



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل
دانشکده داروسازی

پایان نامه برای دریافت درجه دکترای داروسازی

عنوان:

بررسی پتانسیل بهبود زخم عصاره لود شده گیاه گوش بره (*Stachys byzantina* K.Koch)

روی ژل پلی ونیل الکل در موش صحرایی

استاد راهنما:

دکتر حامد پارسا

دکتر زینب احمدیان

نگارش:

مصطفی قدرین جوشاتی

تقدیر و تشکر

اکنون که به یاری و راهنمایی اساتید گران قدر، موفق به پایان این رساله شده‌ام وظیفه خود دانسته که نهایت سپاسگزاری را از تمامی عزیزانی که در این راه به من کمک کرده‌اند به عمل آورم؛ از اساتید بزرگوار جناب آقای دکتر پارسا و سرکار خانم دکتر زینب احمدیان که راهنمایی این پایان نامه را بر عهده داشته‌اند کمال تشکر را دارم.

خالصانه از تمامی اساتیدی که در سال‌های مختلف تحصیل، متحمل زحمات شده‌اند متشکرم.

اهدا پایان نامه

تقدیم به مادرم دریای بی کران فداکاری و
روح پدرم که وجودم برایش همه رنج بود و
همسر مهربانم که همواره در طول تحصیل
متحمل زحماتم بود.

چکیده

مقدمه

گیاه *Stachys byzantina* که به گیاه گوش بره معروف است جهت درمان انواع زخم در بعضی نقاط دنیا و همچنین به صورت بومی در ایران استفاده می‌شود. جنس این گیاه *Stachys* بانام عمومی چای کوهی یا سنبله‌ای که یکی از بزرگ‌ترین و مهم‌ترین جنس‌های خانواده نعنا (Lamiaceae) هست و دارای کاربردهای متنوع بومی و سنتی هست که توجه محققین را به خود جلب کرده است. گیاه گوش بره دارای اثرات آنتی‌اکسیدان و آنتی‌باکتریال ثابت‌شده‌ای است و اثرات اتنوبوتانیکال مهمی را از خود نشان داده است. در این مطالعه اثر عصاره این گیاه بر روند بهبود زخم به صورت درون‌تن بررسی شده است.

روش کار

ابتدا گیاه انتخاب‌شده جمع‌آوری و عصاره گیری شد. بعد از ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محاسبه محتوای فنول تام و فلاونید تام، عصاره در پایه ژل پلی‌وینیل‌الکل وارد شد. با رعایت اصول اخلاقی تعیین‌شده توسط NIH در رابطه با کار با حیوانات آزمایشگاهی، حیوانات به ۴ گروه تقسیم شدند و تحت شرایط بی‌هوشی با استفاده از جراحی یک زخم برشی به ابعاد یک سانتی‌متر در پشت حیوان ایجاد گردید. گروه اول پایه حاوی ژل بدون عصاره، گروه دوم و سوم پایه حاوی عصاره ۵ و ۱۰ درصد و در نهایت گروه چهارم فیلم تگادرم را دریافت کردند. ابعاد زخم در روزهای ۰، ۳، ۷ و ۱۴ پس از جراحی اندازه‌گیری شد و نمونه بافتی زخم مورد بررسی هیستوپاتولوژی قرار گرفت.

یافته‌ها

محتوای فنول تام و فلاونید تام عصاره گیاه گوش بره به ترتیب $82/86 \text{ mgGE/g}$ و $23/32 \text{ mgQE/g}$ به دست آمد. مقدار IC_{50} فعالیت آنتی‌اکسیدانی $188/4 \text{ } \mu\text{g/ml}$ به دست آمد. درصد سطح باقیمانده زخم در روز هفتم برای گروه‌های ژل بدون عصاره، تگادرم، ژل با عصاره ۵ درصد و ژل با عصاره ۱۰ درصد به ترتیب $36/69$ ، $35/03$ ، $21/02$ و $26/03$ درصد به دست آمد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد عصاره ۵ و ۱۰ درصد گیاه گوش بره باعث تسریع روند بهبود زخم در مقایسه با گروه کنترل تگادرم و ژل بدون عصاره در حیوان رت می‌شوند. همچنین ژل حاوی عصاره ۵ درصد در مقایسه با ژل حاوی عصاره ۱۰ درصد، سرعت بالاتری را در روند ترمیم زخم نشان داد.

کلیدواژه‌ها: آنتی‌اکسیدان، آنتی‌باکتریال، زخم، گوش بره، *Stachys byzantina*

فهرست مطالب

۱	فصل اول-مقدمه
۲	۱-۱- مقدمه
۲	۲-۱- بیان مسئله
۴	۳-۱- اهداف پژوهش
۴	۱-۳-۱- هدف کلی
۴	۲-۳-۱- اهداف اختصاصی
۴	۳-۳-۱- فرضیه
۵	۴-۱- مروری بر ادبیات پیشین
۵	۱-۴-۱- استرس اکسیداتیو
۶	۲-۴-۱- التهاب
۷	۳-۴-۱- نقش التهاب و استرس اکسیداتیو در زخم
۹	۴-۴-۱- هیدروژل
۱۰	۵-۴-۱- مطالعات گیاه‌شناسی و گونه‌های منتخب
۱۰	۱-۵-۴-۱- تیره نعنا (Lamiaceae)
۱۱	۲-۵-۴-۱- جنس <i>Stachys</i> L
۱۲	۳-۵-۴-۱- <i>Stachys byzantina</i>
۱۳	۶-۴-۱- مطالعات فیتوشیمیایی جنس <i>Stachys</i>
۱۳	۱-۶-۴-۱- فلاونوئیدها
۱۷	۲-۶-۴-۱- مشتقات فنولیک؛ مشتقات استوفنون
۱۹	۳-۶-۴-۱- لیگنان‌ها
۱۹	۴-۶-۴-۱- ایریدوئیدها
۲۰	۵-۶-۴-۱- دی‌ترپن‌ها
۲۲	۶-۶-۴-۱- مشتقات تری‌ترپن و فیتواسترول‌ها
۲۳	۷-۴-۱- جایگاه جنس <i>Stachys</i> در اتنوفارماکولوژی و طب سنتی
۲۴	۸-۴-۱- مطالعات فارماکولوژیک جنس <i>Stachys</i>
۲۴	۱-۸-۴-۱- فعالیت آنتی‌اکسیدانی / محافظت سلولی
۲۶	۲-۸-۴-۱- فعالیت سمیت سلولی و ضد تکثیر سلولی
۲۷	۳-۸-۴-۱- سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS)
۲۸	۴-۸-۴-۱- فعالیت ضد تیروزیناز
۲۸	۵-۸-۴-۱- فعالیت ضد دیابت
۲۸	۶-۸-۴-۱- فعالیت ضد میکروبی
۲۸	۷-۸-۴-۱- فعالیت ترمیم زخم
۳۰	فصل دوم-مواد و روش‌ها
۳۱	۱-۲- مواد شیمیایی، دستگاه‌ها و روش‌های مورد استفاده

۳۱تجهيزات ۲-۲
۳۲ مواد و حلال ها ۳-۲
۳۲ روش کار ۴-۲
۳۲ جمع آوری و شناسایی گیاهان ۱-۴-۲
۳۲ تهیه عصاره تام ۲-۴-۲
۳۳ تعیین مقدار فلاونوئید تام ۳-۴-۲
۳۳ تعیین مقدار فنول تام ۴-۴-۲
۳۴ تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH ۵-۴-۲
۳۴ روش تهیه عصاره در هیدروژل با غلظت ۵ و ۱۰ درصد ۶-۴-۲
۳۵ بررسی اثر بهبود زخم ۷-۴-۲
۳۵ نگهداری حیوانات ۱-۷-۴-۲
۳۵ ایجاد زخم ۲-۷-۴-۲
۳۵ اعمال دارو و پایش زخم ۳-۷-۴-۲
۳۷ فصل سوم - نتایج
۳۸ جمع آوری و شناسایی گیاه ۱-۳
۳۹ تعیین مقدار فلاونید تام ۲-۳
۴۱ تعیین مقدار فنول تام ۳-۳
۴۲ تعیین فعالیت آنتیاکسیدانی به روش DPPH ۴-۳
۴۳ بررسی اثر بهبود زخم ۵-۳
۴۳ اندازه گیری مساحت زخم ۱-۵-۳
۴۶ بررسی هیستوپاتولوژی و سنتز کلاژن در ناحیه زخم ۲-۵-۳
۴۸ فصل چهارم - بحث و نتیجه گیری
۴۹ مقدمه ۱-۴
۴۹ بحث و بررسی نتایج ۲-۴
۵۴ پیشنهادات ۳-۴
۵۵ منابع

فهرست جدول‌ها

- جدول ۱-۲- مشخصات تجهیزات مورد استفاده در مطالعه حاضر..... ۳۱
- جدول ۲-۳- مشخصات مواد مصرفی در مطالعه حاضر..... ۳۲
- جدول ۱-۳- مشخصات گیاه جمع آوری شده..... ۳۸
- جدول ۲-۳- اطلاعات رگرسیون کوئرتین و مقدار فلاونید تام..... ۴۰
- جدول ۳-۳- اطلاعات رگرسیون گالیک اسید و مقدار فنول تام..... ۴۲
- جدول ۴-۳- اطلاعات رگرسیون DPPH و مقدار IC50..... ۴۳

فهرست شکل‌ها

- شکل ۱-۱- ساختارهای شیمیایی فلاون‌های جدا شده از گونه‌های *Stachys* ۱۴
- شکل ۲-۱- ساختارهای شیمیایی فلاونوئیدهای پلی متیله از *Stachys spp* ۱۵
- شکل ۳-۱- ساختارهای شیمیایی فلاونول‌های *Stachys spp* ۱۶
- شکل ۴-۱- ساختارهای شیمیایی فلاوانون‌ها از *Stachys spp* ۱۷
- شکل ۵-۱- ساختارهای شیمیایی مشتقات فنلی از گونه *Stachys* ۱۸
- شکل ۶-۱- ساختارهای شیمیایی گلیکوزیدهای استوفنون از *Stachys spp* ۱۸
- شکل ۷-۱- ساختارهای شیمیایی لیگنان از *Stachys spp* ۱۹
- شکل ۸-۱- ساختارهای شیمیایی ایریدوئیدها از *Stachys spp* ۲۰
- شکل ۹-۱- ساختارهای شیمیایی دی‌ترین‌ها از *Stachys spp* ۲۲
- شکل ۱۰-۱- مشتقات تری‌ترین و فیتواسترول‌ها از گونه‌های *Stachys* ۲۲
- شکل ۳-۱- تصویر مربوط به گیاه جمع‌آوری شده *Stachys byzantina* K. Koch ۳۹
- شکل ۳-۲- نمودار رگرسیون کوئرتستین ۴۰
- شکل ۳-۳- نمودار رگرسیون گالیک اسید ۴۱
- شکل ۳-۴- نمودار رگرسیون DPPH ۴۳
- شکل ۳-۵- عکس بردای از سطح زخم در روزهای ۳، ۷ و ۱۴ ۴۵
- شکل ۳-۶- اندازه‌گیری مساحت زخم با استفاده از نرم‌افزار ImageJ ۴۶
- شکل ۳-۷- نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی ۴۷