

## بررسی اثر پماد موضعی حاوی عصاره متانولی برگ شمشاد خزری (*Buxus hyrcana* Pojark.) بر ترمیم زخم پوستی در موش صحرایی

فرشته طالب پور امیری<sup>۱</sup> (Ph.D)، فاطمه میرزائی<sup>۲</sup> (Ph.D)، پریا فدائی حیدرآبادی<sup>۳</sup> (Pharm.D)، رضا عنایتی فرد<sup>۴</sup> (Ph.D)، حمیدرضا گلی<sup>۵</sup> (Ph.D)، سمیه شاهانی<sup>۶\*</sup> (Ph.D)

۱- گروه آناتومی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴- گروه فارماستوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵- گروه میکروبیولوژی پزشکی و ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۶- گروه فارماکولوژی و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶

s.shahani@mazums.ac.ir

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۱-۳۳۵۴۳۰۸۲

### چکیده

هدف: گیاه شمشاد خزری به صورت سنتی در درمان اختلالات پوستی از جمله زخم استفاده می‌شود و مطالعات اخیر نشان‌دهنده پتانسیل درمانی برخی از گونه‌های شمشاد در ترمیم زخم پوستی می‌باشد. در این مطالعه اثر پماد حاوی عصاره متانولی برگ شمشاد خزری، بر ترمیم زخم تمام ضخامت حاد پوستی در مدل موش صحرایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: زخم‌هایی با ضخامت کامل پوست با استفاده از اسکالپل در ناحیه پشت گردن تعداد ۳۲ موش صحرایی ویستار (۲۵۰-۳۰۰ گرم) ایجاد شد که به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: I؛ کنترل، II؛ پایه پماد (اوسرین)، III؛ کرم ۱ درصد فنی توئین، IV؛ پماد ۵ درصد حاوی عصاره متانولی شمشاد خزری. جهت بررسی هیستوپاتولوژیکی، کرایتاریاهای زخم در روز دوازدهم بر اساس روش Abramov score ارزیابی شدند. رسوب الیاف کلاژن در بافت پوست با استفاده از رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون تعیین شد. جهت اندازه‌گیری میزان تام فنول و فلاونوئید در عصاره، از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد.

یافته‌ها: بر اساس مشاهدات ماکروسکوپی، پماد گیاهی سبب افزایش بسته شدن زخم در گروه تحت درمان نسبت به گروه کنترل شد. پماد گیاهی مشابه با کرم فنی توئین، سبب افزایش معنادار ( $P < 0/05$ ) رسوب کلاژن، تشکیل اپیدرم و کراتین، نورگزایی و بلوغ فیبروبلاست در مقایسه با گروه کنترل گردید. اثرات ضد میکروبی عصاره با استفاده از روش دیسک آگار دیفیوژن مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که اثرات ترمیم زخم مشاهده شده از گیاه شمشاد خزری، عمدتاً به علت وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره گیاه باشد.

واژه‌های کلیدی: ترمیم زخم، هیستوپاتولوژی، شمشاد خزری، فلاونوئید، موش صحرایی

### مقدمه

الاستین تشکیل شده است که سبب انعطاف‌پذیری پوست می‌شود. هیپودرم نیز عمیق‌ترین لایه پوست است که حاوی رگ‌های فراوان است و نقش خون‌رسانی به پوست و تنظیم دما را بر عهده دارد. آسیب یا از دست رفتن یک پارچگی پوست منجر به زخم پوستی می‌شود [۱]. زخم و روش‌های درمانی مختلف آن به عنوان یکی از موارد مهم مطرح در حیطه پزشکی روز دنیا به شمار می‌رود که درمان به موقع آن منجر به افزایش کیفیت زندگی و کاهش هزینه‌های درمانی بیماران می‌شود. پروسه ترمیم زخم به فازهای اصلی التهابی، تکثیر و

پوست به عنوان بزرگ‌ترین ارگان بدن انسان است که به عنوان یک سد محافظتی، اندام‌های داخلی را در برابر آسیب‌های شیمیایی و مکانیکی حفظ می‌کند. پوست از لایه‌های مختلف اپیدرم، درم و هیپودرم تشکیل شده است. اپیدرم عمدتاً از کراتینوسیت‌ها تشکیل شده است که سبب حفظ رطوبت می‌شود و از بدن در برابر عوامل بیماری‌زای خارجی محافظت می‌کند. درم عمدتاً از کلاژن، فیبروبلاست و

[۱۱] و همچنین از روغن برگ آن به صورت موضعی برای التیام زخم پوستی استفاده می‌شود [۱۲]. بر اساس مطالعات اتنوبوتانی انجام شده در هند از خمیر پوست *B. wallichiana* به صورت موضعی برای بهبود زخم‌ها استفاده می‌شود [۱۳]. تمام قسمت‌های گیاه *B. bodinieri* به صورت سنتی در چین در درمان آسیب‌های تروماتیک و التهابات ناشی از آن استفاده می‌شود [۱۴].

بر اساس مطالعات انجام شده، از گونه‌های مختلف جنس *Buxus*، اثرات بیولوژیکی متفاوتی مانند ترمیم زخم پوستی [۱۰]، اثرات ضد التهابی و محافظتی پوست [۱۵]، آنتی‌اکسیدانتی و ضد میکروبی [۱۶] گزارش شده است که این اثرات عمدتاً به ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در این جنس گیاهی نسبت داده می‌شود [۱۶-۱۸].

با توجه به کاربرد سنتی گونه‌های مختلف *Buxus* در رفع مشکلات پوستی و پتانسیل درمانی آن‌ها در ترمیم زخم، مطالعه‌ای جهت بررسی اثرات ترمیم زخم گیاه *Buxus hyrcana* که گونه انحصاری ایران به شمار می‌رود، انجام نشده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات محافظتی پماد ۵ درصد حاوی عصاره متانولی *B. hyrcana* بر روی ترمیم زخم تمام ضخامت حاد پوستی در موش صحرایی از طریق ارزیابی ماکروسکوپی میزان التیام زخم (بسته شدن زخم) و بررسی هیستولوژیکی نمونه‌های پوستی می‌باشد. علاوه بر این میزان تام ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در عصاره متانولی این گیاه با استفاده از روش اسپکتروفتومتری محاسبه گردید.

### مواد و روش‌ها

نمونه گیاهی. برگ‌های گیاه شمشاد خزری در اردیبهشت ۱۳۹۸ از روستای تالارپشت، اطراف قائمشهر، استان مازندران جمع‌آوری گردید. نمونه هرباریومی توسط متخصص سیستماتیک گیاهی تأیید شد و با کد ۱۰۱۳ به هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران سپرده شد. نمونه برگ‌ها بعد از جمع‌آوری، در سایه به دور از نور و رطوبت خشک و آماده مرحله عصاره‌گیری شدند. مقدار ۱۵۰ گرم از برگ‌های خشک شده با استفاده از خردکن برقی آسیاب شد و عصاره‌گیری با استفاده از متانول به روش خیساندن انجام شد. سپس عصاره با استفاده از دستگاه روتاری تغلیظ گردید و با کمک دستگاه فریز درایر به طور کامل خشک و در فریزر نگهداری شد [۱۹]. بازده حاصل از عصاره‌گیری معادل ۱۶/۶ درصد محاسبه گردید.

بازسازی تقسیم می‌شود که در آن‌ها انواع سلول‌های خونی، پوستی و ماتریکس خارج سلولی دخالت دارند. سرعت طی شدن فازهای مختلف ترمیم زخم، در بسته شدن زخم بدون عفونت نقش موثری دارد [۲]. یکی از مشکلاتی که در روند بهبود زخم به وجود می‌آید، عفونی شدن زخم می‌باشد که عمدتاً به دلیل وجود فلور نرمال موجود در سطح پوست از جمله *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* به وقوع می‌پیوندد [۳].

به علت مشکلات مختلف درمانی در روند بهبود زخم‌های ناشی از جراحی، سوختگی و سوانح و به خطر افتادن سلامت این بیماران، طراحی تحقیقات جدید در زمینه تسریع در بهبود زخم بسیار حائز اهمیت می‌باشد. در سال‌های اخیر استفاده از موارد مختلف درمانی از جمله پانسمان‌های مدرن، پیوند بافت، سلول درمانی و ژن درمانی جهت افزایش ترمیم زخم توسعه پیدا کرده است که منجر به افزایش هزینه درمانی در بیماران می‌شود [۴]. استفاده درمانی از منابع طبیعی از جمله گیاهان دارویی در طی سال‌های اخیر جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده است به طوری که مطالعات بسیاری جهت بررسی اثربخشی عصاره‌های گیاهی و ترکیبات طبیعی در زمینه مشکلات پوستی از جمله درمان زخم‌ها انجام گرفته است. این تحقیقات نشان می‌دهد که گیاهان دارویی نقش موثری را در روند بهبود ترمیم زخم و کم کردن هزینه‌های درمانی به عهده دارند [۵].

شمشاد خزری (*Buxus hyrcana* Pojark) یک گونه درختچه‌ای همیشه سبز متعلق به خانواده Buxaceae است که گونه انحصاری جنگل‌های هیرکانی شمال ایران است. جنس *Buxus* شامل حدود ۹۵ تا ۱۰۰ گونه است که در سراسر نقاط دنیا پراکندگی دارند و دارای کاربرد درمانی می‌باشند [۶].

بر اساس کتاب مخزن‌الادویه که به عنوان یکی از منابع مهم طب سنتی ایرانی به شمار می‌رود، جنس *Buxus*، بقس یا شجره البقس نامیده می‌شود که جهت رفع مشکلات پوستی، تقویت مو و جلوگیری از ریزش مو، رفع سردرد، استحکام مفاصل و تقویت قلب مورد استفاده قرار می‌گیرد [۷]. بر اساس مطالعه اتنوبوتانی انجام شده در استان گیلان، گیاه شمشاد خزری به صورت سنتی در درمان رماتیسم و مالاریا مورد استفاده قرار می‌گیرد [۸]. در برخی از کشورها از فرآورده‌های موضعی تهیه شده از قسمت‌های مختلف *Buxus* به صورت سنتی برای درمان اختلالات پوستی مانند بشورات جلدی، عفونت‌های پوستی [۹]، التهابات و زخم‌های پوستی [۱۰] استفاده می‌شود. به عنوان مثال در پاکستان از جوشانده برگ‌های خشک شده *B. papillosa* به صورت موضعی در درمان بیماری‌های پوستی مانند گال و خارش استفاده می‌شود

ارزیابی هیستوپاتولوژی پوست. نمونه‌های بافت پوست فیکس شده با میکروسکوپ نوری جهت ارزیابی هیستولوژیکی در روز ۱۲ مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. برای جدا نمودن نمونه بیوپسی، مقداری از پوست منطقه زخم و بخشی از پوست منطقه سالم انتخاب گردید. سپس نمونه‌ها در فرمالدهید ۱۰ درصد فیکس شد و بعد از شست‌وشو جهت قالب‌گیری در پارافین قرار گرفت. برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر با استفاده از ائوزین و هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شد. ارزیابی هیستوپاتولوژی بر اساس مطالعه قبلی Hanafi و همکاران [۲۳] انجام گرفت و اسلایدهای هیستولوژیکی با استفاده از روش Abramov score رتبه‌بندی شدند [۲۴]. در این متد رتبه‌بندی هیستولوژیکی منطقه زخم بر اساس ۶ معیار زخم ارزیابی گردید:

۱- التهاب حاد: (۰: هیچ، ۱: خفیف، ۲: متوسط، ۳: فراوان)

۲- بلوغ فیبروبلاست‌های بافت گرانوله: (۰: نابالغ، ۱: بلوغ خفیف، ۲: بلوغ متوسط، ۳: بلوغ کامل)

۳- رسوب کلاژن: (۰: هیچ، ۱: خفیف، ۲: متوسط، ۳: فراوان)

۴- تشکیل اپی‌درم: (۰: هیچ، ۱: نسبی، ۲: کامل ولی نابالغ یا نازک، ۳: کامل و بالغ)

۵- نورگزایی: (۰: هیچ، ۱: تا ۵ عروق با بزرگ‌نمایی بالا، ۲: تعداد ۶-۱۰ عروق با بزرگ‌نمایی بالا، ۳: بیش از ۱۰ عروق با بزرگ‌نمایی بالا)

۶- تشکیل لایه کراتین: (۰: هیچ، ۱: نسبی، ۲: کامل ولی نابالغ یا نازک، ۳: کامل و بالغ)

تعیین کلاژن. میزان کلاژن بافتی در نمونه‌های پوستی از طریق رنگ‌آمیزی تری‌کروم ماسون در روز ۱۲ بعد از جراحی مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی کمی با استفاده از روش densitometry و نرم‌افزار MacBiophotonics Image J 1.41a انجام شد [۲۳].

بررسی اثر ضد میکروبی. جهت بررسی اثر ضد میکروبی عصاره متانولی گیاه شمشاد خزری از روش دیسک آگار دیفیوژن و بر اساس دستورالعمل‌های انستیتو استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) استفاده شد [۲۵]. در این روش، ابتدا از عصاره گیاهی مورد نظر غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد. سپس، از کشت ۲۴ ساعته‌ی باکتری‌های مورد تست که شامل سویه‌های میکروبی (*E. coli* ATCC 25922، *S. aureus* ATCC 25923 و *P. aeruginosa* ATCC 27853) بودند، استاندارد معادل کدورت نیم مک فارلند ( $10^5 \times 1/5$  CFU/ml) تهیه شد و توسط سوآب

اندازه‌گیری میزان تام فنول و فلاونوئید. میزان تام ترکیبات فنولی و فلاونوئید موجود در عصاره متانولی برگ شمشاد خزری به ترتیب با استفاده از روش‌های فولین سیکالانو و آلومینیوم کلراید و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری UV در طول موج‌های ۷۶۵ و ۴۱۵ نانومتر تعیین شد [۲۰، ۲۱]. از غلظت‌های مختلف گالیک اسید و کوئرستین (۱۰۰-۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) جهت رسم منحنی استاندارد استفاده گردید.

تهیه پماد موضعی. جهت تهیه پماد ۵ درصد شمشاد خزری (BHO)، مقدار ۵ گرم از عصاره با ۱۰ گرم از پروپیلن گلیکول لویگه شد. سپس مقدار ۸۵ گرم از اوسرین به آن اضافه شد و هم‌زدن تا زمان تشکیل پمادی با محتوی همگن ادامه پیدا کرد. در نهایت پماد به دست آمده، جهت نگهداری به ظرف مناسب انتقال داده شد [۲۲].

حیوانات مورد مطالعه. در این مطالعه از تعداد ۳۲ موش صحرایی ویستار (ماده، ۲۵۰-۳۰۰ گرم) استفاده شد که در شرایط استاندارد (چرخه‌های ۱۲ ساعته نور و تاریکی با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰ درصد) در حیوان‌خانه نگهداری شدند و به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. تمام آزمایشات حیوانی توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران (با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1396.2949) مورد تایید قرار گرفتند.

نحوه ایجاد زخم و طراحی مطالعه. برای ایجاد زخم، موش‌ها با استفاده از تزریق داخل صفاقی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. پس از مهار نمودن حیوان به کمک تخته جراحی، پوست ناحیه گردن موش‌ها اپیلاسیون و با اتانول ۷۰ درصد ضد عفونی شد، سپس با رعایت شرایط استریل پس از علامت‌گذاری ناحیه برش با استفاده از اسکالپل برشی، یک برش پوستی مربع شکل با ضخامت کامل پوست به ابعاد  $1/5 \times 1/5$  سانتی‌متر ایجاد شد [۲]. بعد از جراحی حیوانات به صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: (۱) گروه کنترل، زخم‌هایی که درمانی روی آن‌ها انجام نگرفت، (۲) گروه پایه پماد، زخم‌هایی که پایه پماد را دریافت کردند، (۳) گروه فنی توئین، زخم‌هایی که با استفاده از کرم ۱ درصد فنی توئین درمان شدند، (۴) گروه BHO، زخم‌هایی که با پماد ۵ درصد شمشاد خزری درمان شدند. کرم فنی توئین، پایه پماد و پماد BHO به صورت موضعی از روز ۱ تا ۱۲ مطالعه یک‌بار در روز مورد استفاده قرار گرفتند. بلافاصله بعد از عمل جراحی برای بی‌دردی از استامینوفن برای کاهش درد حیوان در آب خوراکی استفاده شد.

$y = 0.007x + 0.1495$ ، میزان فلاونوئید تام، معادل با  $20/48 \pm 0/21$  میلی گرم کوئرستین در یک گرم عصاره خشک محاسبه گردید.

یافته‌های ماکروسکوپی ناحیه زخم. نمای ظاهری زخم در تمام روزهای مطالعه مورد بررسی قرار گرفت، هیچ گونه عفونت ثانویه در ناحیه زخم مشاهده نشد. استفاده موضعی پماد گیاهی سبب بسته شدن بهتر زخم پوستی در حیوانات مورد مطالعه در مقایسه با گروه های کنترل و پایه پماد شد.

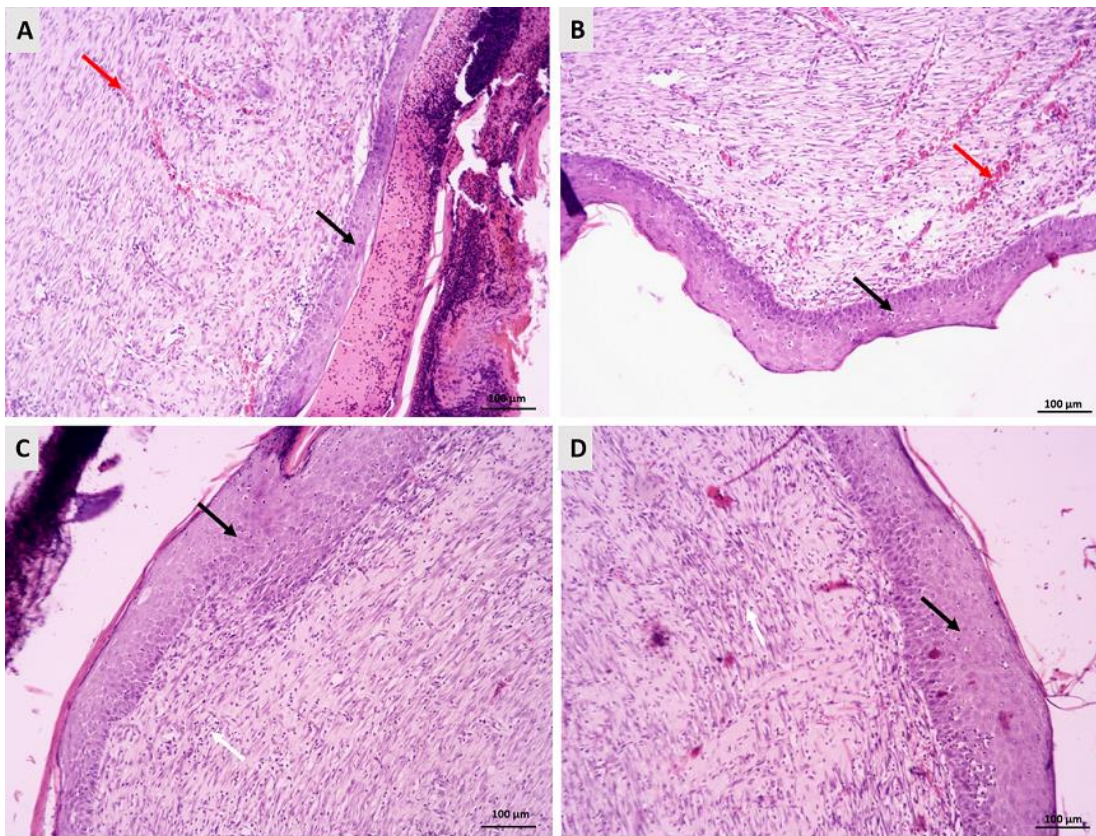
ارزیابی هیستوپاتولوژی. نمونه‌های پوستی بعد از جراحی با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ از نظر تغییرات بافت‌شناسی مورد ارزیابی قرار گرفتند (شکل ۱). بر اساس مشاهدات، لایه اپیدرم جدید در تمام گروه‌ها دیده می‌شود ولی ضخامت آن در گروه‌های تحت درمان با BHO و کرم فنی‌توئین بیشتر می‌باشد. همچنین تشکیل بافت گرانوله به وضوح در تمام گروه‌ها دیده می‌شود. ولی در گروه‌های تحت درمان با BHO و کرم فنی‌توئین سلول‌های فیروبلاست کشیده‌تر و با نظم بیشتری کنار هم قرار گرفتند.

سرپنجه‌ای بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) به صورت چمنی کشت داده شد. سپس، دیسک‌های کاغذی ۶ میلی‌متری فاقد هر گونه ترکیب (Blank)، بر سطح محیط کشت در فواصل ۲۵ میلی‌متری از یک‌دیگر قرار گرفتند. مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره مورد نظر بر دیسک‌ها تلقیح شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس، قطر هاله‌های عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت.

روش آماری. داده‌های کمی با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism 8.0.2 آنالیز شدند. مقایسه نتایج با استفاده از آزمون ناپارامتری Kruskal-Wallis و تست تعقیبی Dunn انجام شد. تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها تجزیه و تحلیل شدند. اختلاف میانگین بین گروه‌ها تعیین شد و  $P < 0/05$  معنادار محسوب شد.

### نتایج

میزان تام فنول و فلاونوئید. بر اساس معادله خط به دست آمده  $(y = 0.0161x + 0.1317, R^2 = 0.997)$ ، میزان فنول تام در عصاره متانولی برگ شمشاد خزری معادل  $29/85 \pm 0/60$  میلی‌گرم اسید گالیک در یک گرم عصاره خشک اندازه‌گیری شد و بر اساس معادله خط  $R^2 = 0.998$



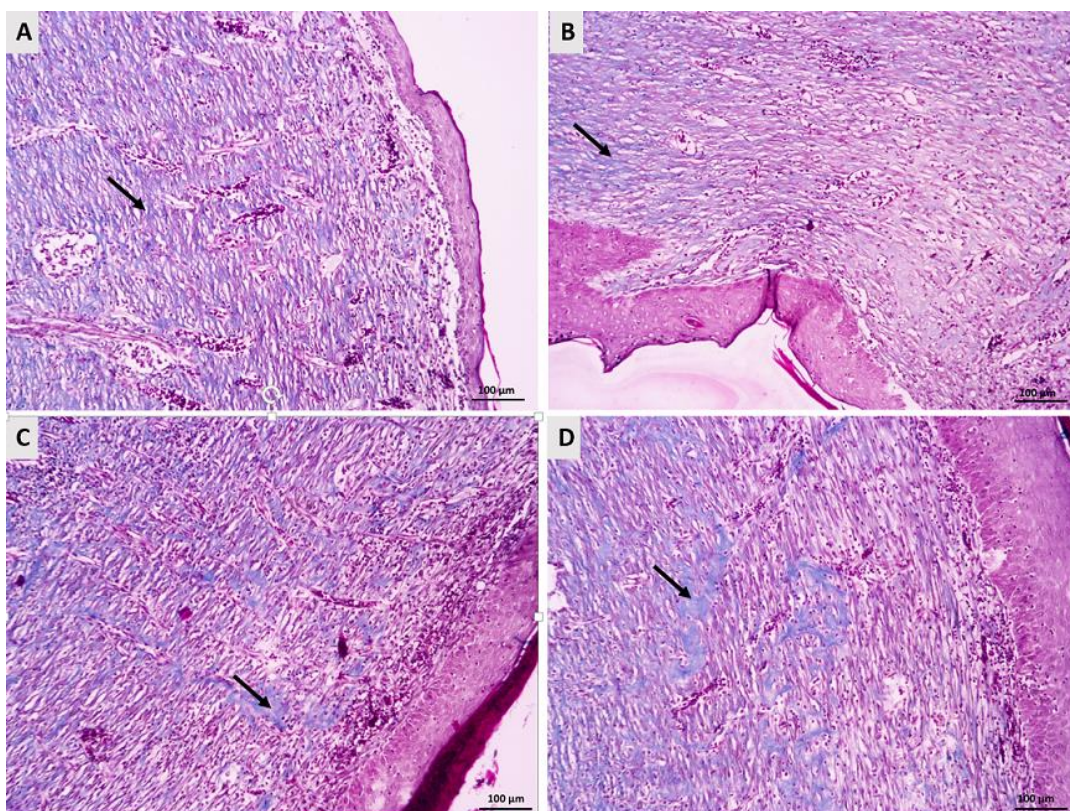
شکل ۱. فتومیکروگرافی از ناحیه زخم در حال بهبودی در روز ۱۲ مطالعه که با استفاده از هماتوکسیلین و اتوزین رنگ شده است. A: گروه کنترل؛ B: گروه پایه پماد؛ C: گروه فنی‌توئین؛ D: گروه دریافت کننده پماد شمشاد خزری. پیکان‌های مشکی، قرمز و سفید به ترتیب نشان دهنده لایه اپیدرم، احتقان و فیروبلاست می‌باشند. رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین، بزرگنمایی  $\times 400$

فیبروبلاست و نورگزایی در گروه دریافت‌کننده BHO در مقایسه با گروه‌های کنترل و پایه پماد افزایش معنادار ( $P < 0.05$ ) پیدا کرد. همچنین پماد گیاهی سبب افزایش معنادار میزان تشکیل کراتین در مقایسه با گروه کنترل شد که این افزایش در مقایسه با گروه پایه پماد معنادار نبود.

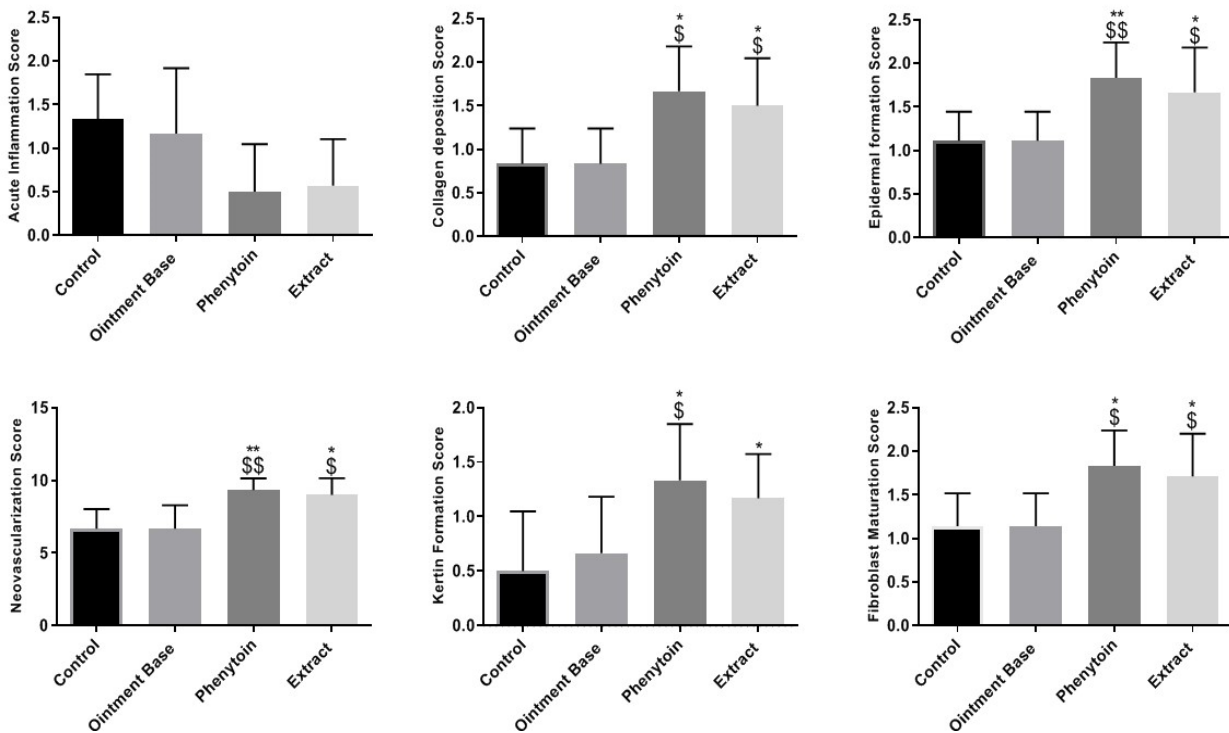
اثر ضد میکروبی عصاره. بر اساس تست دیسک آگار دیفیوژن، هیچ‌گونه هاله عدم رشدی در اطراف دیسک‌های مورد بررسی مشاهده نشد و عصاره متانولی گیاه اثر ضد میکروبی بر علیه باکتری‌های مورد بررسی نداشت.

تعیین کلاژن. بر اساس شکل ۲ که الیاف کلاژن با رنگ آبی در تصاویر دیده می‌شوند، میزان الیاف کلاژن در زخم‌های تحت درمان با BHO و کرم فنی‌توئین افزایش قابل توجهی پیدا کرده است.

معیارهای سنجش تعیین زخم. هر یک از معیارهای زخم با سیستم نمره‌دهی رتبه‌بندی شدند و میانگین رتبه‌ها مورد آنالیز آماری قرار گرفتند (شکل ۳). بر اساس یافته‌ها، میزان التهاب حاد در گروه‌های تحت درمان با BHO و کرم فنی‌توئین کاهش پیدا کرد اگر چه در مقایسه با گروه کنترل، معنی‌دار نبود. رسوب کلاژن، میزان تشکیل لایه اپیدرم، بلوغ



شکل ۲. فتومیکروگرافی از ناحیه زخم در حال بهبودی در روز ۱۲ مطالعه که با استفاده از رنگ آمیزی تری کروم ماسون رنگ شده است. A: گروه کنترل؛ B: گروه پایه پماد؛ C: گروه فنی‌توئین؛ D: گروه دریافت‌کننده پماد شمشاد خزری. پیکان مشکی نشان دهنده رسوب کلاژن می باشد. رنگ آبی رسوب الیاف کلاژن را نشان می دهد. بزرگنمایی:  $\times 400$



شکل ۳. اثر پماد حاوی عصاره شمشاد خزری بر معیارهای ترمیم زخم در همه گروه ها. داده ها به صورت Mean ± S.D نشان داده شده است. (\*): نشان دهنده معنی دار بودن در مقایسه با گروه کنترل و \$: نشان دهنده معنی دار بودن در مقایسه با گروه پایه پماد می باشد. (P<0.05)

گیاه اثر آنتی‌اکسیدانتی مطلوبی در روش مهار رادیکال نیتریک اکسید از خود نشان داد و بر اساس نتایج اسپکتروفتومتری، میزان تام ترکیبات فنولی و فلاونوئید به ترتیب معادل با ۵۵/۸ و ۴۸/۲ میلی‌گرم گالیک اسید و کوئرستین در گرم خشک از عصاره گزارش شد [۲۹]. در حالی که در مطالعه حاضر عصاره متانولی برگ این گیاه، حاوی مقادیر کمتری از فنول تام (معادل ۲۹/۸۵±۰/۶۰ میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم از عصاره خشک) و فلاونوئید تام (معادل ۲۰/۴۸±۰/۲۱ میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم از عصاره خشک) بوده است. در مطالعه دیگری که بر روی گیاه شمشاد خزری انجام شده است، میزان و نوع ترکیبات فنولی موجود در عصاره هیدروالکلی (متانول ۸۰ درصد) اندام‌های مختلف گیاه، با روش‌های اسپکتروفتومتری و HPLC مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج، میزان تام ترکیبات در عصاره برگ گیاه نسبت به سایر اندام‌ها (ساقه و میوه) بیش‌تر بوده است. بر اساس یافته‌های HPLC، ترکیبات گالیک اسید، زورسینول، اپی کاتشین و فرولیک اسید در تمام اندام‌های گیاه یافت شدند، ولی فراوانی آن‌ها در برگ گیاه نسبت به سایر اندام‌ها بیش‌تر بود [۱۶].

گیاه *Simmondsia chinensis* با نام مترادف *Buxus chinensis*، به صورت متداول در فرمولاسیون‌های موضعی جهت مصارف درمانی پوست مورد استفاده قرار می‌گیرد.

### بحث و نتیجه‌گیری

گیاهان دارویی از پتانسیل درمانی چشمگیری در کنترل بیماری‌های پوستی برخوردار هستند که به علت عوارض جانبی کم‌تر همواره مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند [۲۷،۲۶]. اثرات درمانی فرمولاسیون‌های گیاهی متعددی در ترمیم زخم پوستی مورد بررسی قرار گرفته است که با مکانسیم‌های مختلفی هم‌چون جمع شدن وسعت زخم، اپیتلیوم‌زایی، رسوب کلاژن، افزایش بافت گرانوله و سنتز کلاژن منجر به بهبود زخم می‌شوند [۲۸].

در مطالعه حاضر پماد ۵ درصد حاوی عصاره متانولی برگ شمشاد خزری، مشابه با کرم ۱ درصد فنی‌توئین، سبب افزایش بهبود زخم حاد پوستی در مدل حیوانی در مقایسه با گروه کنترل شده است. بر اساس ارزیابی هیستوپاتولوژی، لایه اپیدرم جدید و بافت گرانوله در گروه‌های تحت درمان با پماد گیاهی و کرم فنی‌توئین در روز ۱۲ مطالعه مشاهده شد. علاوه بر این میزان رسوب کلاژن تشکیل اپیدرم و کراتین، نورگزایی و بلوغ فیبروبلاست در گروه دریافت‌کننده پماد گیاهی به صورت معنادار (P<۰/۰۵) افزایش پیدا کرد.

مطالعات محدودی بر روی گونه شمشاد خزری انجام شده است. بر اساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ جهت تعیین مقدار و بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی و پتانسیل آنتی‌اکسیدانتی عصاره متانولی برگ‌های گیاه شمشاد خزری انجام شد، این

بر اساس مطالعه Kim و همکارانش، اثرات ضد التهابی و محتوی تام ترکیبات پلی فنولی و فلاونوئیدی در عصاره گیاه *B. koreana* بررسی شد. مدل التهاب با استفاده از ماده LPS (Lipopolysaccharides) در حیوانات مورد مطالعه ایجاد شد و عصاره ۷۰ درصد اتانولی از اندام‌های مختلف گیاه (برگ، ساقه، ریشه و میوه) تهیه شد. بر اساس نتایج، میزان التهاب در گروه‌های تحت درمان با عصاره ۷۰ درصد اتانولی ریشه گیاه با مهار رادیکال‌های آزاد نیتریک اکسید به مقدار ۲۶ درصد کاهش یافت. بیشترین مقدار ترکیبات پلی فنولی و فلاونوئیدی در عصاره میوه و بعد از آن در عصاره برگ گیاه محاسبه شد [۱۵]. در مطالعه حاضر نیز، میزان التهاب پوستی در حیوانات مورد مطالعه کاهش پیدا کرد ولی اثر مشاهده شده نسبت به گروه کنترل معنادار نبود.

سویه‌های میکروبی مانند *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Echerichia coli* با کلونیزه شدن در زخم‌های باز سبب تاخیر در بهبود زخم‌های پوستی می‌شوند که بر اساس مطالعات انجام شده، گیاهان دارویی با پتانسیل ضد میکروبی، سبب تسریع در روند بهبود و بسته شدن زخم می‌شوند [۳]. بر اساس یافته‌های ضد میکروبی، عصاره متانولی برگ شمشاد خزری در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اثرات مهاری علیه سویه‌های میکروبی ذکر شده با استفاده از روش انتشار در آگار نشان داد. در حالی‌که در چندین مطالعه انجام شده روی سایر گونه‌های *Buxus*، اثرات ضد میکروبی گزارش شده است. Palchykov و همکاران در پژوهشی به بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره اتانولی و فرکشن‌های غیر قطبی (دی کلرومتانی و هگزانی) برگ گیاه *B. sempervirens* در برخی از سوش‌های پاتوژن به روش انتشار در آگار پرداختند. بر اساس نتایج به دست آمده فرکشن‌های غیر قطبی اثرات مهاری بر رشد سویه‌هایی مانند *S. epidermidis*، *S. aureus*، *P. aeruginosa* و *E. coli* خود نشان دادند [۳۲]. در مطالعه‌ای دیگر، عصاره متانولی برگ *B. macowanii*، اثرات مهاری علیه سویه‌های باکتریایی *S. aureus*، *S. epidermidis* و *P. aeruginosa* با استفاده از روش microdilution از خود نشان داد [۳۳]. بر اساس مطالعه‌ای که به صورت غربالگری جهت بررسی اثرات ضد میکروبی برخی از گیاهان در کشور یمن انجام شد، تعداد ۸۰ نوع عصاره‌های مختلف از گیاهان منطقه با حلال‌های کلروفرم، متانول و آب تهیه شد که از بین گیاهان مورد مطالعه، عصاره متانولی برگ گیاه *B. hildebrandtii* به همراه برخی دیگر از گونه‌های گیاهی، اثرات ضد باکتریایی قابل توجهی (با استفاده از روش انتشار در آگار) از خود نشان دادند که

عصاره برگ‌های این گیاه با پتانسیل ضد التهابی قابل توجه، در درمان مشکلات پوستی کاربرد دارد. روغن جوجوبا که از دانه این گیاه به دست می‌آید از ترکیباتی مانند موم، استرول، اسیدهای آزاد و ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از جمله کوئرستین، ایزورامنتین و مشتقات آن‌ها تشکیل شده است و در انواع فرمولاسیون پوستی جهت رفع آگزما، پسوریازیس و افزایش دارورسانی به پوست به کار می‌رود [۳۰].

مطالعات معدودی در زمینه بررسی اثرات ترمیم زخم گونه‌های *Buxus* انجام شده است. در یک مطالعه، استفاده موضعی از پماد ۵ درصد حاوی عصاره متانولی ساقه گیاه *B. wallichiana* سبب بهبود زخم پوستی در حیوانات مورد مطالعه شد، به طوری‌که رابطه معناداری بین گروه‌های دریافت‌کننده پماد گیاهی و کنترل در روزهای ۱۰ تا ۲۰ مطالعه، مشاهده شد. پماد ۱۰ درصد این گیاه نیز به صورت وابسته به دوز سبب افزایش بهبود زخم در حیوانات مورد مطالعه شده است. همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانتی عصاره‌های مختلف پترولئوم اتر، کلروفرم، متانول و آبی ساقه گیاه با استفاده از روش‌های اندازه‌گیری میزان بدام‌اندازی رادیکال DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) و رادیکال‌زدایی نیتریک اکسید مورد بررسی قرار گرفت که این اثرات در عصاره متانولی نسبت به سایر عصاره‌ها، بیش‌تر بوده است. در این مطالعه بیان شده است که ارتباط مستقیمی بین ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره متانولی این گیاه و اثرات آنتی‌اکسیدانتی وجود دارد و همچنین این دسته از ترکیبات احتمالاً به دلیل افزایش خون‌رسانی، افزایش استحکام فیبرهای کلاژن و کاهش آسیب سلولی به بهبود ساختار پوست آسیب‌دیده کمک می‌کنند [۳۱]. به طور مشابه در مطالعه حاضر، پماد موضعی ۵ درصد حاوی عصاره متانولی برگ‌های شمشاد خزری سبب افزایش معنادار ترمیم زخم در حیوانات تحت درمان شده است به طوری‌که میزان رسوب کلاژن و نورگزایی در بافت‌های ترمیم یافته به صورت معنادار افزایش پیدا کرد. بر اساس نتایج فیتوشیمیایی، احتمالاً اثرات ترمیمی مشاهده شده به حضور ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی این گیاه مرتبط می‌باشد. در مطالعه‌ای دیگر که در سال ۲۰۱۳ توسط Akkol و همکارانش در مورد اثرات ترمیم زخم *B. sempervirens* انجام شد، از بین انواع عصاره‌های هگزان، اتیل استات و متانولی تهیه شده از گیاه، عصاره متانولی اثرات قابل توجهی در میزان بسته شدن زخم در مدل درون‌تنی از خود نشان داد [۱۰]. در مطالعه حاضر نیز، پماد حاوی عصاره متانولی گیاه شمشاد خزری به صورت موثری سبب بسته شدن زخم شد.

پزشکی مازندران برخوردار بوده است که بدین وسیله از مسئولان این دانشگاه تشکر و قدردانی به عمل می آید.

### مشارکت و نقش نویسندگان

سمیه شاهانی و فرشته طالب پور امیری: ایده و طراحی مطالعه، آنالیز نتایج، مرور نقدانه مقاله، فاطمه میرزائی: جمع آوری داده‌ها، نگارش نسخه اول مقاله، پریا فدائی حیدرآبادی: جمع آوری داده‌ها، رضا عنایتی فرد: تعیین و نظارت بر تهیه فرمولاسیون، حمیدرضا گلی: نظارت بر انجام تست میکروبی. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

### منابع

- [1] Yousef H, Alhaji M, Sharma S. Anatomy, skin (integument), epidermis, StatPearls Publishing; 2017.
- [2] Talebpour Amiri F, Mirzaee F, Hasanzadeh SN, Enayatifard R, Shahani S. Therapeutic potential of ointment containing methanol extract of *Lamium album* L. on cutaneous wound healing in rats. *J Med Plants* 2021; 20: 72-84.  
<https://doi.org/10.52547/jmp.20.79.72>
- [3] Ravishankar K, Kiranmayi GV, Prasad YR, Devi L. Wound healing activity in rabbits and antimicrobial activity of *Hibiscus hirtus* ethanolic extract. *Braz J Pharm Sci* 2018; 54: 1-12.  
<https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000417075>
- [4] Han G, Ceilley R. Chronic wound healing: a review of current management and treatments. *Adv Ther* 2017; 34: 599-610.  
<https://doi.org/10.1007/s12325-017-0478-y>  
PMid:28108895 PMCID:PMC5350204
- [5] Qureshi M, Khatoon F, Ahmed S. An overview on wounds, their issue s and natural remedies for wound healing. *Biochem Physiol* 2015; 4: 1-9.
- [6] Thammina CS, Olsen RT, Kramer M, Pooler MR. Genetic relationships of boxwood (*Buxus* L.) accessions based on genic simple sequence repeat markers. *Genet Resour Crop Evol* 2017; 64: 1281-1293.  
<https://doi.org/10.1007/s10722-016-0436-6>
- [7] Khorasani MA, Makhzan al Advieh. Tehran, Iran: Bavardaran Press. Research institute for Islamic and Complementary Medicine, Iran Univ Med Sci 2001. (Persian).
- [8] Esmaeili S, Naghibi F, Mosaddegh M, Sahranavard S, Ghafari S, Abdullah NR. Screening of antiplasmodial properties among some traditionally used Iranian plants. *J Ethnopharmacol* 2009; 121: 400-4.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.10.041>  
PMid:19059470
- [9] Suganthy N, Pandian SK, Devi KP. Cholinesterase inhibitors from plants: Possible treatment strategy for neurological disorders-a review. *Int J Biomed Pharm Sci* 2009; 3: 87-103.
- [10] Akkol EK, Sutar I, Keles H, Aktay G. Evaluation of the wound healing activity of *Buxus sempervirens* L. and *Centaurium erythraea* (L.) Rafn. by using in vivo and in vitro Methods. *Planta Med* 2013; 79: 1155.  
<https://doi.org/10.1055/s-0033-1352002>
- [11] Rehman K, Khan MA, Ullah Z, Chaudhary HJ. An ethno botanical perspective of traditional medicinal plants from the Khattak tribe of Chonthra Karak. *Pakistan J Ethnopharmacol* 2015; 165: 251-259.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.02.035>  
PMid:25732837
- [12] Malik K, Ahmad M, Zafar M, Ullah R, Mahmood HM, Parveen B, et al. An ethnobotanical study of medicinal plants

بیشترین اثرات مهاری در برابر باکتری‌های گرم مثبت از جمله سویه‌های مختلف *Staphylococcus* مشاهده شد [۳۴].  
بررسی فیتوشیمیایی عصاره‌های گیاهی در مطالعات بیولوژیک، جهت شناسایی ترکیبات موثر بسیار حائز اهمیت می‌باشد. نتایج اسپکتروفوتومتری در این مطالعه نشان‌دهنده وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در عصاره متانولی برگ گیاه شمشاد خزری می‌باشد. بر اساس مطالعات اخیر، برخی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از جمله گالیک اسید، اپیکاتشین، کامفرول، کوئرستین و آپیزنین در عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمشاد خزری شناسایی و جداسازی شدند [۱۶]. در سال‌های اخیر اثربخشی درمانی این ترکیبات در انواع مدل‌های زخم (درون تنی و برون تنی) بررسی شده است. ترکیب گالیک اسید با افزایش مهاجرت سلول‌های کراتینوسیت و فیبروبلاست و فعال‌سازی برخی از ژن‌های دخیل در ترمیم بافت پوستی، به بهبود زخم پوستی کمک می‌کند [۳۵]. ترکیب اپیکاتشین نیز با افزایش نورگزایی و میزان کلاژن بافتی سبب ترمیم زخم پوستی در مدل حیوانی می‌شود [۳۶]. ترکیبات فلاونوئیدی کامفرول، کوئرستین و آپیزنین نیز به صورت موضعی سبب افزایش سنتز کلاژن در فیبروبلاست [۳۷]، نورگزایی، اپیتلیزاسیون مجدد [۳۸] و کاهش التهاب در محل زخم می‌شوند [۳۹،۴۰]. در ارزیابی فیتوشیمیایی عصاره متانولی برگ شمشاد خزری مشخص شده است که ترکیبات فلاونوئیدی بخش قابل توجهی از محتوی فنولی موجود در عصاره را تشکیل می‌دهند که احتمالاً از ترکیبات اصلی مسئول بروز اثرات ترمیم زخم این گیاه می‌باشند. لازم به ذکر است از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به مواردی هم‌چون ارزیابی زخم در روز ۲۱ مطالعه و هم‌چنین انجام تست‌های ایمنو هیستوشیمی و بررسی پارامترهای التهابی اشاره کرد.

بر اساس نتایج این مطالعه، پماد حاوی عصاره متانولی برگ گیاه شمشاد خزری، عمدتاً به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی، اثر قابل توجهی در تسریع روند بهبود زخم نشان داد و توانست سبب افزایش معنادار معیارهای ترمیم زخم از جمله رسوب کلاژن، تشکیل اپیدرم و نورگزایی شود لذا به نظر می‌رسد گیاه شمشاد خزری می‌تواند به عنوان یک کاندید مناسب جهت انجام مطالعات بیشتر در زمینه درمان زخم‌های پوستی مورد توجه قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش به عنوان طرح تحقیقاتی (کد طرح: ۲۹۴۹) از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم



- [26] Sundari A, Jayakumararaj R. Herbal remedies used to treat skin disorders in Arasankulam region of Thoothukudi District in Tamil Nadu, India. *J drug Deliv Ther* 2020; 10: 33-38.  
<https://doi.org/10.22270/jddt.v10i5.4277>
- [27] Sewell RD, Rafeian-Kopaei M. The history and ups and downs of herbal medicines usage. *J Herbmed Pharmacol* 2014; 3: 1-3.
- [28] Raina R, Parwez S, Verma P, Pankaj N. Medicinal plants and their role in wound healing. *Vet Scan* 2008; 3: 1-21.
- [29] Ebrahimzadeh M, Nabavi S, Pourmorad F. Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. *Afr J Biotechnol* 2010; 9: 5212-5217.
- [30] Gad HA, Roberts A, Hamzi SH, Touiss I, Altyar AE. Jojoba Oil: An Updated Comprehensive Review on Chemistry, Pharmaceutical Uses, and Toxicity. *Polymers* 2021; 13: 2411-2502  
<https://doi.org/10.3390/polym13111711>  
PMid:34073772 PMCID:PMC8197201
- [31] Khan S. Evaluation of Wound healing activity of *Buxus wallichiana* Baill. *Asian J Pharm Clin Res* 2010; 10: 59-63.
- [32] Palchikov VA, Zazharskiy VV, Brygadyrenko VV, Davydenko PO, Kulishenko OM, Borovik IV. Chemical composition and antibacterial effect of ethanolic extract of *Buxus sempervirens* on cryogenic strains of microorganisms in vitro. *Chem Data Collect* 2020; 25: 100323.  
<https://doi.org/10.1016/j.cdc.2019.100323>
- [33] Ngobeni B. Pharmacological evaluation of extracts from *Buxus macowanii*, *Polygala myrtifolia*, *Scilla* sp. and *Xanthocercis zambeziensis*. *CUT Univ.*; 2016.
- [34] Mothana RA, Lindequist U. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *J Ethnopharmacol* 2005; 96: 177-181.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.006>  
PMid:15588668
- [35] Yang DJ, Moh SH, Son DH, You S, Kinyua AW, Ko CM. Gallic acid promotes wound healing in normal and hyperglucidic conditions. *Molecules* 2016; 21: 899.  
<https://doi.org/10.3390/molecules21070899>  
PMid:27399667 PMCID:PMC6274221
- [36] Kapoor M, Howard R, Hall I, Appleton I. Effects of epicatechin gallate on wound healing and scar formation in a full thickness incisional wound healing model in rats. *Am J Pathol* 2004; 165: 299-307.  
[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63297-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63297-X)  
PMid:15215184
- [37] Zhang Y, Wang J, Cheng X, Yi B, Zhang X, Li Q. Apigenin induces dermal collagen synthesis via smad2/3 signaling pathway. *Eur J Histochem* 2015; 59: 2467  
<https://doi.org/10.4081/ejh.2015.2467>  
PMid:26150153 PMCID:PMC4503966
- [38] Özay Y, Güzel S, Yumrutaş Ö, Pehlivanoglu B, Erdoğan İH, Yıldırım Z. Wound healing effect of kaempferol in diabetic and nondiabetic rats. *J Surg Res* 2019; 233: 284-296.  
<https://doi.org/10.1016/j.jss.2018.08.009>  
PMid:30502261
- [39] Taskan MM, Yuce HB, Karatas O, Gevrek F. Topical quercetin gel application improved wound healing in Wistar rats. *J Int Med Res* 2019; 26: 2397-2404.  
<https://doi.org/10.5455/annalsmedres.2019.05.289>
- [40] Fallahzadeh AR, Mohammadi S. Antinociceptive and anti-inflammatory, and acute toxicity effects of *Asparagus persicus* essential oil in male mice. *Koomesh* 2021; 23: 474-81. (Persian).  
<https://doi.org/10.52547/koomesh.23.4.474>
- used to treat skin diseases in northern Pakistan. *BMC Complement Altern Med* 2019; 19: 1-38.  
<https://doi.org/10.1186/s12906-019-2605-6>  
PMid:31409400 PMCID:PMC6693210
- [13] Gaur R, Bhatt K, Tiwari J. An ethnobotanical study of Uttar Pradesh Himalaya in relation to veterinary medicines. *J Indian Bot Soc* 1993; 72: 139-144.
- [14] Gao L, Wei N, Yang G, Zhang Z, Liu G, Cai C. Ethnomedicine study on traditional medicinal plants in the Wuliang Mountains of Jingdong, Yunnan, China. *J Ethnobiol Ethnomed* 2019; 15: 1-20.  
<https://doi.org/10.1186/s13002-019-0316-1>  
PMid:31426826 PMCID:PMC6699132
- [15] Kim YM, Kim MK. Efficacy Evaluation of Extracts from Different Parts of *Buxus Koreana*. *J Converg Inf Technol* 2020; 10: 272-278.
- [16] Karimi E, Mehrabanjoubani P, Es-Haghi A, Chamani J. Phenolic compounds of endemic *buxus* plants in caspian hyrcanian Forest (*Buxus Hyrcana* Pojark) and their biological Activities. *Pharm Chem J* 2019; 53: 741-747.  
<https://doi.org/10.1007/s11094-019-02072-2>
- [17] Yan YX, Sun Y, Li ZR, Zhou L, Qiu MH. Chemistry and biological activities of *Buxus* alkaloids. *Curr Bioact Compd* 2011; 7: 47-64.  
<https://doi.org/10.2174/157340711795163811>
- [18] Guo D, Li J, Wang Y, Lei L, Yu C, Chen N. Cyclovirobuxinum D suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine macrophages in vitro by blocking JAK-STAT signaling pathway. *Acta Pharmacol Sin* 2014; 35: 770-778.  
<https://doi.org/10.1038/aps.2014.16>  
PMid:24747164 PMCID:PMC4086391
- [19] Yousefbeyk F, Soltani TB, Motavallian A. Antidepressant-and anxiolytic-like effects of methanolic extract of *Salvia spinosa* L. in mice. *Koomesh* 2021; 23: 415-423. (Persian).  
<https://doi.org/10.52547/koomesh.23.3.415>
- [20] Bakhshi-Jouybari H, Bekhradnia A, Mirzaee F, Hosseinzadeh MH. Chemical composition of the lumpy bracket mushroom (*Trametes gibbosa*). *Res J Pharmacogn* 2022; 9: 19-27.
- [21] Sembiring E, Elya B, Sauriasari R. Phytochemical screening, total flavonoid and total phenolic content and antioxidant activity of different parts of *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. *Pharmacogn J* 2018; 10: 123-127.  
<https://doi.org/10.5530/pi.2018.1.22>
- [22] Najaf Zadeh Gharaboghaz M, Farahpour MR, Saghaie SH. Topical co-administration of *Teucrium polium* hydroethanolic extract and *Aloe vera* gel triggered wound healing by accelerating cell proliferation in diabetic mouse model. *Biomed Pharmacother* 2020; 127: 110-189.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110189>  
PMid:32388242
- [23] Hanafi N, Shahani S, Enayatifard R, Talebpour Amiri F, Ghasemi M, et al. Licorice cream promotes full-thickness wound healing in Guinea pigs. *Marmara Pharm J* 2018; 22: 411-421.  
<https://doi.org/10.12991/jrp.2018.81>
- [24] Abramov Y, Golden B, Sullivan M, Botros SM, Miller JJR, Alshahrour A. Histologic characterization of vaginal vs. abdominal surgical wound healing in a rabbit model. *Wound Repair Regen* 2007; 15: 80-86.  
<https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2006.00188.x>  
PMid:17244323
- [25] CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.

# The effect of a topical ointment containing methanol extract of *Buxus hyrcana* Pojark. leaves on cutaneous wound healing in rats

Fereshteh Talebpour Amiri (Ph.D)<sup>1</sup>, Fatemeh Mirzaee (Ph.D)<sup>2</sup>, Paria Fadaee Heydarabadi (Pharm.D)<sup>3</sup>, Reza Enayatifard (Ph.D)<sup>4</sup>, Hamid Reza Goli (Ph.D)<sup>5</sup>, Somayeh Shahani (Ph.D)<sup>\*2,6</sup>

1- Dept. of Anatomy, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

2 - Medicinal Plants Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

3- Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

4- Dept. of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

5- Dept. of Medical Microbiology and Virology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

6- Dept. of Pharmacognosy and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

\* Corresponding author. +98 11 33543082 s.shahani@mazums.ac.ir

Received: 19 Feb 2022; Accepted: 5 Feb 2023

**Introduction:** *Buxus hyrcana* Pojark. has been traditionally used for the treatment of skin disorders including wound injuries and recent studies have shown the therapeutic potential of some *Buxus* species in healing skin wounds. In this study, the effect of an ointment containing methanolic extract of *B. hyrcana* leaves was evaluated on the full-thickness wound healing in a rat model.

**Materials and Methods:** The full-thickness wound was made with a scalpel on the dorsum cervical area of 32 Wistar rats (weighing 250-300 g). The animals were randomly divided into four groups: I; control, II; ointment base (eucerin), III; 1 % phenytoin cream, and IV; 5 % *B. hyrcana* methanolic extract ointment. For histopathological assessment, wound criteria were evaluated on the 12th day of treatment according to the Abramov score method. The collagen fiber deposition in the skin tissue was determined using Masson's trichrome staining. The spectrophotometric analysis was performed to evaluate the total phenol and total flavonoid content of the extract.

**Results:** Based on macroscopic observations, herbal ointment increased wound closure in the treatment group compared to the control group. In this way, the collagen deposition, epidermal and keratin formation, neovascularization, and fibroblast maturation increased significantly ( $P<0.05$ ) with the herbal ointment, the same as the phenytoin group. The extract did not show any antimicrobial effect using the disc agar diffusion method.

**Conclusion:** The observed wound-healing effect of *B. hyrcana* seems to be mainly due to the presence of flavonoid compounds in the plant extract.

**Keywords:** Wound healing, Histopathology, *Buxus hyrcana*, Flavonoid, Rat