



دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده طب ایرانی

پایان نامه مقطع دکترای تخصصی (Ph.D.)

عنوان:

تهیه، استاندارد سازی و بررسی برون تنی اثر ضد زخمی فراورده طب سنتی ایرانی ذرور و
سامانه دارورسانی نیوزومی پیاز نرگس

توسط:

مریم رامشک

اساتید راهنما:

دکتر فریبا شریفی فر

دکتر میترا مهربانی

دکتر عباس پرداختی

استاد مشاور:

دکتر علیرضا فارسی نژاد

سال تحصیلی: ۹۷-۱۳۹۶

چکیده فارسی

مقدمه و اهداف: در طب سنتی ایران، فرآورده "ذرور" پیاز نرگس (*Narcissus tazetta*) برای درمان بیماریهای مختلف از جمله ترمیم زخم استفاده می شده است. اثرات آنتی ویروس، آنتی باکتریال، آنتی اکسیدان و ضد التهابی پیاز نرگس گزارش شده است اما اثر گیاه بر ترمیم زخم مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف این تحقیق عصاره گیری، استانداردسازی و تهیه فرمولاسیون نانونیوزومی پیاز نرگس بوده و اثر فرمولاسیون نانونیوزوم و عصاره پیاز نرگس بر تکثیر سلولهای فیبروبلاست اولیه انسانی و مهاجرت سلولهای فیبروبلاست انسانی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

روش تحقیق: پیاز گیاه بعد از تأیید نام علمی، با روشهای مختلف عصاره گیری شد و عصاره پرکوله برای ادامه تحقیقات استفاده گردید. استانداردسازی و مطالعات کمی عصاره با روش HPTLC بر اساس استاندارد روتین انجام، و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه با استفاده از روش DPPH و FRAP بررسی گردید. فرمولاسیون های نیوزومی با استفاده از ترکیب سورفکتانت های غیر یونی و کلسترول با نسبت های مولی مختلف و روش هیدراتاسیون فیلم نازک ساخته شد و مشخصات فیزیکوشیمیایی آن (اندازه ذره ای، درصد محبوس سازی و آزادسازی و پایداری) مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر فرمولاسیون نانونیوزوم و عصاره پیاز نرگس در غلظت های مختلف بر تکثیر سلولهای فیبروبلاست اولیه انسانی، با آزمون نوترال رد، و مهاجرت سلولهای فیبروبلاست انسانی با آزمون خراش (Scratch) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: با روش HPTLC وجود روتین در عصاره پیاز گیاه تایید گردید. ماکزیمم مهار رادیکالهای DPPH، در غلظت $10000 \mu\text{g/ml}$ عصاره گیاه حدود $99/89\%$ و IC_{50} معادل $2379/82 \pm 37/59 \mu\text{g/ml}$ و اندیس FRAP عصاره گیاه معادل $0/29 \pm 0/02 \text{ mM/ml}$ تعیین گردید. 48 فرمولاسیون نیوزومی از عصاره پرکوله پیاز نرگس تهیه گردید. نیوزومهای محتوی اسپن/توین 80 به دلیل تجمع ذرات و کریستاله شدن از مطالعه حذف شدند. با توجه به اندازه ذرات و شکل نیوزومها، 14 فرمولاسیون انتخاب، که 7 فرمولاسیون جهت بررسی پایداری فیزیکی در دمای یخچال به مدت 6 ماه نگهداری شدند که از لحاظ اندازه ذره ای پایداری بالایی را نشان دادند. در 7 فرمولاسیون دیگر، اندازه ذرات در دمای یخچال تغییر محسوسی نداشت اما در در دمای اتاق و 40 درجه تغییر در اندازه ذره ای بعضی فرمولاسیونها معنی دار بود. در فرمولاسیونهای حاوی اسپن/توین 60 ، با افزایش غلظت عصاره از 3% به 5% ، درصد محبوس سازی افزایش

یافته و برعکس در فرمولاسیونهای محتوی اسپن/توین ۴۰، با افزایش غلظت، درصد محبوس سازی کاهش می یابد. بر اساس نتایج حاصل از بررسی پایداری فیزیکوشیمیایی فرمولاسیونهای نیوزومی، فرمولاسیون F۳۳ (اسپن: ۶۰: توین: ۶۰، کلسترول، با نسبت مولی ۵: ۲/۵: ۲/۵) به عنوان بهترین فرمولاسیون انتخاب و درصد آزادسازی آن از غشاء استات سلولز در مقایسه با عصاره بررسی گردید. نمودار آزادسازی نیوزوم و عصاره، هر دو از مدل پیاس پیروی کرده و درصد آزادسازی بعد از گذشت یک ساعت به ترتیب ۷۹/۰۵٪ و ۹۷/۹۵٪ محاسبه گردید. فرم نانونیوزومی F۳۳ با روش سونیکاسیون تهیه و بدین ترتیب اندازه ذره ای از $7.25 \pm 0.03 \mu\text{m}$ به 233.31 nm کاهش یافت. در مرحله آخر اثر بر ترمیم زخم عصاره و نانونیوزوم F۳۳ بر سلولهای فیبروبلاست انسانی بررسی شد. نتایج آزمون نوترال رد نشان داد که عصاره تاثیر معنی داری بر تکثیر سلولهای فیبروبلاست در مقایسه با گروه کنترل ندارد در صورتیکه نانونیوزوم در غلظتهای $1/562 \mu\text{g/ml}$ و $3/125$ به صورت معنی داری باعث افزایش تکثیر سلولها می شود. نتایج آزمون خراش نشان می دهد که بعد از ۲۴ ساعت، عصاره در غلظتهای $1/562 \mu\text{g/ml}$ و $3/125$ و نانونیوزوم در غلظتهای $1/562-6/25 \mu\text{g/ml}$ باعث کاهش عرض زخم در مقایسه با گروه کنترل می شوند.

بحث و نتیجه گیری: فرمولاسیون F۳۳ با غلظت ۵٪ عصاره، بهترین فرمولاسیون را از لحاظ اندازه ذره ای، شکل وزیکولها و درصد محبوس سازی ایجاد کرده است. فرمولاسیون نیوزومی و نانونیوزومی پیاز نرگس دارای پتانسیل بالایی برای تولید فرآورده های دارویی و آرایشی می باشند. مطالعات بیشتری برای یافتن مکانیزم اصلی و اطمینان از ایمنی پیاز نرگس بایستی انجام گیرد. انجام مطالعات حیوانی و در مرحله بعد مطالعات بالینی عصاره و نانونیوزوم گیاه در بهبود زخم توصیه می شود.

کلمات کلیدی: نرگس، نیوزوم، نانونیوزوم، ترمیم زخم، آنتی اکسیدان، فیبروبلاست پوست انسان

چکیده انگلیسی

formulations, the F33 formula (Spen 60, Tween 60, cholesterol, with a molar ratio of 5: 2.5: 2.5) was chosen as the best formulation. The both release graphs of F33 and extract followed the Peppas model, and release percentages were calculated about 79.05% and 97.95%, respectively after 1 h. The nanoniosomal form of F33 was prepared by sonication method and thus, the particle size decreased from $7.25 \pm 0.03 \mu\text{m}$ to 233.31 nm. Neutral red assay showed,

the extract had no significant effect on proliferation of fibroblasts compared to the control group, while the nanoniosome at 1.562 and 3.125 $\mu\text{g/ml}$ concentrations, significantly increased cell proliferation. The results of scratch assay showed, the extract reduced the gap width in 1.562, 3.125 $\mu\text{g/ml}$ concentrations, and nanoniosome in 1.562-6.25 $\mu\text{g/ml}$ concentrations compared to the control group after 24 hours.

Conclusion: The conditions for preparing the optimal niosomal formulation (F33) included 50% surfactants (Span/Tween 60), and cholesterol and 50 mg/ml concentration of aqueous extract of *N. tazetta* bulb. Thus, niosomal and nanoniosomal formulation of PEN has high potential for medicine and cosmetic products of this plant. It needs to be studied in more detail to find the main mechanism and ensure the safety of *Narcissus* bulb. In this regard, animal modeling study and in the next step, clinical studies are also recommended to evaluate its efficacy in wound healing.

Keywords: *Narcissus tazetta*, Niosome, Nanoniosome, Wound healing, Antioxidant, Human dermal fibroblasts.