

Comparative study of hydro-alcoholic extract effects from Marigold, Aloe vera, and Castor on L929 cell proliferation

Malihe Hosseini Soumaiegi¹, Maha Masoudi², Mohammad Esmail Ahmadyar³, Hassan Fazelinejad^{4,5}, Raheleh Rahbarian⁶, Davod Ilbeigi⁷, Mohammad Ali Fahmidehkar⁷

1. Department of Biology, Payame Noor University, Mashhad, Iran

2. Vice Chancellery of Education and Research, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

3. Student Research Committee, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

4. Department of Biology, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

5. Research Core of Cognitive Sciences and Aging Studies, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

6. Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

7. Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

Corresponding author: Mohammad Ali Fahmidehkar, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran. e-mail: fahmidehkarma@gmail.com

Received: 25 September 2024

Revised: 24 January 2025

Accepted: 1 February 2025

Abstract

Keywords:

Wound, L929 cell line, Aloe vera, Castor, Marigold

Background & Aim: The skin is important for protection against water loss, hemorrhage, and microbial invasion. Growing interest in medicinal plants in the world is due to their reduced side effects, lower financial cost, outstanding therapeutic benefits, and the focus of the World Health Organization on the development of medicinal plant cultivation industries. This study was aimed to compare the effects of hydro-alcoholic extract of Aloe vera, Castor, and Marigold on the proliferation and growth of L929 cells.

Methods: L929 cells were grown in the standard medium of RPMI 1640, followed by incubation of varying concentrations of different hydro-alcoholic extracts. Initially, IC₅₀ values for each extract were determined using the MTT assay. Cell proliferation was then assessed at concentrations much lower than the IC₅₀ in the form of both MTT and wound healing assays. Data analysis was performed using SPSS software version 26 and the level of significance was set at 5%.

Results: Maximum cell proliferation was obtained using the MTT assay at concentrations of the extract of 1 mg/ml. The mean cell counts and proliferation rates at 48 hours after treatment with Aloe vera, Castor, and Marigold were 0.61 ± 0.006 , 0.57 ± 0.007 , and 0.55 ± 0.006 , respectively, with statistically significant increases compared to the control group (0.45 ± 0.006) ($P < 0.05$). Regarding the migration and wound healing outcomes, the average wound width at 48 hours after Aloe vera and Castor treatment was 50.54 ± 3.26 and 57.82 ± 4.12 , respectively, which were significantly less than that of the control group (68.92 ± 2.73) ($P < 0.05$).

Conclusion: Since Aloe vera showed better effects on L929 cell growth than other tested extracts, it would be advantageous to incorporate Aloe vera into the pharmaceutical formulations for wound healing treatment purposes.

How to Cite this Article: Hosseini Soumaiegi M, Masoudi M, Ahmadyar MI, Fazeli Nejad H, Rahbarian R, Ilbeigi D, Fahmidehkar MA. Comparative study of hydro-alcoholic extract effects from Marigold, Aloe vera, and Castor on L929 cell proliferation. Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2025;13(1):33-45. DOI: [10.61882/jmsthums.13.1.33](https://doi.org/10.61882/jmsthums.13.1.33)

مقایسه اثر عصاره هیدروالکلی گل همیشه بهار، آلوئه ورا و کرچک بر روند تکثیر سلول‌های L929

ملیحه حسینی صومعه‌گی^۱، مهسا مسعودی^۲، محمد اسماعیل احمدیار^۳، حسن فاضلی نژاد^۴ و^۵، راهله رهباریان^۶، داود ایل‌بیگی^۷، محمدعلی فهمیده کار^۷

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، مشهد، ایران
۲. معاونت آموزشی و پژوهشی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران
۳. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران
۴. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران
۵. هسته پژوهشی علوم شناختی و مطالعات سالمندی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران
۶. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۷. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

چکیده

تاریخ دریافت:

۱۴۰۳/۰۷/۰۴

تاریخ بازنگری:

۱۴۰۳/۱۱/۰۵

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۳/۱۱/۱۳

زمینه و هدف: پوست برای محافظت در برابر از دست دادن آب، خونریزی و مقابله با میکروارگانیسم‌ها حیاتی است. علت توجه و روآوری به استفاده از گیاهان دارویی در جهان عوارض جانبی کمتر، کاهش بار مالی، اثرات درمانی قابل توجه و توسعه صنایع وابسته به کشت گیاهان دارویی توسط سازمان بهداشت جهانی می‌باشد. این مطالعه با هدف مقایسه اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاه آلوئه‌ورا، کرچک و همیشه بهار بر تکثیر و رشد سلول‌های L929 انجام شد.

روش‌ها: سلول‌های L929 در محیط کشت RPMI 1640 کشت داده شد. سپس در غلظت‌های متفاوتی از عصاره‌های هیدروالکلی مختلف انکوبه شدند. ابتدا با روش MTT assay میزان IC₅₀ برای هر عصاره محاسبه گردید. سپس در غلظت‌های بسیار پایین‌تر از IC₅₀ عصاره‌ها میزان تکثیر سلولی با روش MTT assay و Wound healing assay مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: با استفاده از روش MTT assay در غلظت ۱ mg/ml از عصاره‌ها، بیشترین اثر بر تکثیر سلول‌ها مشاهده گردید، به طوریکه میزان تکثیر و تعداد سلول‌های L929 ۴۸ ساعت بعد از تیمار با آلوئه‌ورا، کرچک و همیشه بهار به ترتیب 0.06 ± 0.61 ، 0.07 ± 0.57 و 0.06 ± 0.55 گزارش گردید که به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل (0.06 ± 0.45) بود ($P < 0.05$). در بررسی اثر بر مهاجرت و بهبود زخم، میانگین اندازه عرض خراش، ۴۸ ساعت بعد از تیمار با آلوئه‌ورا و کرچک به ترتیب $3/26 \pm 0.54$ و $4/12 \pm 0.82$ گزارش گردید که در مقایسه با گروه کنترل ($2/73 \pm 0.98$) کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: از آنجایی که تأثیر آلوئه‌ورا نسبت به دیگر عصاره‌های مورد مطالعه بر روی رشد سلول‌های L929 بیشتر و بهتر بود، استفاده از آلوئه‌ورا در ترکیبات دارویی، جهت ترمیم زخم، می‌تواند مفید باشد.

کلیدواژه‌ها:

زخم، رده سلولی L929، آلوئه ورا، کرچک، همیشه بهار

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه محفوظ است.

مقدمه

پوست بزرگ‌ترین اندام بدن است که از اندام‌های احشایی در برابر عفونت ایجادشده توسط میکروب‌ها محافظت می‌کند (۱). حفظ یکپارچگی پوست در انسان و حیوانات برای محافظت در برابر از دست دادن آب، خونریزی و مقابله با ورود میکروارگانیسم‌ها حیاتی است. بهبود و ترمیم زخم انسان و حیوانات تکامل یافته، یک مکانیسم کاملاً پیچیده و پیشرفته دارد (۲). مکانیسم ترمیم زخم برای بازیابی بافت از دست‌رفته و حفظ هموستاز بافت الزامی است (۱). سلول‌هایی مانند فیبروبلاست‌ها، کرایتینوسیت‌ها، ماکروفاژها و سایر سلول‌های سیستم ایمنی بدن به سرعت تکثیر یافته و به سمت زخم مهاجرت کرده و سلول‌های زخمی روند پیچیده بهبودی را شروع می‌کنند. فیبروبلاست‌ها بیشترین و اصلی‌ترین سلول‌های موجود در بافت می‌باشند که در طی ترمیم زخم در تولید ماتریکس خارج سلولی (ECM) و کلاژن نقش دارند (۳، ۴). ترمیم زخم به طور کلاسیک به چهار مرحله اصلی ساده شده است: هموستاز، التهاب، تکثیر و بازسازی پوست، که منجر به ترمیم معماری و فیزیولوژیک پس از آسیب می‌شود (۵).

سلول‌های فیبروبلاست در بسیاری از بافت‌های بدن به صورت گسترده‌ای حضور دارند. این سلول‌ها با توجه به ویژگی‌های ژنتیکی و قدرت تکثیری و تمایزی بسیار قابل توجه، نقش مهمی در سیستم ایمنی بدن ایفا می‌نمایند. سلول‌های فیبروبلاست با تولید و ترشح کلاژن که منبع اصلی ماتریکس خارج سلولی است، نقش مهمی در ایجاد استحکام بافتی دارند. براین اساس، سلول‌های فیبروبلاست در ترمیم زخم نیز تأثیر دارند. همچنین این سلول‌ها در رفع التهاب نیز نقش آفرین هستند (۶، ۷). در این راستا، رده سلولی L929 از رده سلولی مشهور فیبروبلاستی است، که به صورت گسترده‌ای در مطالعات مربوط به بررسی تکثیر و زنده‌مانی سلول‌های فیبروبلاستی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸، ۹).

در سال‌های اخیر تأثیر عصاره‌های مختلف گیاهی در درمان بیماری‌ها مورد توجه قرار گرفته است. گیاهان دارویی در درمان

آسیب‌های بافتی و تومورها دارای تاریخچه طولانی هستند و در روند بهبود و توسعه داروهای امروزی نقش بسزایی داشته‌اند. گیاهانی همچون گل همیشه بهار (Calendula officinalis)، کرچک (Ricinus Communis) و آلوئه ورا (Aloe Vera) در صنعت داروسازی به کار گرفته شده‌اند. گل همیشه بهار حاوی مقادیر کم اسانس روغنی فرار، ساپونین، رزین، اسیدهای عالی، ماده‌ای به نام کالندولین (Calendulin)، صمغ، مواد لعابی، آلبومین، اینولین، اسید سالیسیلیک، اسید لوریک، اسید پالمیتیک و کلسترول می‌باشد. گل‌ها حاوی اسانس بوده، که اجزای مهم آن شامل منتون (Menthone)، ایزومنتون (Isomentone)، گاماترپنین (Gammaterpene)، الفامورولن (Alfamorulen)، کاریوفیلن (Caryophyllene) می‌باشند. مهم‌ترین مواد مؤثر این گیاه را فلاونوئیدهای محلول در آب (یک درصد وزن گل خشک) تشکیل می‌دهند. از مواد دیگر آن می‌توان کاروتنوئیدها را نام برد (۱۰). روغن همیشه بهار در تولید کرم‌های ترکیبی استفاده می‌شود، که این روغن برای کمک به بهبودی پوست‌های خشن، ملتهب، خارش‌دار و بهبود آگزمای پوستی مفید است. چنانچه این روغن تحت فشار سرد استخراج گردد، تأثیر ضد تورم خواهد داشت (۱۱). در گیاه کرچک اسیدهای چرب زیادی وجود دارد، از جمله اسید ریسینولئیک (Ricinoic acid) (یک اسید چرب هیدروکسی غیراشباع) که مهم‌ترین اسید چرب موجود در روغن کرچک است. روغن کرچک دارای ریسینولین (Ricinoline) می‌باشد، که گلیسرید اسید ریسینولیک است. روغن کرچک دارای خواصی همچون کاهش تورم و التهاب، درمان زخم‌ها، مرطوب‌کننده پوست، افزایش گردش خون، درمان عفونت قارچی، درمان آفتاب‌سوختگی، تسکین زخم دهان و غیره می‌باشد (۱۲). برگ‌های گیاه آلوئه ورا حاوی ژل و شیرابه هستند، که ژل این گیاه ترکیبات مختلف از جمله اسید آمینه و فلاونوئیدها را دارا می‌باشد. استرول‌های موجود در گیاه عامل ضدالتهاب هستند. همچنین دارای خواص ضد عفونی‌کننده

لیتر مخلوط آب مقطر و متانول به آن اضافه گردید. بعد از گذشت ۱۲ ساعت عصاره به داخل ظرف‌های شیشه‌ای ریخته شده و در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت تا رطوبت باقی‌مانده در عصاره کاملاً خارج گردد و سپس برای جلوگیری از جذب رطوبت و یا آلودگی در یخچال نگهداری شدند.

کشت سلول

رده سلولی L929 به صورت فلاسک از انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت RPMI 1640 با نام تجاری Roswell Park Memorial Institute medium حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و ۱٪ آنتی بیوتیک کشت داده شد. محیط کشت RPMI 1640 از شرکت ایده زیست، تهیه و به منظور کامل شدن آن جهت استفاده در پژوهش به محلول RPMI 1640 با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر، ۵ میلی‌لیتر از محلول دو آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و پنی‌سیلین و ۵۰ میلی‌لیتر سرم گوساله (FBS) اضافه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید، سپس سلول‌ها در انکوباتور CO₂ دار (۵٪) و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند، تعویض محیط کشت هر ۲ روز یکبار انجام گردید (۱۶).

بررسی اثر سیتوتوکسیک به روش MTT

در این پژوهش اثر سیتوتوکسیک عصاره‌های تهیه‌شده بر روی رده سلولی L929 با روش رنگ سنجی MTT و از طریق مقایسه با گروه کنترل بررسی شد. بر اساس این روش کریستال‌های زرد رنگ تترازولولیم در واکنش با آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری موجود در سلول‌های زنده احیا و شکسته شده و کریستال‌های بنفش رنگ فورماران را ایجاد می‌کند. این کریستال‌ها با استفاده از DMSO کمپلکس بنفش رنگی را ایجاد می‌کنند که قابل رنگ سنجی می‌باشند. برای انجام این تست در ابتدا تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک از پلیت های ۹۶ خانه کشت داده شد. برای هر گروه سه چاهک در نظر گرفته شد. بعد از ۲۴ ساعت سلول‌های هر چاهک با غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۵۰، ۲۵ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) تیمار شدند.

می‌باشند. از جمله هورمون‌های موجود در آلوئه ورا اکسین (auxin) و جیبرلین (Gibberellin) می‌باشند، که این هورمون‌ها در التیام زخم و خاصیت ضدالتهابی بودن آلوئه ورا نقش دارند (۱۳). آنتراکینون‌های موجود در آلوئه ورا دارای خاصیت ضد درد، ضد قارچ، ضد باکتری، ضد ویروس و ضد سم می‌باشند. از ۸ اسید آمینه ضروری بدن انسان ۷ اسید آمینه در این گیاه موجود است که در ساختمان پروتئین و ایجاد بافت نقش دارند (۱۴). پلی ساکاریدهای موجود در این گیاه رشد و ترمیم پوست را تحریک می‌کند. با ارزش‌ترین خواص آلوئه ورا جلوگیری از ایجاد ضایعات پوستی و ترمیم پوست آسیب دیده می‌باشد. پس از بروز زخم فرآیند التهاب، تغییر وضعیت سیستم ایمنی و همچنین فرآیند ترمیم پوست فعال می‌شود. ارائه فرآورده‌ای که بتواند فرآیند فوق را در جهت ترمیم مطلوب قرار دهد، بسیار مفید خواهد بود (۱۵). با توجه به موارد ذکرشده در این تحقیق سعی بر این است که اثر عصاره‌های هیدروالکی گیاه آلوئه ورا، کرچک و همیشه بهار بر تکثیر سلول‌های فیبروبلاستی L929 که می‌توانند در بهبود زخم تأثیر داشته باشند مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش‌ها

تهیه عصاره

این مطالعه مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه قرار گرفته و کد اخلاق آن IR.THUMS.REC.1402.005 می‌باشد. بعد از جمع‌آوری گیاهان آلوئه ورا، کرچک و گل همیشه بهار و تأیید توسط متخصص گیاه‌شناسی در بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی مشهد، تمامی گیاهان در سایه و جریان هوا خشک شده و توسط آسیاب برقی آسیاب شدند. عصاره هیدروالکی گیاهان مورد مطالعه توسط شرکت ولاکسر واقع در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد با استفاده از روش سوکسوله تهیه گردید. در ابتدا ۱۰۰ گرم از پودر گیاهان در داخل کارتوش‌های ساخته شده از کاغذ صافی معمولی ریخته شده و در دستگاه سوکسوله قرار گرفتند و سپس ۳۰۰ میلی

معادله ۲:

$$\frac{W_{do} - W_{dt}}{W_{do}} = \text{مهاجرت سلولی}$$

W_{do} فاصله بین مرزهای خراش، بلافاصله بعد از ایجاد خراش و W_{dt} فاصله بین دو مرز خراش، پس از بازه زمانی موردنظر است.

آنالیز آماری

به منظور آنالیز آماری، با استفاده از نرم افزار SPSS 20، ابتدا توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت و پس از اطمینان از توزیع طبیعی داده‌ها، از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بنفرونی (Bonferroni) جهت مقایسه زنده‌مانی میان گروه‌ها استفاده گردید. سطح معنی‌داری در این مطالعه ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

درصد زنده ماندن سلول‌ها با روش رنگ سنجی MTT با غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه آلوئه ورا، کرچک و گل همیشه بهار

اثر سمیت گیاه آلوئه ورا بر روی سلول‌های L929 با استفاده از روش رنگ سنجی به وسیله MTT بررسی گردید. جذب نوری ثبت‌شده‌ی چاهک‌هایی که سلول‌ها در آن با غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گیاه آلوئه ورا تیمار گردیده بودند، با جذب نوری چاهک‌های شاهد (سلول‌هایی که هیچ تیماری دریافت نکرده بودند) مقایسه شد و درصد سلول‌های زنده محاسبه گردید. با استفاده از نرم افزار ED₅₀ plus مشاهده شد که برای عصاره آلوئه ورا در غلظت حدود ۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان زنده‌مانی سلول‌ها ۵۰ درصد بود. در نمودار ۱ میزان زنده‌مانی سلول‌ها در سه غلظت ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ارائه گردیده است. نتایج نشان داد که غلظت‌های کمتر از ۲۵ میکروگرم می‌تواند میزان بقای سلول‌ها را افزایش دهد و در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیچ سلولی از بین نمی‌رود به همین دلیل این دوز برای آزمایش‌ها و بررسی‌های

چاهک مربوط به گروه کنترل هیچ عصاره‌ای دریافت نکرد. سلول‌های تیمار شده به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس ۲۰ میکرولیتر محلول MTT به هر چاهک اضافه و به مدت ۳ ساعت انکوبه شد. ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به چاهک‌ها اضافه گردید و جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه میکروپلیت ریدر در سه بازه زمانی سنجیده شد. چاهک حاوی سلول و فاقد عصاره به عنوان کنترل مثبت و چاهک حاوی محیط کشت و فاقد سلول به عنوان بلانک در نظر گرفته شدند. درصد بقای سلول‌ها بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید. در ابتدا برای حذف خطای احتمالی میزان جذب نمونه بلانک از جذب نمونه تیمار شده و نمونه کنترل کم گردید سپس جذب نمونه‌های تیمار شده بر نمونه‌های کنترل تقسیم گردید و میزان بقای سلولی هر یک از چاهک‌ها از طریق معادله ۱ تعیین شد (۱۷).

معادله ۱: درصد بقای سلولی = (جذب نمونه بلانک - جذب نمونه تیمار شده) / (جذب نمونه بلانک - جذب نمونه کنترل) × ۱۰۰

تست خراش (Wound healing assay)

با استفاده از این روش میزان تکثیر سلول‌ها بعد از ایجاد خراش در سطح سلول‌های کشت‌شده تخمین زده می‌شود. سلول‌ها به تعداد ۱۰^۴ × ۱۵ در پلیت‌های ۶ خانه کشت شدند. بعد از اینکه ۹۰ درصد پلیت‌ها پر از سلول گردید با نوک سمپلر خراشی در سطح سلول‌ها ایجاد کرده و سلول‌های جدا شده را با PBS شسته و تخلیه نموده، سپس محیط کشت تازه به همراه غلظت مناسب (غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) عصاره‌ها به هر پلیت اضافه گردید و محیط کشت در فواصل منظم تعویض گردید و در بازه‌های زمانی ۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از ایجاد خراش از محل خراش تصویربرداری صورت گرفت. مهاجرت سلول‌ها با استفاده از تصاویر گرفته‌شده و محاسبه با نرم افزار Toup View بر طبق معادله زیر بررسی گردید و به صورت درصد گزارش گردید. جهت بررسی تکرارپذیری بودن آزمایش‌ها به طور مستقل دو بار دیگر تکرار گردیدند.

جدول ۱: مقایسه زنده‌مانی سلول‌ها در گروه‌های مختلف

گروه	غلظت	میانگین	انحراف معیار	P value*
تیمار شده با آلوئه‌ورا	g/ml ۱۰۰ μ	۲۲	۶/۰۲	۰/۰۰۰۸
	۵۰ μg/ml	۴۴	۵/۲	۰/۰۰۰۲
	۲۵ μg/ml	۶۵	۷/۶	۰/۰۰۰۱
تیمار شده با کرچک	۱۰۰ μg/ml	۴۱	۲/۰۸	۰/۰۰۰۳
	۵۰ μg/ml	۵۰	۲/۰۸	۰/۰۰۰۴
	۲۵ μg/ml	۵۵	۹/۷	۰/۰۰۰۹
تیمار شده با همیشه بهار	۱۰۰ μg/ml	۸	۱/۰۳	۰/۰۰۰۰۲
	۵۰ μg/ml	۳۴	۵/۰۷	۰/۰۰۰۹
	۲۵ μg/ml	۵۲	۳/۰۵	۰/۰۰۰۶
کنترل	۱۰۰ μg/ml	۱۰۰	۰/۱	-
	۵۰ μg/ml	۱۰۰	۰/۱	-
	۲۵ μg/ml	۱۰۰	۰/۱	-
P value* مربوط به مقایسه گروه‌ها با گروه کنترل می‌باشد				

مقایسه‌ی تأثیر عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان آلوئه‌ورا،**کرچک و همیشه بهار بر تکثیر سلول‌ها با روش تست خراش**

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده‌شده است میزان عرض خراش ایجادشده در ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تیمار سلول‌ها کاهش‌یافته است که نشان‌دهنده رشد و تکثیر بهتر سلول‌ها می‌باشد. ۴۸ ساعت بعد از تیمار، میانگین اندازه عرض خراش در گروه تیمار شده با آلوئه‌ورا $50/54 \pm 3/26$ ، در گروه تیمار شده با کرچک $57/82 \pm 4/12$ و در گروه تیمار شده با همیشه بهار $70/94 \pm 1/56$ گزارش گردید که گروه‌های آلوئه‌ورا و کرچک در مقایسه با گروه کنترل ($68/92 \pm 2/73$) کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/05$). در زمان ۷۲ ساعت تأثیر عصاره‌ها در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بوده و باعث کاهش بیشتر عرض خراش شدند و میانگین اندازه عرض خراش در گروه تیمار شده با آلوئه‌ورا $13/20 \pm 1/53$ ، در گروه تیمار شده با کرچک $28/80 \pm 0/83$ و در گروه تیمار شده با همیشه بهار $33/60 \pm 1/96$ گزارش گردید و گروه‌های آلوئه‌ورا و کرچک در

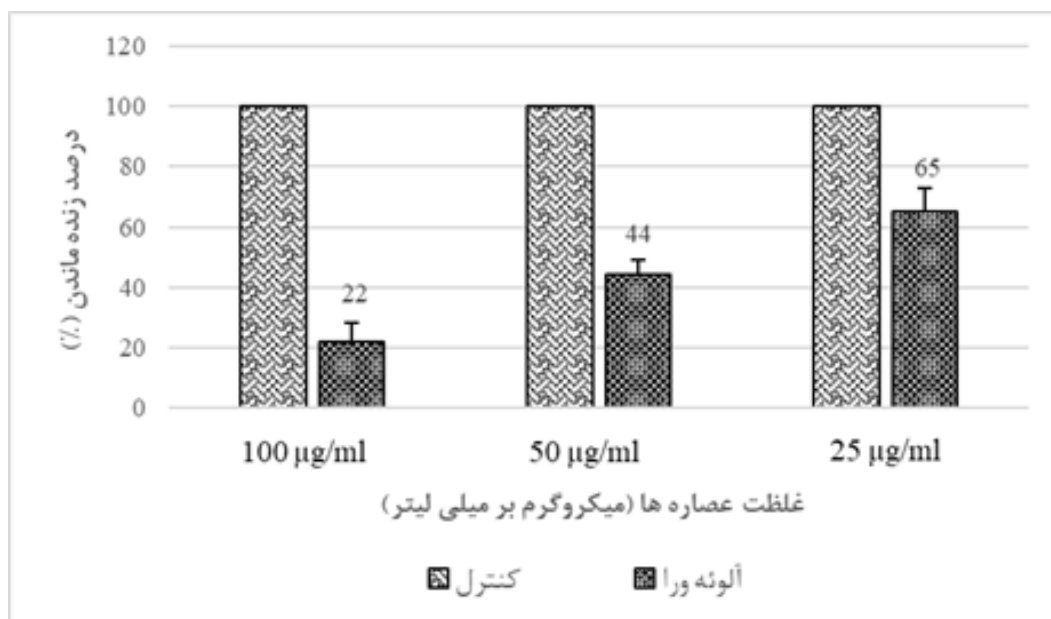
بعدی استفاده گردید. برای عصاره کرچک در غلظت حدود ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان زنده‌مانی سلول‌ها ۵۰ درصد بود. در نمودار ۲ میزان زنده‌مانی سلول‌ها در سه غلظت ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ارائه گردیده است. نتایج نشان داد که غلظت‌های کمتر از ۲۵ میکروگرم می‌تواند میزان بقای سلول‌ها را افزایش دهد و در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیچ سلولی از بین نمی‌رود به همین دلیل این دوز برای آزمایش‌ها و بررسی‌های بعدی استفاده گردید. برای عصاره گل همیشه بهار همان‌طور که در نمودار ۳ ارائه‌شده با افزایش غلظت میزان زنده‌مانی سلول‌ها کاهش یافت. در غلظت ۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر ۵۰ درصد سلول‌های L929 باقی ماندند و در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان زنده‌مانی سلول‌ها ۱۰۰ درصد گزارش گردید به همین دلیل این غلظت برای بررسی‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱).

مقایسه‌ی تأثیر عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان آلوئه‌ورا،**کرچک و همیشه بهار بر تکثیر سلول‌ها با روش رنگ سنجی****MTT**

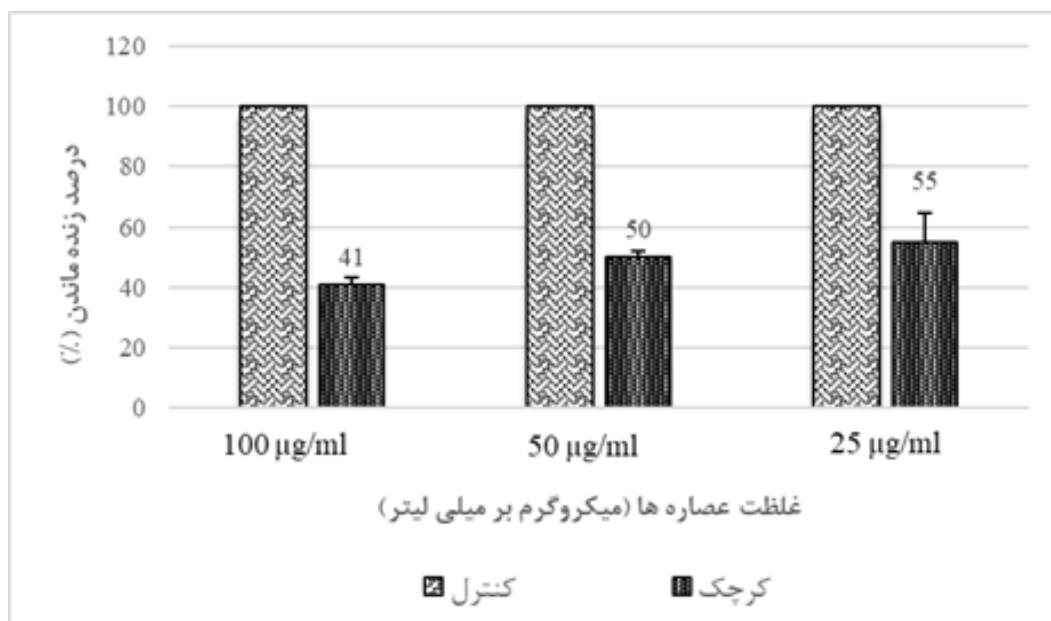
مقایسه‌ی اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان آلوئه‌ورا، کرچک و همیشه بهار بر میزان تکثیر سلول‌های L929 بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از روش MTT، در نمودار ۴ نشان داده شده است. بعد از ۲۴ ساعت میزان تکثیر سلول‌ها در گروه آلوئه‌ورا $0/39 \pm 0/01$ ، در گروه تیمار شده با کرچک $0/36 \pm 0/01$ و در گروه تیمار شده با همیشه بهار $0/33 \pm 0/01$ گزارش گردید. بعد از ۴۸ ساعت میزان تکثیر سلول‌ها در گروه‌های تیمار شده با آلوئه‌ورا، کرچک و همیشه بهار به ترتیب $0/61 \pm 0/06$ ، $0/57 \pm 0/07$ و $0/55 \pm 0/06$ گزارش گردید، این یافته‌ها نشان داد که اثر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا و کرچک به‌طور معنی‌داری سبب افزایش میزان تکثیر و رشد سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل (بعد از ۲۴ ساعت: $0/34 \pm 0/01$ و بعد از ۴۸ ساعت $0/45 \pm 0/06$) می‌شود ($P < 0/05$) اثر عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا بر تکثیر سلول‌ها نیز به‌طور معنی‌داری بیشتر از عصاره هیدروالکلی کرچک می‌باشد ($P < 0/05$).

بر کاهش عرض خراش بیشتر از عصاره‌های کرچک و همیشه بهار بود.

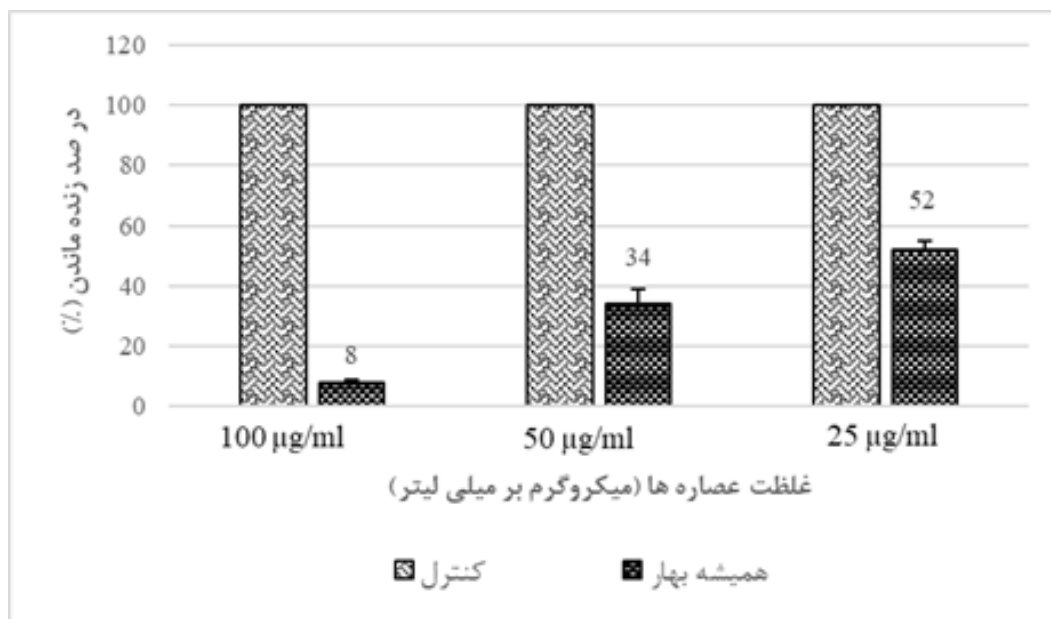
مقایسه با گروه کنترل ($35/98 \pm 3/45$) کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0/05$). همچنین نتایج نشان داد تأثیر آلوئه ورا



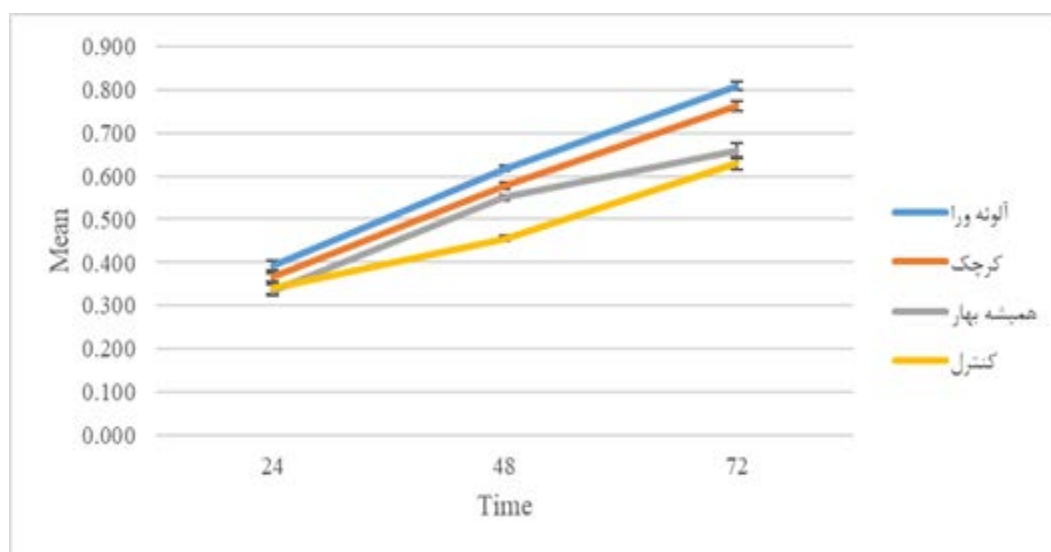
نمودار ۱: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه آلوئه ورا بر زنده ماندن سلول‌ها ($p < 0.05$) با استفاده از روش MTT. اندازه گیری ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش گردید.



نمودار ۲: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه کرچک بر زنده ماندن سلول‌ها ($p < 0.05$) با استفاده از روش MTT. اندازه‌گیری‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش گردید.



نمودار ۳: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی گل همیشه بهار بر زنده ماندن سلول‌ها ($p < 0.05$) با استفاده از روش MTT. اندازه‌گیری‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش گردید



نمودار ۴: مقایسه‌ی اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان آلونه ورا، کرچک و همیشه بهار بر تکثیر سلول‌های L929 بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از روش MTT؛ مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می‌باشد ($p < 0.05$).

بحث

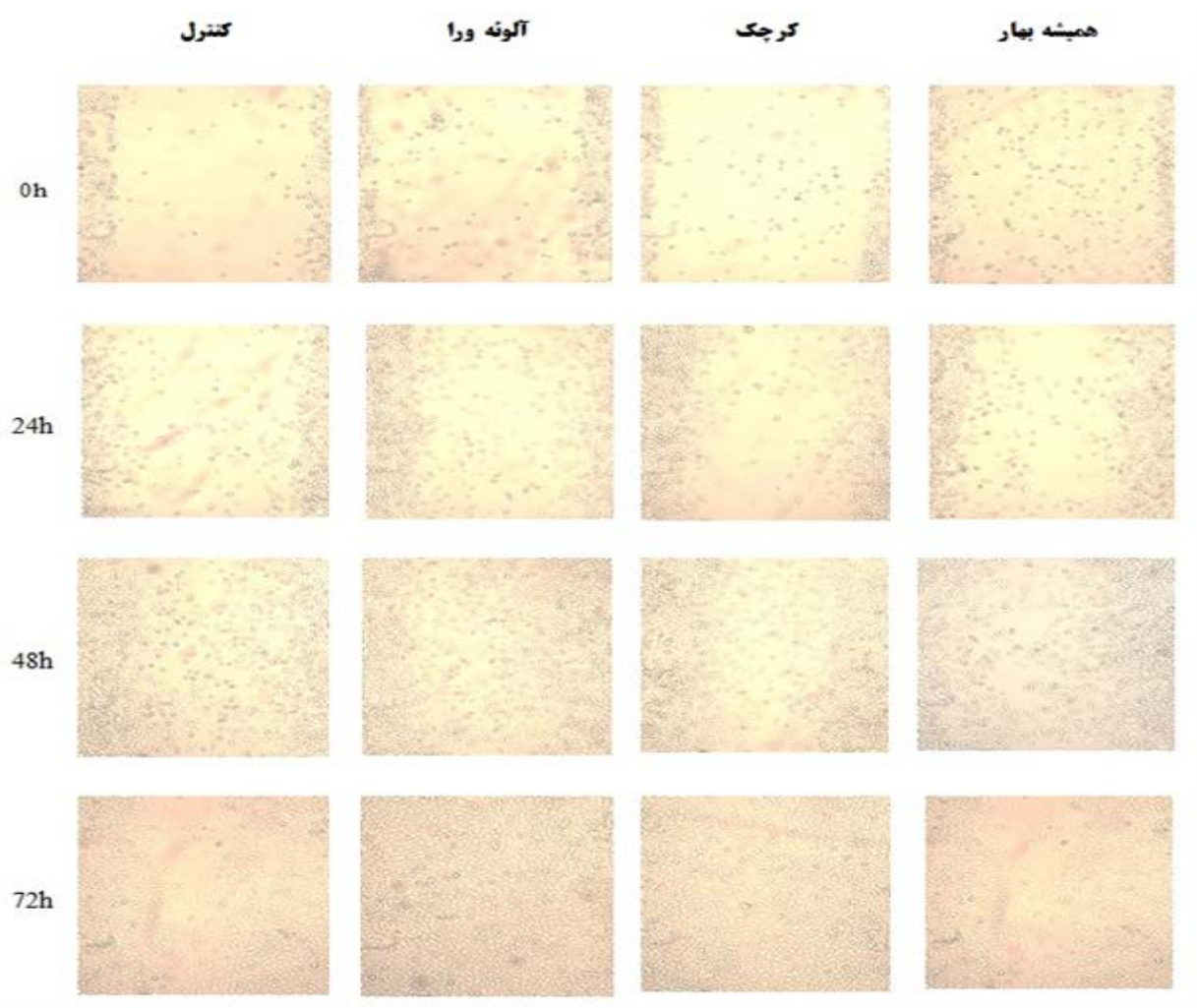
مختلف سلولی به‌ویژه فاکتورهای رشد و بسیاری از سیتوکین‌ها وارد عمل می‌شوند (۱۸). با توجه به اهمیت این موضوع و این‌که عدم درمان مناسب و به‌موقع زخم‌های باز پوستی ممکن است، به عفونت‌های موضعی، ایجاد چسبندگی وحتى سرطان منجر شود و از سوی دیگر داروهای شیمیایی موجود در بازار علاوه بر عدم اثربخشی مناسب، می‌توانند

در این مطالعه تلاش گردید تا اثر عصاره‌های هیدروالکلی گیاه آلونه ورا، کرچک و همیشه بهار را بر تکثیر و رشد سلول‌های L929 مورد ارزیابی قرار گیرد و تأثیر این گیاهان بر روند بهبود زخم و ایجاد خراش در سطح سلول‌های L929 مورد بررسی قرار گیرد. روند ترمیم زخم یکی از پیچیده‌ترین فرآیندهای فیزیولوژیک بوده که طی آن سلول‌ها و ترشحات

۲۰۰۹ توسط Manoj و همکاران انجام گرفت و در این مطالعه به بررسی اثر ژرم پلاسماهای آلوئه ورا بر روی رشد و تکثیر سلول های L929 پرداختند و میزان بهبود زخم ها را با استفاده از آزمون خراش مورد مطالعه قرار دادند. آن ها گزارش کردند که ژرم پلاسماهای گیاه آلوئه ورا قادر به ترویج تکثیر سلولی به صورت وابسته به دوز بودند و سلول های تیمار شده با آلوئه ورا مهاجرت بهتری در قسمت خراش ایجاد شده داشتند (۲۰). این مطالعه نتایج مطالعه ما را تأیید می کند.

سبب ایجاد عوارض جانبی شوند، لذا به نظر می رسد روی آوردن به طب سنتی در جوامع بشری بیش از پیش رواج یافته است (۱۹).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره های آلوئه ورا، گل همیشه بهار و کرچک تأثیر خوبی بر رشد و تکثیر سلول های رده L929 داشت اما تأثیر عصاره آلوئه ورا بیشتر بود. علاوه بر آن اندازه خراش ایجاد شده در سطح سلول های تیمار شده با عصاره ها کمتر شد و این کاهش اندازه برای گروه دریافت کننده آلوئه ورا بیشتر و محسوس تر گزارش گردید. مطالعه ای در سال



شکل ۱: مقایسه ای اثر عصاره های هیدروالکی گیاهان آلوئه ورا، کرچک و همیشه بهار با استفاده از روش بررسی بهبود زخم، در خراش ایجاد شده در پلیت سلول های L929 کشت داده شده، بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

دو گروه ۳۲ نفره تقسیم کردند. یک گروه تحت درمان با ژل آلوئه ورا قرار گرفتند. گروه دوم که گروه شاهد بود تحت

مطالعه ای توسط ملک حسینی در سال ۲۰۱۳ بر روی ۶۴ نفر بیمار با زخم سوختگی درجه ۲ انجام دادند. آن ها ۶۴ نفر را در

می‌توان نتیجه گرفت که گیاه کرچک به دلیل داشتن ریسینولئیک اسید می‌تواند باعث بهبود زخم گردد (۲۳).

داوری و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۸ اثر گیاهان گل اشرفی (گل همیشه بهار)، صبرزد (آلوئه ورا) و کرچک را بر روند التیام زخم‌های پوستی درموش صحرایی نر بالغ مورد بررسی و مطالعه قراردادند. در مطالعه آن‌ها زخم‌های ایجاد شده در گروه‌های مختلف تحت درمان عصاره‌های مختلف قرار گرفتند و بعد از ۲۱ روز نمونه‌های بافتی تهیه شده مورد بررسی قرار گرفتند. آن‌ها گزارش کردند که ژل آلوئه‌ورا حاوی ترکیباتی مانند گلیکوپروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و اسید سالیسیلیک است. گلیکوپروتئین‌ها با کاهش التهاب و درد، روند بهبود زخم را تسریع می‌کنند. پلی‌ساکاریدها نیز با تحریک رشد و ترمیم پوست، به بازسازی بافت‌های آسیب‌دیده کمک می‌کنند. اسید سالیسیلیک موجود در ژل آلوئه‌ورا دارای خواص ضد باکتریایی است که از عفونت زخم جلوگیری می‌کند؛ بنابراین می‌تواند بهبود زخم‌های پوستی را تسریع کند.

گل همیشه بهار حاوی ترکیباتی مانند کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها و گلیکوزیدهای تری‌ترپنی هستند. این ترکیبات دارای خواص ضدالتهابی و ضد میکروبی بوده و می‌توانند به کاهش التهاب و جلوگیری از عفونت در محل زخم کمک کنند. روغن کرچک حاوی ترکیباتی مانند استروئیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و آلکالوئیدها است. این ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد درد، ضدالتهاب و ضد میکروبی هستند.

نتایج آن‌ها نشان داد که اندازه زخم ایجاد شده در موش‌های درمان شده با عصاره‌های گل اشرفی، صبرزد و کرچک نسبت به گروه کنترل کوچک‌تر شد و کاهش اندازه زخم در گروه دریافت‌کننده کرچک از بقیه گروه‌ها بیشتر بود. در مطالعه ما نیز اثر کرچک بر روی اندازه خراش ایجاد شده در سطح سلول‌ها بهتر از اثر گل همیشه بهار بود بنابراین این نتیجه بامطالعه ما همسو بود اما اینکه در مطالعه حاضر اثر عصاره کرچک را بر بهبود زخم بیشتر از آلوئه ورا گزارش کرده‌اند با نتایج مطالعه ما همسو نیست (۲۴).

درمان با کرم سیلور سولفادیازین ۱ درصد قرار گرفتند. نتایج حاصله نشان داد اندازه زخم با گذشت زمان کاهش می‌یابد اما کاهش اندازه زخم برای گروه دریافت‌کننده ژل آلوئه ورا بیشتر بود. در این مطالعه گزارش شد که ژل آلوئه ورا موجب تسریع در بهبودی زخم سوختگی درجه ۲ می‌شود (۲۱).

نجفی و همکاران در سال ۲۰۱۴ طی مطالعه‌ای که بر روی گیاه آلوئه ورا انجام دادند، اثر ژل آلوئه ورا را بر برخی جنبه‌های مولکولی فرایند بهبود زخم بر روی پوست موش‌های سوری را مورد بررسی قراردادند. در این مطالعه موش‌ها به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول هیچ زخمی بر روی پوستشان ایجاد نشد. در گروه دوم زخم‌ها با سرم فیزیولوژی شستشو شدند و گروه سوم عصاره ژل آلوئه ورا را دریافت کردند. آن‌ها نشان دادند که عصاره ژل آلوئه ورا سبب افزایش بیان ژن رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی (EGF) در پوست‌های زخم دار موش‌های دریافت‌کننده ژل آلوئه ورا گردید. ژل آلوئه ورا با القاء بیان ژن عامل رشد و نیز کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها می‌تواند نقش محوری در پروسه ترمیم زخم‌های برشی داشته باشند. این مقاله با مطالعات انجام شده این تحقیق هم سو هست (۱۵).

یک مطالعه مروری توسط Choi و همکارانش در سال ۲۰۰۳ انجام گرفت که در آن به بررسی ارتباط بین ترکیبات گیاه آلوئه ورا و اثرات بیولوژیکی آن پرداختند. در این مطالعه نشان داده شد که گیاه آلوئه ورا دارای ترکیباتی مانند گلیکوپروتئین و ساکاریدها می‌باشد که گلیکوپروتئین‌ها می‌توانند تکثیر سلولی را القا کنند و باعث افزایش رشد و تکثیر سلول‌ها گردند و از طرفی ساکاریدها نیز می‌توانند باعث افزایش توانایی سیستم ایمنی گردند که هر دو این ترکیبات می‌توانند باعث بهبود زخم گردند (۲۲).

مطالعه ای توسط Nada و همکارانش در سال ۲۰۱۵ انجام گفت که در آن اثر ریسینولئیک اسید که از گیاه کرچک استخراج شده بود را بر روی زخم مورد بررسی قراردادند و گزارش کردند این ماده به دلیل داشتن خواص آنتی باکتریال و ترمیم کنندگی تأثیر خوبی بر ترمیم زخم‌های ایجاد شده داشت، بنابراین

طور معنی‌داری باعث بهبود خراش در سلول‌ها شده و در نتیجه بهبود زخم را تسریع می‌نماید.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد بیوشیمی با کد اخلاق (IR.THUMS.REC.1402.005) در دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه هست. بدین‌وسیله از آزمایشگاه جامع تحقیقات که در این طرح همکاری داشتند سپاسگزاری می‌شود.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

مشارکت نویسندگان

(۱) مفهوم‌پردازی و طراحی مطالعه، یا جمع‌آوری داده‌ها، یا تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها: محمدعلی فهمیده کار، داود ایل بیگی، ملیحه حسینی صومعه‌گی، محمد اسماعیل احمدیار، حسن فاضلی نژاد

(۲) تهیه پیش‌نویس مقاله یا بازبینی آن جهت تدوین محتوای اندیشمندانه: مها مسعودی، راهله رهباریان

(۳) تأیید نهایی دست‌نوشته پیش از ارسال به مجله: راهله رهباریان، داود ایل بیگی، محمدعلی فهمیده کار

ژل گیاه آلوئه ورا حاوی مواد ضدالتهابی مانند اسید سالیسیلیک و مهارکننده‌های ترومبوکسان است که از انقباض عروقی ممانعت به عمل می‌آورد. این موارد نشان می‌دهد که ژل آلوئه ورا خاصیت ضدالتهابی و افزایش کارایی سیستم ایمنی را دارد. ژل آلوئه ورا با تأثیر بر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت با اثرات ضدویروسی یا اثر غیرمستقیم آنتی باکتریال، باعث تسریع بهبودی زخم می‌شود (۲۵).

مطالعه‌ی حاضر باهدف مقایسه عصاره هیدروالکی سه گیاه دارویی آلوئه ورا، کرچک و گل همیشه بهار بر روی بهبود زخم در رده سلولی L929 صورت گرفت. بیشتر مطالعات روی خواص متفاوت و اثرات مختلف این سه گیاه انجام شده است؛ اما هیچ‌یکی از مطالعات موجود به بررسی مقایسه اثر سه گیاه دارویی آلوئه ورا، کرچک و گل همیشه بهار بر روی بهبود زخم در سطح سلولی نپرداخته بودند. این درحالی است، که طبق نتایج پژوهش حاضر خواص بهبود زخم ایجادشده در رده سلولی L929 از هر سه گیاه دارویی آلوئه ورا، کرچک و گل همیشه بهار مقایسه گردید.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه تأثیر عصاره‌های مختلف بر رشد سلول‌های رده L929 موردبررسی قرار گرفت و با توجه به پتانسیل بالای آلوئه ورا در بهبود خراش ایجاد شده در سلول های رده L929، می‌توان نتیجه گرفت که گیاه آلوئه ورا قادر است، پیشرفت بهبود زخم را نسبت با گیاه کرچک و همیشه بهار، بیشتر تسریع نماید. هرچند گیاه کرچک نیز نسبت به همیشه بهار و کنترل به

References

1. Bolla SR, Al-Subaie AM, Al-Jindan RY, Balakrishna JP, Ravi PK, Veeraraghavan VP, et al. In vitro wound healing potency of methanolic leaf extract of *Aristolochia saccata* is possibly mediated by its stimulatory effect on collagen-1 expression. *Heliyon*. 2019; 5(5):e01648.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01648>
2. GHaderi R AM. Recent advances in wound healing management. *Journal scientific Birjand University of medical sciences*. 2014; 21(1):1-19.
URL: <http://journal.bums.ac.ir/article-1-1561-en.html>
3. Bainbridge P. Wound healing and the role of fibroblasts. *Journal of wound care*. 2013; 22(8).
<https://doi.org/10.12968/jowc.2013.22.8.407>
4. Martin P Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*. 1997; 276(5309):75-81.
<https://doi.org/10.1126/science.276.5309.75>
5. George Broughton I, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plastic and reconstructive surgery*. 2006; 117(7S):1e-S-32e-S.
<https://doi.org/10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9>
6. Evans RA, Tian YC, Steadman R, Phillips AO. TGF- β 1-mediated fibroblast-myofibroblast terminal differentiation—the role of smad proteins. *Experimental cell research*. 2003; 282(2):90-100.
[https://doi.org/10.1016/S0014-4827\(02\)00015-0](https://doi.org/10.1016/S0014-4827(02)00015-0)
7. Helary C, Ovtracht L, Coulomb B, Godeau G, Giraud-Guille MM. Dense fibrillar collagen matrices: a model to study myofibroblast behaviour during wound healing. *Biomaterials*. 2006; 27(25):4443-52.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.04.005>
8. Prendecka M, Mlak R, Jaszek M, Osinska-Jaroszuk M, Jakubiak-Hulicz M, Leibold C, et al. Effect of exopolysaccharide from *Ganoderma applanatum* on the electrical properties of mouse fibroblast cells line L929 culture using an electric cell-substrate impedance sensing (ECIS)-Preliminary study. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2016; 23(2).
<https://doi.org/10.5604/12321966.1203891>
9. Stojkovic R, Ivankovic S, Ivankovic D, Attias L, Mantovani A, Fucic A. Testosterone-induced micronuclei and increased nuclear division rate in L929 cell line expressing the androgen receptor. *Toxicology in Vitro*. 2015; 29(5):1021-5.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.04.007>
10. Asghari B, aminian, Ruqiya. Investiga the metabolic content of Different marigold extracts. the first international conference on modern technologies in science; Amol. 2017.
<https://civilica.com/doc/673338>
11. Givol O, Kornhaber R, Visentin D, Cleary M, Haik J, Harats M. A systematic review of *Calendula officinalis* extract for wound healing. *Wound Repair and Regeneration*. 2019; 27(5):548-61.
<https://doi.org/10.1111/wrr.12737>
12. Nitbani FO, Tjitda PJP, Wogo HE, Detha AIR. Preparation of Ricinoleic Acid from Castor Oil: A Review. *Journal of Oleo Science*. 2022; 71(6):781-93.
<https://doi.org/10.5650/jos.ess21226>
13. Hosseini k, Khalil. Investiga ting the chemical and medicinal compounds in the yellow patience plant *Aloe vera*. 2010.
14. Joseph B, Raj SJ. Pharmacognostic and phytochemical properties of *Aloe vera* linn an overview. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2010; 4(2):106-10.
15. Najafi N, Arabi M, Jafarzadeh H. Inducing effect of aloe vera gel extract on epithelial growth factor receptor gene expression in cutaneous wounds of male mice Balb/c. 2014;5(1): 53-16
<https://doi.org/10.52547/JCT.5.1.53>
16. Spector DL, Goldman RD, Leinwand LA. *Cells: a laboratory manual*: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1998.
17. Zare M, Ebrahimi Vosta Kalae S, Aezi H. Analysis the Cytotoxicity Effects of Hydroalcoholic Extract of *Danae Racemosa* Plant on Mouse Breast Cancer Cells (4T1) by MTT. *Knowledge and Health*. 2020; 15(1):49-57.
<https://10.22100/jkh.v15i1.2364>
18. Najafi N, Arabi M, Jafarzadeh H. The healing power of *Aloe vera* mucilage: induction of insulin-

like growth factor gene expression and regeneration tissue in mouse damaged skin. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences. 2014; 16(2).

19. Alahtavakoli M, Vazirinejad R, Ansari Jaber A, Negahban T, Mashayekhi H, Nazari M, et al. Effect of Teucrium polium extract on skin wound healing in rat. Hormozgan Medical Journal. 2012; 16(1):17-24.

20. Manoj K, Mishra D, Maity TK, Gupta SD. Screening wound-healing potential of different Aloe vera L. germplasms at the cellular level. Med Aromat Plant Sci Biotechnol. 2009; 3(1):62-4.

21. malekhosseini A, Ghaffar zadegan R, Alizadeh SA, GR, Reza, Haji Agaei R, Ahmadlou M. Effect of aloe vera gel, compared to 1% silver sulfadiazine cream on second-degree burn wound healing. Complementary Medicine Journal. 2013; 3(1):418-28.

22. Choi S, Chung M-H. A review on the relationship between aloe vera components and their

biologic effects. Seminars in Integrative Medicine. 2003; 1(1):53-62.

[https://doi.org/10.1016/S1543-1150\(03\)00005-X](https://doi.org/10.1016/S1543-1150(03)00005-X)

23. Nada AA, Hassabo AG, Fayad W, Awad HM, Sleem AA, Shaffie NM, et al. Biomaterials based on essential fatty acids and carbohydrates for chronic wounds. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2015; 5(3):013-21.

<https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.510.S3>

24. Davari S, Hajinezhad M, Samadi K, Eftekhari S. The effect of calendula, aloe and castor on cutaneous wounds healing process in mature male rat. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2018; 17(2):93-104.

25. Lawrence R, Tripathi P, Jeyakumar E. Isolation, purification and evaluation of antibacterial agents from Aloe vera. Brazilian Journal of Microbiology. 2009; 40:906-15.

<https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000400023>