



دانشکده طب سنتی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی

رساله

جهت دریافت درجه دکترای تخصصی Ph.D. داروسازی سنتی

عنوان

**فرمولاسیون یک شکل دارویی موضعی جهت بهبود زخم
براساس منابع طب سنتی ایران و بررسی کارایی آن در مدل
زخم موش صحرایی**

اساتید راهنما

دکتر هما حاجی مهدی پور

دکتر سیدعلیرضا مرتضوی

اساتید مشاور

دکتر احمدرضا دهپور

دکتر غلامرضا حسن زاده

نگارش

دکتر مریم جهاننیده تجنگوکه

چکیده فارسی

عنوان: فرمولاسیون یک شکل دارویی موضعی جهت بهبود زخم براساس منابع طب سنتی ایران و بررسی کارایی آن در مدل زخم موش صحرایی.

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر گیاهان با تکیه بر منابع سنتی و بومی، به عنوان عوامل موثر در درمان بسیاری از بیماری‌ها شناخته شده‌اند. طب سنتی ایران به عنوان سرمایه‌ای عظیم و سرشار از درمان‌های طبیعی، حاوی فرآورده‌های متعددی برای درمان زخم است که در این میان، ترکیبات گیاهی از متداول‌ترین درمان‌های بکاررفته جهت مداوای زخم می‌باشد. با توجه به این امر، هدف این تحقیق ابتدا دستیابی به فرمولاسیونی جهت بهبود زخم با استفاده از منابع طب سنتی ایران بوده است و در ادامه اثرات بهبود زخم فرمولاسیون تهیه شده در مدل زخم موش صحرایی ارزیابی شده و در نهایت فینگرپرینت فرآورده تهیه گردیده است.

مواد و روش‌ها: پس از بررسی کتب مرجع طب سنتی، یک نسخه ترکیبی حاوی مؤثرترین مفردات برای درمان زخم شامل آلوئه، مر و کندر انتخاب شد. سپس دو فرمولاسیون موضعی به شکل Paste (فرآورده ۱۰٪ و فرآورده ۴۰٪) از این سه مفرد تهیه گردیدند. پس از انجام آزمایشات پایداری، کنترل فیزیکوشیمیایی، آزمونهای میکروبی و ارزیابی رفتار رئولوژیکی فرآورده‌ها، کارایی Paste‌های تهیه شده روی موش صحرایی ارزیابی شد. هفت گروه شش تایی از موش‌های صحرایی به عنوان مدل زخم ارزیابی شدند و در طول یک دوره درمان بیست و یک روزه در حالی که گروه اول هیچ درمانی دریافت نمی‌کرد، گروه‌های دوم تا هفتم به ترتیب با پماد تتراسیکلین، پماد آلفا، فرآورده ۴۰٪، فرآورده ۱۰٪، پایه ۰/۵٪ و پایه ۲٪ درمان شدند. درصد بهبود زخم به ترتیب در روزهای دوم، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم و نیز پارامترهای هیستوپاتولوژیک در روزهای چهاردهم و بیست و یکم در هفت گروه مورد بررسی قرار گرفتند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی Paste ۱۰٪ تهیه شده با استفاده از رادیکال آزاد DPPH و به روش رنگ‌سنجی بررسی گردید. در نهایت فینگرپرینت فرآورده ۱۰٪ توسط روش HPTLC با استفاده از پلیت سیلیکاژل، فازهای متحرک تولون: اتیل استات: هپتان، فرمیک اسید (۸۰:۲۰:۱۰:۳) و n-بوتانل، n-پروپانل، استیک اسید، آب (۵:۱۰:۱۵:۳۰) با معرف سولفوریک اسید ۱۰٪ در طول موج ۳۶۶ نانومتر تهیه گردید.

یافته‌ها: فرآورده‌های ۱۰٪ و ۴۰٪ تهیه شده با داشتن خواص ظاهری قابل قبول و قابلیت بخش مناسب بر روی پوست، در برابر تغییرات فیزیکی پایدار بوده و آزمایشات کنترل میکروبی را نیز با موفقیت پشت سر گذاشت. نتایج ارزیابی فرآورده روی موش صحرایی به عنوان مدل زخم، پیشرفت قابل توجهی را در بهبود زخم موش‌های درمان شده با فرآورده ۱۰٪ در مقایسه با سایر گروه‌ها در روز هفتم دوره درمان نشان داد ($p < 0.05$).

بعلاوه، نتایج حاصل از بررسی زخم در روزهای دوم، چهاردهم و بیست و یکم درمان نیز بیانگر اختلاف معنی‌دار اثرات بهبود زخم فراورده ۱۰٪ در مقایسه با گروه کنترل، تتراسایکلین و گروه‌های پایه بود ($p < 0.05$). در روز چهاردهم، فراورده ۴۰٪ نتایج بهتری بر روی بهبود زخم در مقایسه با گروه کنترل، تتراسایکلین و گروه‌های پایه ارائه داد ($p < 0.05$). بررسی‌های هیستولوپاتولوژیک زخم در روز بیست و یکم نیز مشخص کرد که بافت زخم درمان شده با ۱۰٪ Paste، حاوی سلول‌های التهابی کمتر و اپی‌تلیوم زایی بیشتری نسبت به بقیه گروه‌ها بوده و پدیده رگ‌زایی به عنوان شاخص بهبود زخم در این گروه به خوبی نمایان بود. بعلاوه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱۰٪ Paste تهیه شده نیز اثبات گردید. فینگر پرنیت به روش HPTLC وجود ترکیبات شاخص مربوط به حضور عصاره‌های گیاهی در فراورده تهیه شده را آشکار ساخت.

نتیجه‌گیری: با توجه به نقش ترکیبات سزکوئی‌ترینی، مانوز و بوسولیک اسید در روند بهبود زخم، می‌توان نتیجه گرفت که اثرات بهبود زخم فراورده تهیه شده احتمالاً ناشی از اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی ترکیبات موجود در مفرده‌های بکاررفته در آنمی‌باشد و بدین ترتیب کاربرد گیاهان آلوئه ورا، مر و کندر در فراورده طب سنتی ایران برای بهبود زخم تایید می‌گردد. بعلاوه، فینگر پرنیت به روش HPTLC می‌تواند به عنوان یک روش کارآمد جهت کنترل کیفیت فرمولاسیون تهیه شده مورد استفاده قرار گیرد. واژگان کلیدی: آلوئه ورا، مر، کندر، بهبود زخم، فینگر پرنیت، طب سنتی ایران.

Abstract

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

Background and objectives: Nowadays, plants are considered to have an important role in treatment of a vast spectrum of diseases according to their traditional and ethnobotanical resources. Iranian Traditional Medicine (ITM) manuscripts contain a collection of natural medications in which herbal prescriptions have been the most common treatments used for wound healing. The present study aimed to provide a formulation for wound healing based on ITM resources and evaluate its efficacy using rat excision wound model. Moreover, fingerprint of the product was prepared.

Materials and Methods: Iranian ancient medical texts were screened and one of the most repeated prescriptions with efficient ingredients containing *Aloe vera* (L.) Burm.f. (aloe), *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. (myrrh) and *Boswellia carteri* Birdw. (frankincense) was selected for wound healing. Two Formulations (PHP 10% & PHP 40%) were made with these herbal ingredients in the form of pastes. After conducting physical control, stability and microbiological tests and rheological behavior assessment of the formulations, wound healing activity of the pastes were evaluated in rats. Excision wounds were induced in seven groups consisting of six rats each. Group 1 received no treatment, while groups 2-6 received tetracycline ointment, Alpha ointment, PHP 40%, PHP 10%, paste base 0.5% and paste base 2% every day, for 21 days, respectively. The percentage of wound contraction on days 2, 7, 14 and 21 and histopathology parameters of healed wounds on 14th and 21st days were evaluated. Moreover, antioxidant activity of PHP 10% was evaluated using DPPH method. Moreover, fingerprinting of PHP was performed by HPTLC method using silica gel plates, solvent systems including toluene: ethyl acetate: heptan: formic acid 80:20:10:3 and *n*-butanol: *n*-propanol: acetic acid: water 30:15:10:5 and sulfuric acid 10% as reagent in 366 nm.

Results: PHP 10% and PHP 40% , with their suitable appearance and appropriate consistency, were stable towards physical changes and successfully passed microbiological tests. The results of *in vivo* assessment showed that there was a significant improvement in wound healing in PHP 10% group, in comparison with other groups at the 7th day of the treatment ($p<0.05$). Moreover, the healing effect of PHP 10% was significantly greater than the control, tetracycline and paste base groups on the 2nd, 14th and 21st days ($p<0.05$). On day

14, PHP 40% showed significant healing effect compared to the control, tetracycline and paste base groups ($p<0.05$). On day 21, fewer inflammatory cells were observed in PHP 10%-treated animals and this group demonstrated better re-epithelialization with remarkable neovascularization. In addition, the PHP 10% formulation exhibited antioxidant activity. HPTLC fingerprinting of PHP 10% also demonstrated the presence of several indicator compounds corresponding to the plant extracts.

Conclusion: Regarding to the role of boswellic acid, mannos and sesquiterpenes in healing process, considerable effect of PHP 10% on wound healing could probably be due to the antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of its phytoconstituents which confirmed the use of *A. vera*, *B. carteri* and *C. myrrha* in ITM prescriptions for wound treatment. Moreover, HPTLC fingerprinting could be utilized as an applicable method for quality control of the prepared formulation.

Keywords: Aloe vera, Commiphora myrrha, Boswellia carteri, wound healing, fingerprinting, Iranian Traditional Medicine (ITM)

(PHP: Poly Herbal Paste)