

## بررسی ماکروسکوپی ترکیب روغن اکالیپتوس آلبا و پپتیدهای ضد میکروبی در ترمیم

### زخم در موش صحرایی

ستایش سادات ناصری

دانشجو، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

شهرزاد عزیزی

بخش پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

آرمان شهابی

مرکز نوآوری سلول های بنیادی و پزشکی باز ساختی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

سعید زنگنه

مرکز نوآوری سلول های بنیادی و پزشکی باز ساختی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

علی همایونی

دانشجوی دوره دکترای تخصصی جراحی، گروه علوم درمانگاهی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

### چکیده

پوست به عنوان یک سد دفاعی در برابر عوامل خارجی عمل می کند که در شرایطی آسیب می بیند و بیماری های زمینه ای مانند بیماری های عروقی و دیابت و عفونت های میکروبی باعث ایجاد زخم های مزمن مقاوم به درمان می شوند. ترمیم زخم پوستی یک فرآیند پیچیده ای است که با پاسخ موضعی و سیستماتیک همراه است، اولین پاسخ التهاب است و پس از آن دوره ای از بازسازی بافت شامل رشد مجدد بافت پوششی، رگزایی و کلاژن سازی و در نهایت در یک فرآیند بازسازی برای احیا بافت به اوج می رسد. پپتیدهای ضد میکروبی (AMPS) که به دلیل پیدایش مقاومت باکتری های پاتوژن به عنوان جایگزین هایی برای آنتی بیوتیک ها مطرح هستند و به صورت طبیعی در تمام موجودات زنده وجود دارند. با تخریب غشای سلولی میکروب ها، بدون ایجاد مقاومت سلولی عمل می کنند. همچنین این پپتیدها با ویژگی های ضدالتهابی و ضد میکروبی، باعث تحریک سیتوکین ها و انتقال سلولی می شوند در مطالعه حاضر از روش QSAR برای سنتز پپتید های ضد میکروبی استفاده شد و اثر آن همراه با روغن اکالیپتوس آلبا بر روی ترمیم زخم در موش صحرایی مورد مطالعه قرار گرفت روغن اکالیپتوس به دلیل خاصیت ضداکسیدانی و ضدالتهابی می تواند در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم کمک کند باشد. نتیجه این مطالعه نشان می دهد که گروه پپتید و گروه کنترل مثبت (اکسید روی) بیستین تاثیر را بر روی جمع شدن و ترمیم زخم داشته است گروه ترکیبی پپتید و اکالیپتوس در مقایسه با گروه کنترل منفی تاثیر قابل توجهی بر روی ترمیم زخم نداشته است. به نظر می رسد گروه دریافت کننده درمان حاوی روغن اکالیپتوس به دلیل بروز خارش در زمان تجویز باعث تحریک حیوان در محل زخم شده است.

**واژگان کلیدی:** ترمیم زخم پوستی، روغن اکالیپتوس، پپتیدهای ضد میکروبی

### مقدمه

بهبود زخم در حیوانات یک فرآیند ضروری برای ترمیم و بازیابی عملکرد بافت پس از آسیب پوستی است. پوست، یک سپر محافظ در برابر چالش های محیطی خارجی است. درحالیکه پس از جراحی، ضربه، سوختگی، عفونت میکروبی، بیماری های پوستی یا



اختلالات متابولیک، این سد می تواند شکسته شود و باعث ایجاد زخم شود (Frykberg Robert, 2015). ترمیم زخم پوستی یک فرآیند پیچیده ای است که با پاسخ موضعی و سیستماتیک همراه است، اولین پاسخ التهاب است و پس از آن دوره ای از بازسازی بافت شامل رشد مجدد بافت پوششی، رگزایی و کلاژن سازی و در نهایت در یک فرآیند بازسازی برای احیا بافت به اوج می رسد. نکته مهم این است که شکست این سدها می تواند بهبود بافت های آسیب دیده را به تاخیر می اندازد و منجر به تشکیل زخم های مزمن غیر التیام دهنده شود. در این زمینه دیابت، بیماری های عروقی و عفونت های میکروبی شایع ترین عواملی هستند که باعث ایجاد زخم های مزمن مقاوم به درمان می شوند. پاتوژن های فرصت طلب مانند باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا یا باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس می توانند در زخم های پوستی کلونیزه شوند و بیوفیلم هایی را تشکیل دهند. این امر ریشه کنی باکتری ها را، عمدتاً به دلیل نفوذ ضعیف آنتی بیوتیک ها یا مکانیسم های پاکسازی میزبان یعنی آنتی بادی ها و فاگوسیت ها از طریق بیوفیلم میکروبی، دشوار می کند. علاوه بر این، سموم آزاد شده از باکتری ها و به بکارگیری سلول های ایمنی کمک می کند که منجر به یک پاسخ التهابی بیش از حد و مضر می شود. عفونت زخم به علت فزاینده مرگ و میر بیماران بستری در بیمارستان (به ویژه مواردی که به مدت طولانی بستری می شوند) تبدیل شده است و درمان آن ها بار قابل توجهی را بر سیستم مراقبت های بهداشتی و در کل اقتصاد وارد کرده است (Okur et al., 2020).

پپتید های ضد میکروبی <sup>1</sup>AMPs یکی از جایگزین های قوی برای آنتی بیوتیک ها هستند که به دلیل پیدایش مقاومت باکتری های پاتوژن به آنتی بیوتیک مورد توجه قرار گرفته اند و در تمام موجودات زنده به عنوان محصولات حفاظت شده تکاملی سیستم ایمنی ذاتی وجود دارند. از جمله در پوست پستانداران، سلول های که در لایه ی گرانولار پوست هستند، AMP ها را همراه با لیپیدها در داخل دانه های ترشحي به نام اجسام لایه ای سنتز و ذخیره می کنند و به فضاهای بین سلولی لایه های سطحی تر اپیدرم رها می کنند و یک مانع فیزیکی ایجاد می کنند که می تواند سبب رشد میکروبی شوند و همچنین از دست دادن آب را توسط سلول ها محدود کنند (Mangoni et al., 2016; Thapa et al., 2020).

AMPs شامل ۱۰ تا ۵۰ اسید آمینه هستند و به دلیل فعالیت های ضد باکتری، ضد ویروسی، ضد قارچ و ضد پروتوزوا کاربرد دارند و اکثریت AMPs به دلیل فراوانی آمینواسیدهای بازی و ساختار آمفی پاتیک در محیط های شبه غشاء، یک ویژگی کاتیونی مشترک دارند (Wang et al., 2018). مکانیسم اثر ضد میکروبی آن ها عمدتاً به دلیل برهم کنش الکترواستاتیک ساده با فسفولیپیدهای آنیونی غشای سلولی میکروبی است که منجر به فروپاشی و اختلال غشای سلولی و در نتیجه مرگ سلولی می شود. به همین دلیل، نسبت به آنتی بیوتیک های معمولی که معمولاً به سمت اهداف منفرد و عمدتاً آنزیمی هدایت می شوند، کمتر احتمال دارد در میکروب ها مقاومت ایجاد کند. برای مقاوم شدن در برابر AMP ها، میکروب ها باید ترکیب لیپیدی غشایی خود را "بازطراحی" کنند. و این کار سبب آسیب رساندن به خودشان می شود (Mangoni et al., 2016). مطالعات فراوانی از این فرضیه حمایت می کند که AMPs انسانی با روش های متعددی از جمله تعدیل تولید سیتوکین، مهاجرت سلولی، تکثیر و در برخی موارد رگزایی باعث بهبود زخم در پوست می شوند (Nasseri & Sharifi, 2022).

توسعه موفقیت آمیز AMPs برای اهداف مختلف درمانی از دیرباز هدف اصلی علاقه مندان به این رشته بوده است. در ابتدا تمرکز بر توسعه برای خواص ضد میکروبی آنها، به ویژه خطر کم انتخاب سویه های مقاوم بود. اخیراً توجه به سایر ویژگی های آن ها به عنوان تعدیل کننده ایمنی، در درمان سرطان و در پیشرفت بهبود زخم توجه جلب شده است.



اکالیپتوس یک تیره با ارزش دارویی از خانواده Myrtaceae است که بیش از ۸۰۰ گونه در مناطق مختلف جهان رشد می کند. اکالیپتوس آلبا دارای خواص دارویی مختلفی از جمله اثرات آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، سیتوتوکسیک و آفت کش است. عصاره اکالیپتوس همچنین برای درمان گلودرد، عفونت های مجاری ادراری، التهاب، زخم ها، عفونت های قارچی و بیماری های تنفسی، یعنی سرماخوردگی، احتقان سینوسی و آنفولانزا استفاده می شود (Mumtaz et al., 2022). ترکیبات مختلف فتوشیمیایی که در اکالیپتوس آلبا وجود دارد شامل ترپنوئیدها، تانن ها، فنل ها، فلاونوئید ها و استر های اسید چرب و الکل ها هستند. روغن اکالیپتوس آلبا که در این طرح استفاده شده است بیشتر دارای ترکیبات 1,8-سینه آل، آلفا-پینین و لیمونن است (Hussein & El-Anssary, 2019). گونه های اکالیپتوس غنی از پلی فنول هایی مانند کورستین، اسید الاژیک، اسید کلروژنیک و کاتچین هستند. علاوه بر این، مطالعات تجربی که انجام شده است. نقش اکالیپتوس را در پیشگیری از سرطان، دیابت، بهبود زخم و بیماری های قلبی عروقی تایید کرده است (Alam et al., 2018). پلی فنل ها فراوان ترین متابولیت های ثانویه در گیاهان با حدود ۸۰۰۰ ترکیب مختلف هستند و به عنوان عوامل بالقوه درمانی در درمان بیماری های مختلف توجه زیادی را به خود جلب کرده اند (Saporito et al., 2018).

استراتژی های فرمول بندی متفاوتی تاکنون برای انتقال موثر AMPs به زخم ها استفاده شده است از جمله AMPs بارگذاری شده در نانوذرات، هیدروژل ها، کرم ها، ژل ها، پماد ها و ویفرها توسعه یافته اند (Thapa et al., 2020). با این حال، تا به امروز، هیچ فرمولاسیونی برای کاربرد موضعی AMPs در بازار وجود ندارد. در نظر گرفتن حلالیت، پایداری و انتشار و در دسترس بودن AMPs پس از کاربرد موضعی برای افزایش اثر بخشی فرمول های AMP که به صورت موضعی استفاده می شوند، بسیار مهم است. علاوه بر این، توسعه فرمول زیست سازگار و زیست تخریب پذیر برای ارتقای سیستم ایمنی، کاهش سمیت و افزایش اپیتلیال شدن مجدد و تشکیل بافت گرانولاسیون برای دست یابی به بهترین نتیجه برای بهبود زخم ضروری است. بنابراین تغییرات در فرمولاسیون موجود برای ایجاد فرمولاسیون بهینه برای تحویل AMP به زخم ضروری است. در این مطالعه با استفاده از مدل پیشین<sup>۱</sup> QSAR و دیتابیس های موجود (database Dramp)، پپتیدهای ضد میکروبی جدیدی طراحی شد و ترکیب آن با روغن اکالیپتوس بررسی و تاثیر آن در ترمیم زخم در موش صحرایی بررسی شد.

## روش تحقیق

### نحو طراحی پپتید های ضد میکروبی

در این مطالعه با استفاده از مدل QSAR و دیتابیس های موجود (Dramp database)، پپتیدهای ضد میکروبی جدیدی طراحی شد و ترکیب آن با روغن اکالیپتوس بررسی و تاثیر آن در شرایط *in vitro* و *in vivo* مورد بررسی قرار گرفت.

### جمعیت مورد مطالعه

این مطالعه در ۵ گروه رت با وزن متوسط  $200 \pm 50$  گرم انجام شد. موش ها از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری شدند و دمای ۲۲-۲۵ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۰٪ و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی و تغذیه معمولی در قفس های مجزا نگهداری شده بودند. ۲۰ سر موش صحرایی به صورت تصادفی به ۴ گروه مساوی به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه کنترل منفی: زخم بدون درمان

گروه کنترل مثبت: دریافت کننده پماد زینک اکساید

گروه دریافت کننده پماد حاوی پپتید با غلظت MIC و روغن اکالیپتوس با غلظت ۵۰ درصد

<sup>۱</sup> Quantitative structure-activity relationship.

## گروه دریافت کننده پماد حاوی پیتید با غلظت MIC روش ایجاد زخم پوستی

حیوانات با استفاده از تزریق داخل صفاقی زایلازین (5 kg/mg 5 زایلازین) تحت بیهوشی عمومی قرار می‌گیرند. بعد از تراشیدن موهای پشت در موش، پوست آن ناحیه با پنبه و الکل ۷۰٪ کاملاً تمیز و ضدعفونی می‌شود و با استفاده از پانچ یک زخم کروی شکل به ابعاد ۰/۸ سانتی متر (Full-thickness) بر روی ناحیه تراشیده شده در یک طرف ستون فقرات ایجاد گردید. پس از زخم پوستی برای جلوگیری از شوک ۳ سی سی نرمال سالین به طریقه داخل صفاقی به موش‌ها تزریق می‌شود. موش‌ها پس از به هوش آمدن به صورت تصادفی به گروه‌های مختلف تقسیم و به قفس‌های انفرادی خود منتقل شدند. روز ایجاد زخم پوستی به عنوان روز صفر در نظر گرفته شد. در هر کدام از گروه‌های مورد مطالعه (به جز گروه کنترل منفی) زخم‌های پوستی توسط پماد مورد نظر پوشانده می‌شدند که اینکار از روز ایجاد زخم به صورت روزانه و به مدت ۱۰ روز ادامه پیدا کرد. ارزیابی زخم‌ها در روزهای ۵ و ۱۰ انجام می‌شود.

### ارزیابی ماکروسکوپی و درصد بهبودی زخم

در کنار زخم‌های گروه کنترل و درمان، یک خط کش مدرج میلی متری قرار داده شد و با استفاده از یک دوربین دیجیتال، در روز صفر و سپس در روزهای ۵ و ۱۰ عکس تهیه شد. درصد بهبودی زخم‌ها از طریق اندازه‌گیری سطح زخم و با فرمول زیر ارزیابی گردید:

$$\text{درصد بهبود زخم} = \frac{\text{سطح زخم در روز اول} - \text{سطح زخم در روز } n}{\text{سطح زخم در روز اول}} \times 100$$

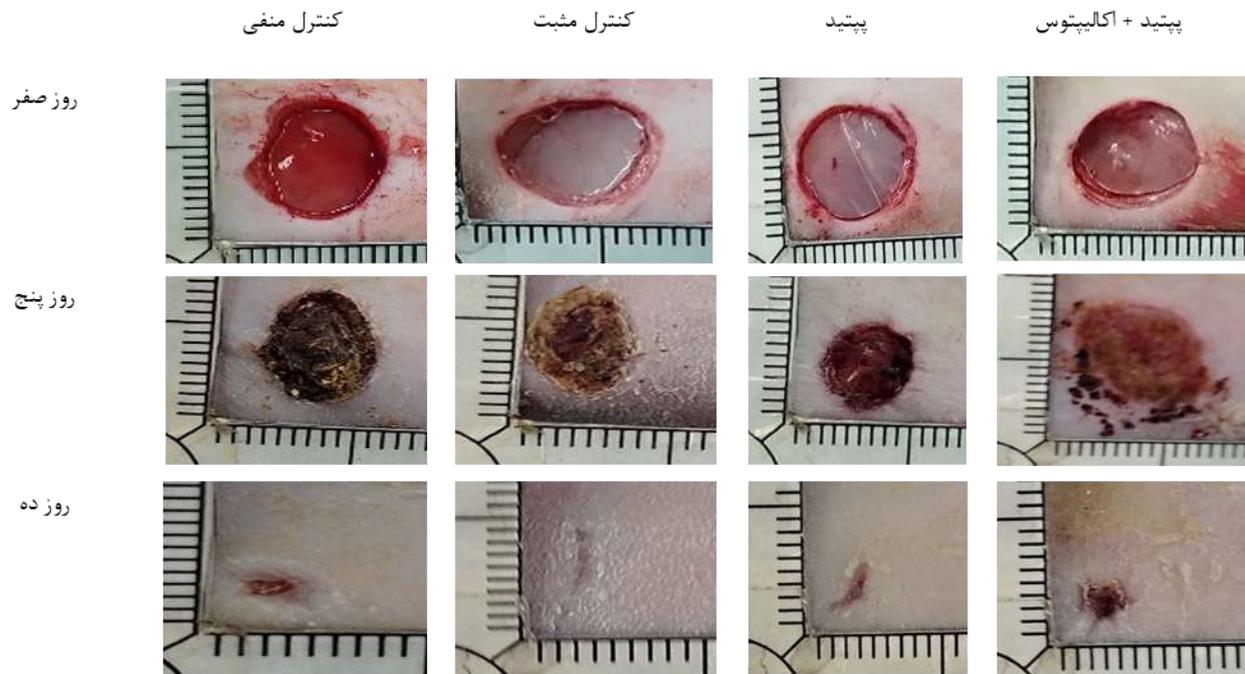
فرمول ۱: درصد بهبودی زخم‌ها از طریق اندازه‌گیری سطح زخم

### روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

جهت مقایسه متغیرهای کمی بین گروه‌های مورد آزمایش، از SPSS 23 و آزمون One-Way ANOVA و متغیرهای کیفی از آزمون‌های ناپارامتری kruska-wallis یا ویلکاکسون استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار میانگین Mean  $\pm$  SEM بیان شد و نتایج با  $P \leq 0/05$  معنی‌داری در نظر گرفته شدند.

### یافته‌ها

تفاوت ماکروسکوپی اندازه زخم‌های مکانیکی پوستی از روز اول تا روز ۱۰ در شکل ۱ نشان داده شده است. مساحت زخم‌های پوستی بر اساس  $\text{mm}^2$  از روز اول تا روز ۱۰ در جدول ۱ قابل مشاهده است. درصد جمع شدن زخم‌های پوستی در روزهای ۵ و ۱۰ براساس فرمول ۱ در روش کار محاسبه شده و در جدول ۲ نشان داده شده است.



شکل ۱: مقایسه ماکروسکوپی درمان با پیتید و ترکیب پیتید با روغن اکالیپتوس و مقایسه با کنترل مثبت و کنترل منفی در روز های ۵ و ۱۰ بعد از ایجاد زخم.

جدول ۱: مقایسه مساحت ( $\text{mm}^2$ ) زخم های گروه کنترل منفی و کنترل مثبت با گروه پیتید و گروه ترکیب پیتید با اکالیپتوس

|        | کنترل منفی                | کنترل مثبت                | پیتید                     | پیتید + اکالیپتوس          |
|--------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Day 0  | 83.726±5.750              | 84.778±7.356              | 85.790±6.374              | 99.389±7.489               |
| Day 5  | 41.380±5.668 <sup>b</sup> | 57.531±5.181 <sup>b</sup> | 52.143±8.541 <sup>b</sup> | 89.015±10.470 <sup>a</sup> |
| Day 10 | 2.048±0.845 <sup>a</sup>  | 0.850±0.653 <sup>a</sup>  | 1.094±0.878 <sup>a</sup>  | 4.403±2.261 <sup>a</sup>   |

جدول ۲: مقایسه درصد بهبود زخم در گروه کنترل منفی و کنترل مثبت با گروه پیتید و گروه ترکیب پیتید با اکالیپتوس

|        | کنترل منفی | کنترل مثبت | پیتید  | پیتید + اکالیپتوس |
|--------|------------|------------|--------|-------------------|
| Day 5  | 50.576     | 32.139     | 39.220 | 10.437            |
| Day 10 | 97.553     | 98.997     | 98.724 | 95.569            |

۵ روز پس از ایجاد زخم گروه پیتید بیشترین کاهش مساحت زخم و گروه ترکیبی پیتید و اکالیپتوس کمترین کاهش مساحت زخم را نشان داده است که از نظر آماری، این گروه تفاوت معنی داری با گروه های درمان با پیتید و کنترل منفی و کنترل مثبت نشان نداد ولی در آنالیزهای آماری گروه درمان شده با ترکیب پیتید و اکالیپتوس با سایر گروه ها تفاوت معنی دار دارد (جدول ۱).

$P \leq 0/05$ ). پس از ۱۰ روز از ایجاد زخم، گروه کنترل مثبت و بعد از آن گروه درمان شده با پپتید بیشترین اثر را در کاهش مساحت زخم داشته اند هرچند از نظر آماری تفاوت معنی داری بین گروه های کنترل و درمان با پپتید به دست نیامد ( $P \leq 0/05$ ).

### بحث و نتیجه گیری

مطالعاتی که تاکنون بر روی پپتید های ضد میکروبی AMPS انجام شده، نشان داده است که این ترکیبات پتانسیل زیادی در استفاده در صنایع همچون صنایع غذایی و پزشکی دارند. کشفیات جدید در مورد AMPS جدید و سیستم های زیستی که در سنتز، ایمنی و تنظیم این ترکیبات نقش دارند پیشرفت هایی را این زمینه ممکن می سازد. اولین پپتیدهای ضد میکروبی ارزیابی شده برای درمان زخم های انسانی خصوصا زخم های عفونی، pexiganan بوده است که یک آنالوگ ۲۲ آمینو اسید مصنوعی از AMP، magainin 2 است که توسط قورباغه پنجه دار آفریقایی<sup>۱</sup> تولید می شود و در حال حاضر برای زخم پای دیابتی عفونی در حال بررسی می باشد (Ghoreishi et al., 2022; Huan et al., 2020; Pfalzgraff et al., 2018).

مطالعات اخیر در مورد AMPS، از این فرضیه حمایت می کند که پپتیدهای ضد میکروبی های انسانی با روش های متعددی از جمله تعدیل تولید سیتوکین، مهاجرت سلولی، تکثیر و در برخی موارد رگزایی باعث بهبود زخم در پوست می شوند. به عنوان مثال، بیان بتا دهنسین انسانی (hBD-2) در زخم های پوست انسان با فعال شدن گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR) القا می شود و تولید سیتوکین کراتینوسیت و مهاجرت را افزایش می دهد. دیفنسین دیگر (hBD-3) نیز به مقدار زیاد توسط کراتینوسیت ها در محل های زخم بیان می شود، ترشح سیتوکین، مهاجرت سلولی و تکثیر را از طریق فسفوریلاسیون پروتئین های EGFR و STAT افزایش می دهد و به طور قابل توجهی بسته شدن زخم را در صورت استفاده موضعی در مدل خوک زخم های پوستی عفونی تسریع می کند (Diamond et al., 2009).

از دهه ۱۹۸۰ مدل های QSAR محاسباتی برای سنتز پپتیدها به عنوان راهنمای پیش بینی فعالیت و بهینه سازی توالی برای فعالیت های بیولوژیکی مختلف مورد استفاده قرار گرفته اند در دهه ۱۹۹۰، روش های یادگیری ماشینی به طور خاص شبکه های عصبی مصنوعی جایگزین توابع رگرسیون سنتی تر برای مدل های پپتید QSAR شدند. روش های محاسباتی ابزاری ارزشمند در طراحی و ارزیابی ترکیبات جدید هستند زیرا سریع و مقرون به صرفه می باشند. علاوه بر این، این ترکیبات نیازی به سنتز شیمیایی و روش های آزمایشی پیچیده ندارند (Haney et al., 2018; Li et al., 2021). در مطالعه حاضر از روش QSAR برای سنتز پپتید های ضد میکروبی استفاده شد و اثر آن همراه با روغن اکالیپتوس آلبا بر روی ترمیم زخم در موش صحرائی مورد مطالعه قرار گرفت.

اکالیپتوس آلبا که دارای خواص دارویی مختلفی از جمله اثرات آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، سیتوتوکسیک و آفت کش است و چون غنی از پلی فنول هایی مانند کورستین، اسید الاژیک، اسید کلروژنیک و کاتچین می باشد برای فعالیت های دارویی مورد مطالعه قرار گرفته است (Mumtaz et al., 2022).

چانگ و همکاران (۲۰۱۷) پپتید DRGN-1 مستخرج از پوست اژدهای کومودو<sup>۱</sup> بر روی ترمیم زخم موش سوری آزمایش کرده و یازده روز پس از ایجاد زخم نمونه برداری کردند و دریافتند که این پپتید باعث تشکیل بافت گرانوله، بازسازی اپیتلیوم و تکثیر و مهاجرت کراتینوسیت‌ها می‌شود (Chung et al., 2017).

موو و همکاران (۲۰۱۴)، پپتید Tylotoin را از پوست سمند استخراج کردند و بر روی ترمیم زخم موش سوری آزمایش کردند و ده روز بعد از ایجاد زخم نمونه برداری کردند و دریافتند که ویژگی‌های آن شامل فعالیت تنظیم سیستم ایمنی، تحریک مهاجرت و تکثیر سلول‌ها و همچنین آنژیوژنز می‌باشد (Mu et al., 2014).

از یافته‌ها تحقیقات ممتاز و همکاران (۲۰۲۲) که بر روی نانوامولسیون اسانس اکالیپتوس در موش صحرایی که به صورت خوراکی استفاده شد، این است که افزایش قابل توجهی در محتوا کلاژن نمونه زخم داشته است (Mumtaz et al., 2022).

مکانیسم‌های عملکرد پپتیدهای ضد میکروبی، بسیار گسترده است و دارای فعالیت‌های ضد میکروبی، خنثی کردن عامل التهابی لیپوپلی ساکارید (LPS) و کاهش التهاب، جذب شیمیایی سلول‌های ایمنی و تکثیر سلولی، رگ‌زایی، تاثیر روی ماتریکس خارج سلولی و انقباض زخم، تنظیم و تقویت سیستم ایمنی و مداخله در فرآیند تشکیل بیوفیلم هستند (Thapa et al., 2020).

همچنین دارای انواع فعالیت‌های بیولوژیکی مانند ضد باکتری، ضد ویروسی، ضد سرطان، تنظیم ایمنی، بهبود زخم و خواص آنتی‌اکسیدانی هستند (Cresti et al., 2024). در نتیجه این ترکیبات سبب ایجاد امیدی گسترده برای توسعه بالقوه آن‌ها به عنوان مولکول‌های ضد عفونی جدید با خواص مفید اضافی، یا در برخی موارد برای استفاده به عنوان تعدیل‌کننده مستقل در غیاب عفونت آشکار می‌شود (Thapa et al., 2020).

در مطالعه حاضر گروه پپتید و کنترل مثبت (اکسید روی) بیشترین تاثیر را بر روی جمع شدن و ترمیم زخم داشته است گروه ترکیبی پپتید و اکالیپتوس در مقایسه با گروه کنترل منفی تاثیر قابل توجهی بر روی ترمیم زخم نداشته است. به نظر می‌رسد گروه دریافت کننده درمان حاوی روغن اکالیپتوس به دلیل بروز خارش در زمان تجویز باعث تحریک حیوان در محل زخم شده است.

پیشنهاد می‌شود که تاثیر پپتیدهای ضد میکروبی بر انواع زخم‌های دیگر مانند زخم‌های دیابتی، جراحی و سوختگی مورد بررسی قرار گیرد و همچنین ماده حاوی AMPs را به شکل‌های دیگر مانند پمادهای روغنی و یا گاز‌های برای پانسمان مورد آزمایش قرار گیرد. همچنین تحقیقات بیشتری در زمینه اثر بخشی اکالیپتوس در زمینه ترمیم زخم در مدل‌های حیوانی، انجام شود.

## منابع

- Alam, P., Shakeel, F., Anwer, M. K., Foudah, A. I., & Alqarni, M. H. (2018). Wound healing study of eucalyptus .essential oil containing nanoemulsion in rat model. *Journal of oleo science*, 67(8), 957-968
- B. M., & van Hoek, M. L. (2017). Komodo dragon-inspired ,Chung, E. M., Dean, S. N., Propst, C. N., Bishop synthetic peptide DRGN-1 promotes wound-healing of a mixed-biofilm infected wound. *npj Biofilms and Microbiomes*, 3(1), 9
- Clinical Application—A Long History to Cresti, L., Cappello, G., & Pini, A. (2024). Antimicrobial Peptides towards .Be Concluded. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(9), 4870
- Diamond, G., Beckloff, N., Weinberg, A., & Kisich, K. O. (2009). The roles of antimicrobial peptides in innate host .defense. *Current pharmaceutical design*, 15(21), 2377-2392
- .FrykbergRobert, G. (2015). Challenges in the treatment of chronic wounds. *Advances in wound care*



- Ghoreishi, F. S., Roghanian, R., & Emtiazi, G. (2022). Novel chronic wound healing by anti-biofilm peptides and protease. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 12(3), 424
- Haney, E. F., Brito-Sánchez, Y., Trimble, M. J., Mansour, S. C., Cherkasov, A., & Hancock, R. E. (2018). Computer-aided discovery of peptides that specifically attack bacterial biofilms. *Scientific Reports*, 8, 11871
- Huan, Y., Kong, Q., Mou, H., & Yi, H. (2020). Antimicrobial peptides: classification, design, application and research progress in multiple fields. *Frontiers in microbiology*, 11, 582779
- Hussein, R. A., & El-Anssary, A. A. (2019). Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal medicine*, 1(3), 11-30
- Li, G., Wang, Y., Shen, Y., Guo, H., He, Q., Hu, Y., . . . Wang, Y. (2021). In silico design of antimicrobial oligopeptides based on 3D-QSAR modeling and bioassay evaluation. *Medicinal Chemistry Research*, 30(11), 2030-2041
- Mangoni, M. L., McDermott, A. M., & Zasloff, M. (2016). Antimicrobial peptides and wound healing: biological and therapeutic considerations. *Experimental dermatology*, 25(12), 1167-1173
- Mu, L., Tang, J., Liu, H., Shen, C., Rong, M., Zhang, Z., & Lai, R. (2014). A potential wound-healing-promoting peptide from salamander skin. *The FASEB Journal*, 28(9), 3919
- Mumtaz, R., Zubair, M., Khan, M. A., Muzammil, S., & Siddique, M. H. (2022a). Extracts of *Eucalyptus alba* Promote diabetic wound healing by inhibiting  $\alpha$ -glucosidase and stimulating cell proliferation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022
- Mumtaz, R., Zubair, M., Khan, M. A., Muzammil, S., & Siddique, M. H. (2022b). Extracts of *Eucalyptus alba* Promote Diabetic Wound Healing by Inhibiting  $\alpha$ -Glucosidase and Stimulating Cell Proliferation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022(1), 4953105
- Nasser, S., & Sharifi, M. (2022). Therapeutic potential of antimicrobial peptides for wound healing. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 28, 1-15
- Okur, M. E., Karantas, I. D., Şenyiğit, Z., Okur, N. Ü., & Siafaka, P. I. (2020). Recent trends on wound management: New therapeutic choices based on polymeric carriers. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(6), 661-684. Retrieved from <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7750807/pdf/main.pdf>
- Pfalzgraff, A., Brandenburg, K., & Weindl, G. (2018). Antimicrobial peptides and their therapeutic potential for bacterial skin infections and wounds. *Frontiers in pharmacology*, 9, 281
- Saporito, F., Sandri, G., Bonferoni, M. C., Rossi, S., Boselli, C., Icaro Cornaglia, A., . . . Ferrari, F. (2018). Essential lipid nanoparticles for wound healing. *International journal of nanomedicine*, 13, 175-186
- Thapa, R. K., Diep, D. B., & Tønnesen, H. H. (2020). Topical antimicrobial peptide formulations for wound healing: Current developments and future prospects. *Acta biomaterialia*, 103, 52-67
- Wang, X., Mishra, B., Lushnikova, T., Narayana, J. L., & Wang, G. (2018). Amino acid composition determines peptide activity spectrum and hot-spot-based design of Mercidin. *Advanced biosystems*, 2(5), 1700259



## Topical effect of combined antimicrobial peptide and Eucalyptus alba oil on cutaneous wound healing in rat

**Setayesh Sadat Naseri**

Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

**Shahrzad Azizi**

Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

**Saeed Zanganeh**

Center for Stem Cell and Regenerative Medicine Innovation, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

**Arman Shahabi**

Center for Stem Cell and Regenerative Medicine Innovation, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

**Ali Homayooni**

Clinical science department of veterinary faculty of Shahid bahonar university of kerman, kerman, iran

### Abstract

The skin is a protective barrier against external factors. This barrier can be damaged due to vascular diseases, diabetes and microbial infections. Skin wound healing is a complex process that is accompanied by inflammation, proliferation (re-epithelialization, angiogenesis, collagen deposition), and remodeling. Antimicrobial peptides (AMPs), which are considered as proper alternatives for antibiotics and development pathogenic bacteria resistance. AMPs act by destroying the cell membrane of microbes, without causing cellular resistance. These peptides also stimulate cytokines and cell migration with anti-inflammatory and antimicrobial properties. In the present study, the QSAR method was used to synthesize antimicrobial peptides and its effect together with Eucalyptus alba oil on wound healing in rats was studied. Eucalyptus oil can help biofilm formation due to its antioxidant and anti-inflammatory properties. The results of this study show that the peptide group and the positive group (zinc oxide) were more effective in decreasing of wound area in compared with the negative control group. The combined peptide/Eucalyptus group did not have a considerable effect on wound healing compared to the negative control group. It seems that the group receiving treatment containing Eucalyptus oil irritated the animal at the wound site due to display itching at administration time.

**Keywords:** Antimicrobial peptides ,Eucalyptus oil ,cutaneous wound heal