فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۳، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۱۶۵-۱۵۷ (۱۳۸۶)

اثر اسانس مورد (*Myrtus communis* L.) در درمان تبخال در مدل حیوانی

پرویز اولیاء[۱]، حوریه صادری[۱]، حمید آقایی[۲]، رویا یارایی[۳] و فرید زائری[٤]

۱- دانشیار گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، پست الکترونیک: owlia@shahed.ac.ir
۲- پزشک عمومی، دانشگاه شاهد
۳- استادیار گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد
٤- استادیار آمار گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد

چکیده

ویروس هرپس‌سیمپلکس۱ عامل عفونتهای مختلفی چون تبخال، انسفالیت، کراتوکونژ نکتیویت و بسیاری از عفونتهای دیگر است که در مواردی می‌تواند سبب مرگ بیمار شود و از طرفی گیاه مورد (*Myrtus communis* L.) سالهاست که در طب سنتی کاربرد دارد. در این مطالعه اثر غلظت‌های مختلف اسانس مورد بر عفونت ویروس هرپس‌سیمپلکس ۱ در موش آزمایشگاهی مورد آزمایش قرارداده شد. برای انجام این تحقیق، ویروس HSV-1 را در کشت سلولی تکثیر داده و بعد عیار آن بر حسب PFU/ml تعیین گردید. از PFU با رقت 10^{-6} ویروس جهت آلودگی موشها استفاده شد. بعد از زدودن موهای ناحیه پهلوی حیوان، با سوزن سرنگ، خراش پوستی ایجاد و ۵ میکرولیتر از ویروس 10^{-6} PFU روی آن تلقیح گردید. موشها در گروههای ۵ تایی تقسیم شدند. سه گروه تحت درمان، با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ mg/ml اسانس قرار گرفتند و گروه چهارم کنترل بود که با وازلین (بدون دارو) تیمار شدند. گروه پنجم و ششم هم با داروی تجاری میرتوپلکس و آسیکلوویر مداوا شدند. نتایج نشان داد که ایجاد وزیکول در گروههای اسانس مورد با غلظت ۵ mg/ml، ۱۰ mg/ml و ۱۵ mg/ml نسبت به گروه شاهد (وازلین) تأخیر داشته است. همچنین مشخص شد که ایجاد پوسچول در گروه اسانس مورد با غلظت ۱۵ mg/ml نسبت به گروه شاهد و گروههای دیگر به تأخیر افتاده است. ارزیابی آماری بر روی سه گروه اسانس مورد با غلظت‌های فوق نشان دهندهٔ این بود که به صورت معنی‌داری زمان ایجاد ضایعه پوسچول در گروه اسانس مورد با غلظت ۱۵ mg/ml نسبت به گروههای با غلظت ۵ mg/ml، ۱۰ mg/ml تأخیر داشته است. تحقیق حاضر نشان می‌دهد که اسانس مورد با غلظت ۱۵ mg/ml باعث ایجاد تأخیر در زمان ایجاد پوسچول می‌شود و احتمالاً با تحقیقات بیشتر می‌توان از این اسانس در درمان تبخال استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: ویروس هرپس‌سیمپلکس۱، مدل حیوانی، اسانس مورد.

مقدمه

ویروس هرپس‌سیمپلکس۱ عامل عفونتهای مختلفی چون تبخال، انسفالیت، کراتوکونژ نکتیویت و بسیاری از عفونتهای دیگر است که در مواردی می‌توانند سبب مرگ بیمار شوند (جاوتز و همکاران، ۱۳۸۲؛ مورای؛ ۱۳۸۳ ووگان و همکاران، ۱۳۷۹). به علت شیوع بالای این ویروس و

همچنین امکان عفونت دوباره در افراد به علت فعال شدن ویروس مخفی در گانگلیون عصبی، داروهای ضد ویروس زیادی برای عفونتهای حاصل از این ویروس تهیه شده است. اغلب این داروها اثرات سوء جانبی بر سلولهای سالم نیز دارند. بعلاوه سویه‌های مقاوم به این داروها ایجاد شده و در حال گسترش هستند (Witley, 2001). به همین دلیل به کارگیری داروهای گیاهی در درمان این عفونتها جدیداً مورد توجه زیاد قرار گرفته است و نشان داده که عصاره یا اسانس برخی از گیاهان قادر است زمان ایجاد زخمهای تبخالی را به تأخیر انداخته و میزان مرگ و میر در حیوانات ناشی از ویروس را کاهش دهد (Khan *et al*, 2005).

مورد، درختچه‌ای است همیشه سبز به بلندی حدود ۳ متر، برگهای آن متقابل، بیضی، نوک تیز، کامل، براق به رنگ سبز تیره بسیار زیبا و معطر که طول هر برگ ۵-۲/۵ سانتیمتر است. اسانس مورد دارای خاصیت ضد باکتری در مقابل میکروارگانیسم‌های گرم مثبت حتی در محلولهای خیلی رقیق است ولی در مقابل باکتریهای گرم منفی حتی محلولهای غلیظ آن نیز بی‌اثر است.

Zolfaghari و همکاران (۱۹۹۷) فعالیت اسانس مورد را در مدل انسانی مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران نشان دادند که اسانس مورد باعث افزایش بهبودی و کاهش درد و خارش در مبتلایان به تبخال می‌شد. در یک بررسی که توسط محققانی از دانشگاه شهید بهشتی، دانشگاه شاهد و مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در ایران صورت گرفته است با آنالیز GC-MC ترکیب شیمیایی اسانس مورد ایرانی مشخص شده است. در این بررسی ۳۲ ترکیب اصلی در اسانس شناسایی شد که در این میان آلفا پینن، لیمونن،۱ ،۸- سیننول و لینالول اصلی‌ترین ترکیبهای این اسانس بوده‌اند. همچنین در این بررسی با روش دیسک دیفیوژن و تعیین MIC و MBC اثر اسانس بر اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکانس نشان داده شده است (Yadegarinia *et al*., 2006).

برخی از مطالعات نشان دهنده اثر ضد باکتریایی اسانس مورد علیه برخی از باکتریها از جمله: بردتلا برمنشی سپتیکا، استافیلوکوکوس ارئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، باسیلوس سرئوس و غیره می‌باشد (Yadegarinia *et al*., 2006; Bonjar, 2004). همچنین در مطالعات صورت گرفته نشان داده شده است که این اسانس می‌تواند در درمان آفت که احتمالاً یک بیماری ویروسی است، مؤثر باشد (Price & Scordato, 1999).

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف این اسانس در درمان عفونت حاصل از HSV-1 در موش آزمایشگاهی و مقایسه آن با داروهای رایج می‌باشد.

مواد و روشها

اسانس مورد: این اسانس توسط مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و از گیاه تأیید شده *Myrtus communis* تهیه شد.

موش: در این طرح ٦ گروه ٥ تایی موش آزمایشگاهی از جنس نر و گونه Balb/C، در محدوده وزنی بین ۱۳-۹ گرم و سن ٤-۳ هفته مورد استفاده قرارگرفتند. موشها از انیستیتو پاستور تهیه شد. موشها دو روز قبل از شروع کار از مرکز یاد شده آورده شدند تا با محیط تطابق حاصل کنند. حیوانات از غذای فشرده و آب تصفیه شده شهری بدون هیچ محدودیتی استفاده می‌کردند.

ویروس HSV-1: از سویه استاندارد KOS در این مطالعه استفاده شد.

سلول Vero: از بانک سلولی ایران با کد NCBI C101 خریداری گردید.

داروی میرتوپلکس ۵ گرمی و آسیکلوویر (۱۰ گرمی با غلظت ۵ درصد، داروسازی بهورزان رشت) که از داروخانه تهیه شد.

نگهداری و تکثیر کشت سلولی

در مرحله اول برای کشت سلول Vero در شرایط کاملاً استریل حدود ٤/٥ سی‌سی محیط RPMI را داخل سرنگ کشیده و در داخل انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گذاشته شد. بعد از حدود ۱۵ دقیقه ویال حاوی سلول Vero را از تانک نیتروژن مایع برداشته و در دمای ۳۷ درجه قرار داده و بلافاصله پس از ذوب آن به همراه ٤/٥ سی‌سی RPMI را که قبلاً آماده شده بود و ۵۰۰ میکرولیتر FBS، داخل فلاسک ریخته و فلاسک را به داخل انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گذاشته شد. روز بعد، محیط را عوض کرده و دوباره حدود ۱۵ دقیقه فلاسک را داخل انکوباتور گذاشته و بعد آن را برداشته و محتویات آن را تخلیه کرده و با ۵ سی‌سی سرم شستشو داده و آن را تخلیه کرده و بلافاصله ٤/٥ سی‌سی RPMI و ۵۰۰ میکرولیتر FBS به آن اضافه کرده و بلافاصله فلاسک به انکوباتور منتقل می‌شد. در روز سوم سلولهای Vero کل فلاسک را پر می‌کردند و باید در این مرحله سلولها دوباره پاساژ داده می‌شد.

تکثیر ویروس در کشت سلولی

یک فلاسک پر از سلول Vero را انتخاب کرده و محیط کشت روی آن را دور ریخته، و بعد ویال حاوی ویروس را از فریزر۷۰- درجه سانتیگراد درآورده و پس از ذوب شدن، باتوجه به این که ویروس فریز شده از قبل چه عیاری داشته و چه مدت فریز شده است، ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرولیتر از آن را به داخل فلاسک ریخته و بعد از اضافه کردن محیط کشت جدید درب فلاسک را کاملاً بسته، ۷۲ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. پس از مشاهده اثر سایتوپاتیک ویروس، سلولها را در محیط کشت رویی به حالت سوسپانسیون در آورده و به لوله استریل سانتریفیوژ منتقل می‌شد. بعد به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ می‌شد تا لاشه‌های سلولیVero رسوب کند. محیط رویی را که حاوی ویروس تکثیر شده بود در ویالهای کوچک تقسیم و فریز می‌شد.

تعیین عیار ویروس

برای تعیین عیار ویروس در هنگام پاساژ سلولها به جای انتقال به فلاسک جدید، تعداد سلولهای داخل ٤ سی‌سی RPMI حاصل از پاساژ را با استفاده از لام نئوبار شمارش نموده، حدود ۱۰۰۰۰۰ سلول در حجم حدود ۵۰۰ میکرولیتر به خانه‌های پلیت ۲٤ خانه اضافه می‌شد. بعد از ۲٤ ساعت یک ویال فریز شده ویروس را از فریزر خارج کرده و پس از ذوب آن، تعداد ۷ میکروتیوب با حجم ۱/۵ سی‌سی را برداشته، در داخل میکروتیوب اول از محلول فوق ۵۰۰ میکرولیتر RPMI بعلاوه ۵ میکرولیترسوسپانسیون HSV-1، در میکروتیوب دوم ٤۵۰ میکرولیتر RPMI بعلاوه ۵۰ میکرولیتر از محتویات میکروتیوب اول، در میکروتیوب سوم ٤۵۰ میکرولیتر RPMI بعلاوه ۵۰ میکرولیتر از محتویات میکروتیوب دوم، در میکروتیوب چهارم ٤۵۰

میکرولیتر RPMI بعلاوه ۵۰ میکرولیتر از محتویات میکروتیوب سوم، در میکروتیوب پنجم ٤٥٠ میکرولیتر RPMI بعلاوه ۵۰ میکرولیتر از محتویات میکروتیوب چهارم، در میکروتیوب ششم ٤٥٠ میکرولیتر RPMI بعلاوه ۵۰ میکرولیتر از محتویات میکروتیوب پنجم و بالاخره در میکروتیوب هفتم ٤٥٠ میکرولیتر RPMI بعلاوه ۵۰ میکرولیتر از محتویات میکروتیوب ششم اضافه می‌شد. بدین ترتیب در میکروتیوب‌های ۱ تا ۷ به ترتیب رقتهای 10^{-2} تا 10^{-8} بدست می‌آمد. بلافاصله پس از رقیق‌سازی ویروس، پلیت ٢٤ خانه‌ای را که ٢٤ ساعت قبل در آن سلول Vero کشت شده بود از انکوباتور خارج نموده، محیطهای قبلی را دور ریخته و ۲ خانه اول را به عنوان شاهد منفی انتخاب نموده و در هر خانه ۲۰۰ میکرولیتر محیط RPMI ریخته و در بقیه خانه‌ها ۲۰۰ میکرولیتر از ۷ میکروتیوب که حاوی ویروس رقیق شده بود اضافه می‌شد (از هر رقت در دو خانه). بعد از حدود یک ساعت ١٦ خانه یاد شده را تخلیه کرده و از محلول RPMI حاوی یک درصد FBS، ٦۰۰ میکرولیتر به هر خانه اضافه می‌شد و در داخل انکوباتور قرار می‌دادیم. بعد ازحدود ۷۲ ساعت سلولها را نگاه کرده و اثر سایتوپاتیک ویروس در سلولها ثبت می‌شد. رقتی از ویروس که در نیمی از سلولهای تلقیح شده اثر سایتوپاتیک ایجاد نماید را به عنوان عیار ویروس در نظر گرفته و عیار ویروس بر حسب TCID50 بدست می‌آمد.

تلقیح ویروس به حیوان

حیوانات به طور تصادفی در ٦ گروه ۵ تایی تقسیم‌بندی شدند و مطالعه به صورت تجربی بر روی آنها انجام شد. در مرحله بعد موهای ناحیه پهلوی موشها را تراشیده و توسط سوزن یک خراش پوستی به طول یک میلیمتر روی آن ایجاد کرده و بعد حدود ۵ میکرولیتر از رقت ویروس معادل 10^{-6}TCID50 به آن تلقیح شد.

تهیه پماد از اسانس

برای بدست آوردن پماد از اسانس مورد با غلظت ۵ mg/ml، حدود ۵۰ گرم وازلین را حرارت می‌دهیم تا مایع شود. بعد حدود ۲۵۰ میکرولیتر از اسانس مورد را به آن اضافه کرده خوب هم زده تا کاملاً مخلوط شود. بعد محلول بدست آمده را در دمای اتاق گذاشته تا جامد شود. برای بدست آوردن اسانس مورد با غلظت ۱۰ mg/ml و ۱۵ نیز مثل بالا عمل می‌کنیم ولی به جای ۲۵۰ میکرولیتر اسانس مورد به ترتیب از ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر اسانس استفاده می‌شود.

بررسی اثر اسانس و داروها در مدل حیوانی

در موشهای گروه یک وازلین (شاهد)، گروه دو پماد اسانس مورد با غلظت ۵ mg/ml، گروه سه اسانس پماد مورد با غلظت ۱۰ mg/ml، گروه چهار اسانس پماد مورد با غلظت ۱۵ mg/ml، گروه پنجم آسیکلوویر و گروه شش میرتوپلکس استفاده شد. روش استفاده به این شکل بود که از روز بعد از تلقیح ویروس به مدت ۱۰ روز، روزی ۳ مرتبه در هر بار حدود ۰/۵ گرم از داروهای فوق را روی زخم قرار داده تا کاملاً توسط دارو پوشانده می‌شد.

محاسبات آماری

آنالیز آماری توسط نرم افزارSPSS انجام شد. ارزیابی آماری که در این طرح به کار برده شد آزمون ANOVA بود

که جهت ارزیابی معنی‌دار شدن زمان ایجاد ضایعات و قطر ضایعات به کار رفت. پس از آن نیز تست DUNCAN که برای مقایسه بین متغیرهایی که معنی‌دار شده‌اند به کار برده شد و نتایج با $P<0.05$ معنی‌دار تلقی می‌شد.

نتایج

همان طور که در جدول ۱ نشان داده شده است در گروه شاهد (وازلین)، وزیکول از روز دوم شروع شده، در مورد آسیکلووویر و میرتوپلکس زمان ایجاد وزیکول از روز سوم بوده اما در مورد پماد حاوی اسانس مورد با غلظت ۵mg/ml، ۱۰mg/ml و ۱۵mg/ml زمان ایجاد وزیکول از روز چهارم بوده است.

نتایج حاصل از بررسی آماری به روش ANOVA نشان داد که به صورت بارز ایجاد وزیکول در گروههای اسانس مورد با غلظت ۵ mg/ml، ۱۰ mg/ml و ۱۵ mg/ml نسبت به گروه شاهد (وازلین) تأخیر داشته است (P=0.000).

مطابق جدول ۱ در گروه شاهد (وازلین)، اسانس مورد با غلظت ۵ mg/ml، ۱۰ mg/ml، آسیکلووویر و میرتوپلکس پوسچول از روز ششم شروع شده ولی در مورد اسانس مورد با غلظت ۱۵ mg/ml پوسچول به تأخیر افتاده و از روز هفتم شروع شده است.

نتایج حاصل از بررسی آماری به روش ANOVA نشان داد که به صورت بارز ایجاد پوسچول در گروه اسانس مورد با غلظت ۱۵ mg/ml نسبت به گروه شاهد و گروههای دیگر به تأخیر افتاده است.

آزمون تکمیلی Duncan نشان داد در زمان ایجاد وزیکول با بکارگیری اسانس مورد با غلظت ۱۰ mg/ml و ۱۵ mg/ml بیشتر به تأخیر می‌افتد.

همان طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، بیشترین قطر وزیکول (۲ میلیمتر) در گروه اسانس مورد با غلظت ۱۰ mg/ml بوده است و کمترین قطر ضایعه (۰/۵ میلیمتر) در بقیه گروهها به طور یکسان بوده است. بیشترین قطر پوسچول (۳ میلیمتر) در گروه میرتوپلکس بوده است و کمترین قطر پوسچول (۰/۵ میلیمتر) در گروه اسانس مورد با غلظت ۵ mg/ml، ۱۰ mg/ml و ۱۵ mg/ml بوده است.

نتایج حاصل از بررسی آماری به روش ANOVA نشان داد که قطر وزیکول و پوسچول در گروههای مختلف مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری ندارد ($P>0.05$)، اما بررسی در سه گروه اسانس مورد با غلظت ۵ mg/ml، ۱۰ mg/ml و ۱۵mg/ml نشان دهندهٔ این بود که به صورت بارز زمان ایجاد ضایعه پوسچول در گروه اسانس مورد با غلظت ۱۵ mg/ml نسبت به گروه غلظت ۵ mg/ml، ۱۰ mg/ml تأخیر داشته است (P=0.001).

همان طور که جدول ۳ نشان می‌دهد از مجموع موشهای مورد آزمایش در گروههای مختلف، در گروه شاهد (وازلین) تعداد مرگ و میر موشها ۲ مورد بوده که در روزهای ٦ و ۸ بوده است و نسبت زنده ماندن برابر ٦۰ درصد بوده، در گروه آسیکلووویر نیز تعداد مرگها ۲ مورد بوده ولی مرگها در روز پنجم و ششم اتفاق افتاده و نسبت زنده ماندن نیز ٦۰ درصد بوده است. در سایر گروهها در طول مدت تحقیق هیچ مرگ و میری مشاهده نشد و نسبت زنده ماندن ۱۰۰ درصد بوده است.

جدول ۱- نتایج حاصل از روند بروز ضایعات در گروههای مختلف موشهای مورد آزمایش

نام دارو	وزیکول			پوسچول		
	حداقل زمان ایجاد وزیکول (روز)	حداکثر زمان ایجاد وزیکول (روز)	میانگین ± SD	حداقل زمان ایجاد پوسچول (روز)	حداکثر زمان ایجاد پوسچول (روز)	میانگین ± SD
وازلین	۲	۳	۲/٤±۰/٥٤	٦	٦	٦±۰
پماد اسانس مورد mg/ml٥	٤	٤	٤ ±۰	٦	٦	٦±۰
پماد اسانس مورد mg/ml۱۰	٤	٥	٤/۲٥ ±۰/٥	٦	٦	٦±۰
پماد اسانس مورد mg/ml۱٥	٤	٥	٤/۲٥ ±۰/٥	۷	۸	۷/۳۳ ± ۰/٥۷
آسیکلوویر	۳	۳	۳ ±۰	۲	٦	٦±۰
میرتوپلکس	۳	۳	۳/۲۰±۰/٤٤	٦	٦	٦±۰

جدول ۲- نتایج حاصل از قطر ضایعات در گروههای مختلف موشهای مورد آزمایش

نام دارو	وزیکول			پوسچول		
	حداقل قطر وزیکول (میلیمتر)	حداکثر قطر وزیکول (میلیمتر)	میانگین ± SD	حداقل قطر پوسچول (میلیمتر)	حداکثر قطر پوسچول (میلیمتر)	میانگین ± SD
وازلین	۰/٥	۱	۰/۸ ± ۰/۲۷	۲	۲	۲ ± ۰
اسانس مورد mg/ml٥	۱	۱/٥	۱/۲٥ ± ۰/۲۸	۰/٥	۱/٥	۱ ± ۰/٤
اسانس مورد mg/ml۱۰	۰/٥	۲	۱/۱۲ ± ۰/٦۲	۰/٥	۱	۰/۸۳ ± ۰/۲۸
اسانس مورد mg/ml۱٥	۰/٥	۱/٥	۰/۸۷ ± ۰/٤۷	۰/٥	۱/٤	۰/۹٦± ۰/٤٥
آسیکلوویر	۰/٥	۱	۰/۹ ± ۰/۲۲	۲	۲	۲ ± ۰
میرتوپلکس	۰/٥	۱	۰/۸ ± ۰/۲۷	۱	۳	۱/۸ ± ۰/۸۳

جدول ۳- نتایج حاصل از زمان مرگ و میر موشها در گروههای مختلف تیماری

نام دارو	تعداد زنده	تعداد مرده	نسبت بقاء
وازلین	۳	۲	٪۶۰= ۳/۵
اسانس مورد ۵mg/ml	۵	۰	٪۱۰۰=۵/۵
اسانس مورد ۱۰mg/ml	۵	۰	٪۱۰۰=۵/۵
اسانس مورد ۱۵mg/ml	۵	۰	٪۱۰۰=۵/۵
آسیکلوویر	۳	۲	٪۶۰=۳/۵
میرتوپلکس	۵	۰	٪۱۰۰=۵/۵

بحث

مطالعه در زمینه اثر گیاهان دارویی به عوامل بیماری‌زا به طور روز افزونی رو به گسترش است. اثر داروهای گیاهی بر ویروسها نسبت به باکتریها کمتر مطالعه شده است. زیرا ویروسها انگل اجباری داخل سلولی هستند و برای تعیین اثر داروها در آزمایشگاه به سیستم‌های کشت سلولی نیاز است. در بین ویروسها، ویروس هرپس‌سیمپلکس از نظر طیف وسیع بیماریهایی که ایجاد می‌کند و نیز احتمال بالای عوارض پایدار و مرگ اهمیت خاصی دارد و بیشتر مطالعات صورت گرفته در زمینه گیاهان دارویی بر روی این ویروس صورت گرفته است (Khan *et al*., 2005). اثر عصاره و اسانس گیاهان دارویی مختلف بر روی این ویروس در مطالعات زیادی نشان داده شده است (Kurokawa *et al*., 1999; Kurokawa *et al*., 2001; Vijayan *et al*., 2004; Chiang *et al*., 2003; Minami *et al*., 2003; Lipipum *et al*., 2003). اثرات ضد میکروبی گیاه مورد که در طب سنتی ایران نیز بسیار استفاده می‌شود در چند تحقیق نشان داده شده است. از جمله Yadegarinia و همکاران (۲۰۰۶) اثر اسانس مورد را بر اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکانس نشان داده‌اند. همچنین Bonjar (۲۰۰۴)، اثر عصاره متانولی برگ مورد را بر برخی از باکتریها از جمله استافیلوکوکوس‌ها نشان داده است. در حالی که این عصاره بر باسیلهای گرم منفی چون سودوموناس و اشریشیاکلی نیز مؤثر نبود. در این مطالعه عصاره متانولی بذر مورد نیز مورد آزمایش قرار گرفت که اثر آن برسودوموناس و اشریشیاکلی نیز دیده شد. هر دو مطالعه یاد شده اثرات مورد را بر باکتریها بیان نموده‌اند و فقط یک گزارش مبنی بر اثر اسانس مورد در کاهش درد و خارش و افزایش بهبودی تبخال در انسان یافت شد (Zolfaghari *et al*., 1997). ذکر این نکته ضروری است که هر سه گزارش یاد شده از محققان ایرانی بوده است و هیچ مقاله منتشر شده از محققان خارجی در این زمینه یافت نشده است. با این وجود پماد حاوی اسانس مورد به نام میرتوپلکس سالهاست که توسط یک شرکت دارویی معتبر ایران تولید و به بازار عرضه می‌شود که پزشکان مصرف آن را در تبخال توصیه می‌نمایند. بنابراین در این مطالعه بر آن شدیم تا اثرات غلظت‌های مختلف اسانس مورد را بر زخمهای حاصل از ویروس HSV- 1 (سویه استاندارد KOS) بررسی نموده و آن

را با میرتوپلکس و آسیکلوویر کـه داروی انتخـابی تبخـال می‌باشد مقایسه نماییم. گروه شاهد نیز بجـای ایـن داروهـا، وازلین (محیط پایه برای تهیه غلظت‌هـای مختلـف اسـانس) دریافت می‌نمودند.

به طور خلاصه می‌توان گفـت ایـن مطالعـه و مطالعـات دیگر نشان دهنده اثرات ضد میکروبـی و ویروسـی عصـاره مورد می‌باشد و نشانگر وجود ترکیبهـای ضـد ویروسـی در اسانس مورد است که با مطالعات بیشتر در مدلهای in vitro از جمله کشت سلولی و نیز آزمایشهای فراتر امید اسـت، در آینده بتـوان از آن داروی مناسـب جهـت درمـان عفونتهـای هرپس به خصوص تبخال را تهیه نمود.

سپاسگزاری

بدین وسیله ازحمایتهای معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد و بخـش تحقیقـات گیاهـان دارویـی و محصـولات فرعـی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشـور تشـکر و قـدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

– جـاوتز، م.، آدلبـرگ، ب. و مـوری، ب.، ۱۳۸۲. میکـروب‌شناسـی جاوتز. ترجمه رحیمی، م.ک.، و اطهـری، ع.، انتشـارات آییـژ، تهـران ، ۱۱۱۰ صفحه.

– مورای، پ.، ۱۳۸۳. میکروب‌شناسی پزشکی، ترجمـه نـوروزی، ج.، انتشارات اندیشه رفیع، تهران، ۳۰۲ صفحه.

– ووگان، د.، اسـپوری، ت.، و ریـوردن او. پ.، ۱۳۷۹. کلیـات چشـم پزشـکی. ترجمـه مؤیـد، ح.، و لطفـی صـدیق، ا.، تبریـز ،۱۳۷۹، ۱۳۱ صفحه.

- Bonjar, G.H., 2004. Antibacterial screening of plants used in Iranian folkloric medicine. Fitoterapia, 75(2): 231-235.

- Chiang, L.C., Cheng, H.Y., Liu M.C, Chiang, W. and Lin, C.C., 2003. In vitro – herpes simplex viruses and anti adenoviruses activity of twelve traditionally used medicinal plants In Taiwan. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 6(11): 1600-1604.

- Khan, M.T., Ather, A., Thompson, K. D. and Gambari, R., 2005. Extracts and molecules from medicinal plant against herpes simplex viruses. Antiviral Research, 67: 107- 119.

- Kurokawa, M., Hozumi, T., Tsurita, M., Kadota, S., Namba, T. and Shiraki, K., 2001. Biological characterization of Eugeniin as an Anti herpes simplex Type 1 Compound in-vitro and in-vivo. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 297(1): 372-379.

- Kurokawa, M., Basnet, P., Ohsugi, M., Hozumi, T., Kadota, S., Namba, T., Kawana, T. and Shiraki, K., 1999. Anti herpes simplex viruses activity of moronic acid purified form Rhus javanica in-vitro and in-vivo. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 289(1): 72-78.

- Lipipun, V., Kurokawa, M., Suttisri, R., Taweechotipatr, P., Hattori, M. and Shiraki, K., 2003. Efficacy of thai medicinal plant extracts against herpes simplex virus type 1 infection in vitro and in-viro. Antiviral Research, 60: 178-180.

- Minami, M., Kita, M., Nakaya, T., Yamamoto, T., Kuriyama, H. And Imanishi., J., 2003. The inhibitory effect of essential oils on HSV-1 replication in-vitro. Microbiology and Immunology, 47(9): 681-684.

- Price, A. and Scordato, E., 1999. The American pharmaceutical association practical guide to natural medicines. N Stonessony Press Inc New york.

- Vijayan, P., Raghu, C., Ashok, G., Dhanaraja, S. A. and Suresh, B., 2004. Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. Indian Journal of Medical Research, 120: 24-29.

- Whitley, R.J., 2001. Herpes simplex viruses. In: Knipe, D.M., and Howley, D.M., (eds.). Fields virology, Volume 2, Lippincott Williams & Wilkins, USA, 3087 p.

- Yadegarnia, D., Gachkar, L., Rezaei, M.B. and Rasooli, I., 2006. Biochemical activities of Iranian Mentha piperita L. and Myrtus communis L. essential oils. Phytochemistry, 67(12): 1249-55.

- Zolfaghari, M.E., Salamian, P., Riazi, A.and Khaksar, G., 1997. Clinical trial of efficacy of myrtle oil in the treatment of herpes simplex. Iranian Journal of Medical Sciences, (3&4): 137.

The effect of *Myrtus communis* L. essential oil on treatment of Herpes simplex infection in animal model

P. Owlia[1], H. Saderi[1], H. Aghaee[2], R. Yaraee[3] and F. Zayeri[4]

1- Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University, P.O. Box: 14155-7435, Email: owlia@shahed.ac.ir
2- MD, Shahed University
3- Assistant Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahed University
4- Assistant Professor, Department of Social Medicine, Faculty of Medicine, Shahed University

Abstract

Herpes simlex virus causes various infections such as cold sore, encephalitis, keratoconjunctivitis and many other infections. In some cases, these diseases may lead to the patient's death. *Myrtus communis* L. essential oil is used in traditional medicine since antiquity. In this study, we have evaluated the effect of the *Myrtus communis* essential oil at various concentrations on the infection caused by the Herpes simplex 1 virus in mice. The HSV-1 virus was reproduced in cell culture and then its titer was determined in terms of PFU/ml. PFU of 10^{-6} of the virus dilution was used to infect mice. After shaving hair on body sides of the animals, a scratch was created by the needle and five micro liters of the 10^{-6} PFU was inoculated onto the scratch. The mice were divided into five member groups. Tree groups were treated with 5, 10 and 15 mg/ml concentration of the *Myrtus communis* essential oil, the fourth was the control group that was treated with the vaselin (free from the medicine). The fifth and sixth groups were treated with commercial Myrtoplex and Asiclovir ointments. The mice were treated for 10 days and probable deaths and wounds were examined. The time of initiation and development of wounds or deaths in the experimental and those of the control groups were recorded. Results obviously showed the creation of vesicles in the group treated with *Myrtus communis* essential oil (5, 10 and 15 mg/ml) was delayed as compared to the control group (vaselin). The results also clearly show a delay in the creation of pustules in the group treated with *Myrtus communis* essential oil at 15 mg/ml concentration as compared to the group treated at 5mg/ml and 10 mg/ml concentrations (P=0.001). This study show that *Myrtus communis* essential oil at 15mg/ml concentration delays the creation of pustules that could be used in control or treatment of herpes simplex.

Key words: *Herpes simplex* virus 1, animal model, *Myrtus communis*, essential oil.