی ضدویروسی عصاره آبی خرزهره بر روی ویروس HSV-1 و ویروس‌های دیگر بررسی شد و یافته‌های آن نشان داد که عصاره گیاهی بر ویروس HSV-1 در Vitro کارایی نداشت (۲۷). این تفاوت دیده شده شاید ناشی از تفاوت در روش عصاره‌گیری می‌باشد. چون در پژوهش آنها عصاره گیاهی با روش عصاره‌گیری سرد ساخته شده بود. همچنین در پژوهش دیگر ضدویروس بودن آن بر ویروس‌های هپاتیت A و B، آنفلوآنزای A و B و HIV نشان داده شد که برای اثر القاکندگی عصاره آبی گیاه بر روی اینترفرون (IFN) بود (۲۷). در حالی که گیاه آویشن در غلظت‌های  $50-900 \mu\text{g/ml}$  بر روی

یاخته‌های Hep-2 ویژگی ضدهرپسی بسیار خوبی بر روی HSV-1 داشت و تنها در غلظت‌های پایین‌تر از  $200 \mu\text{g/ml}$  عصاره گیاهی، CPE ویروس دیده شد. بر پایه این یافته آویشن در دامنه غلظتی  $900-200 \mu\text{g/ml}$  توانست از تکثیر ویروس HSV-1 پیشگیری کند و یاخته‌های Hep-2 مانند کنترل یاخته بدون آسیب دیدگی بودند. بر پایه یافته‌های پژوهش، کمترین غلظت اثرگذار (EC50) و کمترین غلظت بازدارنده (IC50) عصاره آویشن از تکثیر ویروس در کشت یاخته‌های Hep-2 به ترتیب برابر  $48/36 \mu\text{g/ml}$  و  $1/12 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$  بود که برای خرزهره به دلیل توکسیک بودن بر ویروس و یاخته‌ها به دست نیامد. در پژوهش Noikemper اثر ضدویروسی عصاره آبی آویشن بر روی ویروس هرپس سیمپلکس تیپ ۱ و ۲ و یک سویه مقاوم به آسیکلوویر (HSV-1(ACV(res) بروی یاخته‌های Vero بررسی گردید. یافته‌های این گروه نشان داد که عصاره گیاه می‌تواند کاربرد موضعی در درمان آلودگی‌های برگشتی HSV-1 داشته باشد (۲۸). همچنین در بررسی سویه‌های مقاوم و حساس به آسیکلوویر HSV-1 با اسانس روغنی آویشن ویروس‌کشی بسیار بالایی داشت و این ویژگی گیاه پیش از جذب ویروس به یاخته‌های RC-37 دیده شد (۲۹). در کارآزمایی Rajbhandari و همکارانش عصاره متانولی آویشن اثر ضدهرپسی بر روی HSV-1 نشان داد (۳۰) و

شده که گیاه آویشن اثر ضدویروسی بسیارخوبی بر روی ویروس HSV-1 دارد که این ویژگی ضدهرپسی گیاه آویشن برای ترکیب‌های تاننی و فلاونوئیدی آن است (۷،۸،۲۸،۳۲) و همچنین از گیاه خرزهره با ویژگی کشندگی بر ویروس شاید بتوان در کاربرد موضعی بهره گرفت. این دستاوردها می‌تواند امیدی تازه برای درمان آلودگی‌های این ویروس باشد و از گسترش سویه‌های مقاوم به داروهای ضدهرپسی ویروس HSV-1 پیشگیری شود (۱۴،۳۳). برای یافتن مکانیسم اثر این داروها نیاز به پژوهش‌های بیشتر می‌باشد تا در ساخت داروهای ضد ویروسی به کار رود.

اثر بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی بر تکثیر HSV-1 در پژوهش Mardani و همکاران بر روی یاخته‌های Vero نیز دیده شد (۳۱). در حالی که در مطالعه حاضر عصاره آبی آویشن ویژگی ضدهرپسی خودش را با پیشگیری از تکثیر ویروس HSV-1 در کشت یاخته‌ای پس از جذب ویروس به یاخته‌های Hep-2 نشان داد که بر پایه این یافته گیاه آویشن می‌تواند در پژوهش‌های بالینی برای بررسی بیشتر این ویژگی به کار برده شود.

چون در این پژوهش اثر ضدویروسی گیاه آویشن و خرزهره بر روی یاخته‌های Hep-2 که از یاخته‌های سرطانی اپی‌تلیال حنجره انسان گرفته شده است، بررسی گردیده است و دیده

### References:

- 1- Pierce A. *American pharmaceutical association practical guide to natural medicines*. New York: Stonesong Press; 1999.p. 338-40.
- 2- Sindambiwe JB, Calomme M, Cos P, Totte J, Pieters L, Vlietinck A, et al. *Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities*. J Ethnopharmacol 1999, 65(1): 71-7.
- 3- Amin G. *popular medicinal plants of Iran*. 1st ed. Research Deputy of Health Ministry. Iran 1991; 1: 39. [Persian]
- 4- Yuan R, Lin Y. *Traditional chinese medicine: an approach to scientific proof and clinical validation*. Pharmacol Ther 2000; 86(2): 191-8.
- 5- Torres E, Sawyer TL. *Healing with herbs and rituals*. University of New Mexico Press; 2006. p. 93.
- 6- Isaacs CE, Wen GY, Xu W, Jia JH, Rohan L, Corbo C, et al. *Epigallocatechin gallate inactivates clinical isolates of herpes simplex virus*. Antimicrob Agents Chemother 2008; 25(3): 962-70.
- 7- Hayashi K, Hayashi T, Morita N. *Mechanism of action of the antiherpesvirus biflavone ginketin*. Antimicrob. Agents Chemother 1992; 36: 1890-3.
- 8- Hayashi K, Hayashi T, Otsuka H, Takeda Y. *Antiviral activity of 5, 6, 7-trimethoxyflavone and its potentiation of the antiherpes activity of acyclovir*. J. Antimicrob Chemother 1997; 39(6): 821-4.
- 9- Tsuchiya H, Sato M, Iinuma M, Yokoyama J, Ohyama M, Tanaka T, et al. *Inhibition of the growth of cariogenic bacteria in vitro by plant flavanones*. Experientia 1994; 50(9): 846-9.

- 10- Kaul TN, Middleton E, Ogra PL. *Antiviral effect of flavonoids on human viruses*. J Med Virol 1985; 15(1): 71-9.
- 11- Dorman HJ, Deans SG. *Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils*. J Appl Microbiol 2000; 88(2): 308-16.
- 12- Sydiskis RJ, Owen DG, Lohr JL, Rosler KH, Blomster RN. *Inactivation of enveloped viruses by anthraquinones extracted from plants*. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35(12): 2463-6.
- 13- Field AK, Biron KK. *The end of innocerice revisited: resistance of herpesvirus to antiviral drugs*. Clin Microbiol Rev 1994; 7(1): 1-13.
- 14- Frobert E, Ooka T, Cortay JC, Lina B, Thouvenot D, Morfin F, et al. *Herpes simplex virus thymidine kinase mutations associated with resistance to acyclovir: a site directed mutagenesis study*. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(3): 1055-9.
- 15- Wozniak MA, Mee AP, Itzhaki RF. *Herpes simplex virus type 1 DNA is located within Alzheimer's disease amyloid plaques*. J Pathol 2009; 217 (1): 131-8.
- 16- Fatahzadeh M, Schwartz RA. *Human herpes simplex virus infections: epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management*. J Am Acad Dermatol 2007; 57(5): 737-63.
- 17- Smith JS, Robinson NJ. *Age-specific prevalence of infection with herpes simplex virus types 2 and 1: a global review*. J Infect Dis 2002; 186(Suppl 1): S3-28.
- 18- Cseke LJ, Kirakosyan A, Kaufman PB, Warber SL, Duke JA, Brielmann HL. *Natural products from plants*. CRC Press; 2006. p. 276.
- 19- Rustaiyan A, Masoudi Sh, Monfared A, Kamalinejad M, Lajevardi T, Sedaghat S, et al. *Volatile constituents of three Thymus species grown wild in Iran*. Planta Med 2000; 66(2): 197-8. [Persian]
- 20- Zargari A. *Medicinal plants*. Vol 3. Tehran: Tehran University Publications; 1996. p. 503-14. [Persian]
- 21- Sefidkon F, Dabiri M, Rahimi-Bidgoli A. *The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of Thymus Kotschyanus Boiss. Et Hohen*. Flavour Fragr J 1999; 14(6): 405-8.
- 22- Chanchal C. *Ahg medicinal herbalist. delivery systems and dosage strategies in herbal medicine*. Chanchal Cabrera, 2011. Available from: [www.chanchalcabrera.com/delivery-systems-and-dosage-strategies-in-herbal-medicine](http://www.chanchalcabrera.com/delivery-systems-and-dosage-strategies-in-herbal-medicine).
- 23- Jewell S. *How to Prepare herbal decoctions, Tinctures, Syrups*. eHow; 2009. Available from: [www.ehow.com/how\\_5051295\\_prepare-herbal-decotion-tinctures-syrups.html](http://www.ehow.com/how_5051295_prepare-herbal-decotion-tinctures-syrups.html).
- 24- Yan X, Rana J, Chandra A, Vredeveld D, Ware H, Rebhun J, et al. *Medicinal herb extraction strategy - a solvent selection and extraction method study*. Conference Proceedings; 2008. Available from: [www3.aiche.org/proceedings/Abstract.aspx?paperID=125270](http://www3.aiche.org/proceedings/Abstract.aspx?paperID=125270)

- 25- Cragg GM, Newman DJ, Snader KM. *Natural products in drug discovery and development*. J Nat Prod 1997; 60(1): 52-60.
- 26- 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 Sci 2010; 35(4): 304-9.
- 27- Juay Jamil R, Heinz-herbert F, Farid Jamil R. *Method of preparing and using a cold extract from the leaves of nerium oleander*. United States Patent Application 20070154573; 2007.
- 28- Nolkemper S, Reichling J, Stintzing FC, Carle R, Schnitzler P. *Antiviral effect of aqueous extracts from species of the lamiaceae family against herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro*. Planta Med 2006; 72(15): 1378-82.
- 29- Schnitzler P, Koch C, Reichling J. *Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(5): 1859-62.
- 30- Rajbhandari M, Mentel R, Jha PK, Chaudhary RP, Bhattarai S, Gewali MB, et al. *Antiviral activity of some plants used in nepalese traditional medicine*. Evid Based Complement Alternat Med 2009; 6(4): 517-22.
- 31- Mardani M, Motamedifar M, Hoseinipour R. *A Study of the antiviral effect of the essential oil of zataria multiflora boiss on herpes simplex type 1 in vero cell culture*. J Dent Shiraz Univ Med Sci J 2012; Supplement: 414-20. [Persian]
- 32- Koch C, Reichling J, Schnee J, Schnitzler P. *Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2*. Phytomedicine 2008; 15(1-2): 71-8.
- 33- Karaba AH, Cohen LK, Glaubach T, Kopp SJ, Reichek JL, Yoon HH, et al. *Longitudinal characterization of herpes simplex virus (HSV) isolates acquired from different sites in an immune-compromised child: a new HSV thymidine kinase mutation associated with resistance*. J Ped Infect Dis 2012; 1(2): 116-24.

## *Antiviral Effect Assay of Thymus Kotschyanus and Nerium Oleander on HSV-1 in Vitro*

*Farahani M(MSc)\**

*Department of Microbiology, Islamic Azad University, Qom Branch, Qom, Iran*

*Received: 14 Jul 2012*

*Accepted: 21 Feb 2013*

### *Abstract*

**Introduction:** The treatment of HSV-1 diseases with the anti-herpes drugs often leads to the problem of viral resistance. There is a requirement for new efficient antiviral drugs. Medicinal plants with therapeutic application for different ailments in traditional medicine can be a useful way in this field. In the present study, Thymus kotschyanus and Nerium oleander with ethno-medical background were screened for antiviral property on HSV-1.

**Methods:** The plants were extracted to obtain crude aqueous extract. These extracts were screened for their cytotoxicity against Hep II cell line by CPE (cytopathic effect) assay. Antiviral effect of the plant extracts were determined by cytopathic effect inhibition assay.

**Results:** CC50 of Nerium oleander and Thymus kotschyanus extract was obtained with 4.73 $\mu$ g/ml and 9.28  $\times 10^2$  $\mu$ g/ml respectively. Thymus kotschyanus extract inhibited HSV-1 multiplication at concentrations of 200-900 $\mu$ g/ml. Its EC50 and IC50 was 48.36  $\mu$ g/ml and 1.12  $\times 10^2$  $\mu$ g/ml.

**Conclusions:** Thymus kotschyanus plant showed significant Antiviral effect on HSV-1, but Nerium oleander plant was toxic on it. Further research is required to find the mechanism of these plants' effects in order to be used in conformation of anti-herpes drugs.

**Keywords:** Antiviral effect; HSV-1; Nerium oleander; Thymus kotschyanus

**This paper should be cited as:**

Farahani M. *Antiviral effect assay of thymus kotschyanus and nerium oleander on hsv-1 in vitro*. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2013; 21(2): 189-96.

**\*Corresponding author: Tel: +98 861 2241127, Email: ami.airia@gmail.com**