



دانشکده طب سنتی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی

رساله

جهت دریافت درجه دکترای تخصصی Ph.D. داروسازی سنتی

عنوان

تهیه یک شکل دارویی موضعی جهت درمان سوختگی بر اساس منابع طب سنتی ایران و ارزیابی کارایی آن در مدل سوختگی موش صحرائی

اساتید راهنما

دکتر هما حاجی مهدی پور

دکتر محمد عبداللهی

استاد مشاور

دکتر سید علیرضا مرتضوی

نگارش

دکتر شیرین فهیمی تفرشی

چکیده فارسی

عنوان: تهیه یک شکل دارویی موضعی جهت درمان سوختگی بر اساس منابع طب سنتی ایران و ارزیابی کارایی آن در مدل سوختگی موش صحرائی.

سابقه و هدف: سوختگی یکی از رایج‌ترین و مخرب‌ترین انواع جراحات پوستی بوده و با وجود گزینه‌های درمانی متعدد، بهبود زخم‌های سوختگی هنوز هم در طب مدرن به عنوان یک معضل مورد بحث است. طب سنتی ایران به عنوان سرمایه‌ای عظیم و سرشار از درمان‌های طبیعی، حاوی فراورده‌های متعددی برای درمان سوختگی است. با توجه به این امر، هدف این تحقیق ابتدا فرمولاسیون یک فراورده گیاهی جهت بهبود سوختگی با استفاده از منابع طب سنتی ایران و در ادامه ارزیابی اثرات بهبود زخم فراورده تهیه‌شده در مدل سوختگی موش صحرائی و در نهایت تهیه Fingerprint فراورده بوده است.

مواد و روشها: ابتدا مفردات موثر بر سوختگی از منابع طب سنتی ایران استخراج شدند. سپس نسخ ترکیبی مورد بررسی قرار گرفتند و در نهایت نسخه‌ای حاوی مفردات پرتکرار در کتب، گزینش شد. در ادامه، یک فرمولاسیون موضعی به شکل پماد از عصاره‌های سه مفرده شامل عصاره‌های آبی برگ پنیرک و تاجریزی و عصاره روغنی گلبرگ گل محمدی در پایه‌ای حاوی وازلین، اوسرین و موم زنبور تهیه گردید. علاوه بر انجام آزمایشات کنترل فیزیکی، میکروبی و نیز بررسی رفتار رئولوژیک پماد، میزان پلی فنل‌ها و تانن‌های تام موجود در گیاهان، عصاره‌ها و پماد با استفاده از معرف فولین سیوکالتو و پودر هاید اندازه‌گیری شدند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پماد تهیه‌شده نیز با استفاده از رادیکال آزاد DPPH بررسی گردید. بعلاوه اثرات ضد میکروبی عصاره‌ها و پماد علیه دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به روش میکروداپلوشن ارزیابی شد. کارایی فراورده تهیه‌شده در مقایسه با کرم سیلورسولفادیازین ۱٪ روی موش‌های صحرائی به عنوان مدل سوختگی بررسی گردید و در طول یک دوره درمان چهارده روزه، درصد بهبود زخم و پارامترهای هیستوپاتولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفتند. در نهایت فینگرپرینت فراورده توسط روش HPTLC تهیه گردید.

یافته‌ها: فراورده تهیه‌شده با دارا بودن خواص فیزیکی مناسب، آزمایشات کنترل میکروبی را نیز با موفقیت پشت سر گذاشت. علاوه بر این رفتار پلاستیک پماد در بررسی‌های رئولوژیک آشکار گردید. انجام آزمایشات کیفی و کمی، وجود ترکیبات فنلی و تانن‌ها را در کنار اثرات ضد استافیلوکوکوس اورئوس در عصاره‌ها و پماد آشکار ساخت. بعلاوه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی پماد تهیه‌شده مشخص گردید (IC_{50} معادل $6/54 \pm 0/51$ میلی گرم/میلی لیتر برای فرکشن متانلی). نتایج ارزیابی فراورده روی موش صحرائی به عنوان مدل سوختگی،

بیشرفت قابل توجهی را در بهبود زخم موش‌های درمان‌شده با فراورده در مقایسه با کرم سیلورسولفادیاژین ۱٪ در پایان دوره درمان نشان داد ($p < 0.05$). بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نیز مشخص کرد که بافت زخم درمان‌شده با پماد، حاوی سلول‌های التهابی کمتر و اپیتلیال‌زایی بیشتری نسبت به بقیه گروه‌ها بوده و پدیده رگ‌زایی به عنوان شاخص بهبود زخم در این گروه به خوبی نمایان بود. فینگر پرینت به روش HPTLC وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی مربوط به حضور عصاره‌های گیاهی در فراورده تهیه‌شده را آشکار ساخت.

نتیجه‌گیری: اثرات بهبود زخم فراورده تهیه‌شده احتمالاً ناشی از اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضدالتهابی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و تانن‌های موجود در عصاره‌های بکاررفته در آن می‌باشد و بدین ترتیب کاربرد گیاهان پنیرک، تاجریزی و گل محمدی در فراورده‌های سوختگی طب سنتی ایران تایید می‌گردد. بعلاوه، فینگر پرینت به روش HPTLC می‌تواند به عنوان یک روش کارآمد جهت کنترل کیفیت فرمولاسیون تهیه‌شده مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: پنیرک، تاجریزی، گل محمدی، بهبود زخم سوختگی، فینگر پرینت، طب سنتی ایران.

Abstract

Title: Preparation of a topical dosage form for burns based on Iranian Traditional Medicine references and evaluation of its efficacy in rat burn model.

Background and objectives: Burns are one of the the most common and devastating forms of trauma. Despite the discovery of several antiseptics, burn wound healing still has remained a challenge to modern medicine. In Iranian Traditional Medicine (ITM) plants have a special role in treatment of various diseases. Burns have been discussed in ITM as well and several ITM prescriptions have been devoted to burn healing. The aim of the present study was formulation of a polyherbal product, retrieved from ITM, for burn healing and evaluation of its efficacy in rat burn model. Moreover, fingerprint of the product was prepared.

Materials and Methods: By screening the Iranian ancient medical texts, first the most repeated herbs for burn healing was selected. Afterwards, burn prescriptions were screened and finally, a prescription containing some of the most frequent burn healing herbs in ITM was selected. A topical polyherbal product composed of aqueous extracts of *Malva sylvestris* and *Solanum nigrum* leaves and oily extract of *Rosa damascena* petals in an ointment base containing white petrolatum, eucerin and white beeswax was prepared. In addition to the microbiological tests, physical stability and rheological behavior of the polyherbal ointment (PHO) were assessed. Total phenolics and tannins contents of the plants, extracts and PHO were determined using folin-ciocalteu reagent and hide powder. Moreover, antioxidant activity of the polyherbal product was evaluated by DPPH method. Antimicrobial properties of PHO against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were assessed by micro-dilution method. Burn healing activity of PHO in comparison to silversulfadiazine 1% cream was evaluated in rat burn model. The topical treatment was used daily for 14 days and the percentage of wound healing and histopathological parameters of healed wounds were assessed. Moreover, fingerprinting of PHO was performed by HPTLC method.

Results: PHO, with its appropriate physical properties, successfully passed microbiological tests. Moreover, PHO exhibited plastic behavior in rheological evaluations. Qualitative and quantitative evaluations showed that phenolic compounds and tannins were present in the plants and their extracts as well as PHO. Moreover, DPPH assay revealed the antioxidant activity of PHO ($IC_{50}=6.54\pm 0.51$ mg/ml for methanolic fraction). The plant extracts and PHO exhibited antibacterial effects against *Staphylococcus aureus*. The results revealed that there was significant improvement in wound healing of rats treated with PHO in comparison

to silversulfadiazine 1% cream at the end of the treatment period ($p < 0.05$). In histopathology assay, the healed wounds in PHO-treated animals contained less inflammatory cells and had desirable re-epithelialization with remarkable neovascularization. HPTLC fingerprinting of PHO also demonstrated the presence of several phenolic compounds and flavonoids corresponding to the plant extracts.

Conclusion: In general, PHO experimentally and histopathologically revealed burn wound healing activity probably due to the antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of its polyphenols, flavonoids and tannin contents and confirmed the use of *Malva sylvestris*, *Solanum nigrum* and *Rosa damascena* in burn prescriptions in ITM. Moreover, HPTLC fingerprinting could be utilized as an applicable method for quality control of the prepared formulation.

Keywords: *Malva sylvestris*, *Solanum nigrum*, *Rosa damascena*, Burn wound healing, HPTLC fingerprinting, Iranian Traditional Medicine (ITM).