



تهیه هیدروژل های آلژیناتی درجا تشکیل شونده حاوی کورکومین کپسوله شده در ساختارهای حفره دار سدیم پاراسولفونات کلیکس [۴]آرن و سیکلودکسترین به منظور ترمیم زخم های پوستی عباس محمدی*، مهیار صحابی^۱

* اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده شیمی، گروه شیمی آلی و پلیمر، صندوق پستی ۸۱۷۴۶۷۳۴۴۱

چکیده

تسریع فرایند ترمیم زخم همواره از دغدغه های اصلی جوامع علوم پزشکی بوده است که با ورود زخم پوش ها به این عرصه، ترمیم زخم های پوستی نسبت به روش های سنتی نظیر بانداژ کردن پیشرفت چشم گیری داشته است. با ورود داروها به عنوان یک ماده موثره جهت ترمیم هرچه بهتر و کم عارضه تر یک زخم، تحول گسترده ایی در صنعت زخم پوش ها به وجود آمد. در این پژوهش، هیدروژل های آلژیناتی زیست سازگار که حاوی کورکومین بارگذاری شده در حامل های حفره دار ۲- هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین (HP β CD) و سدیم پاراسولفونات کلیکس [۴]آرن (SC4A) بوده سنتز شدند. به منظور اثبات بارگذاری صحیح کورکومین در حامل های دارویی، آزمون های FT-IR، XRD، TGA، DL، FE-SEM به کار گرفته شد که نتایج حاصل از آزمون های مذکور نشان داد که بارگذاری دارو در حامل به طور صحیح انجام شده است. در مرحله بعد کمپلکس دربرگیری حامل-دارو، در ژل آلژیناتی بارگذاری شده و از آزمون RMS به منظور بررسی استحکام ژل سنتز شده استفاده گردید. به کمک آزمون UV-VIS رهایش دارو از زخم پوش های HP β CD-Cur/Alg و SC4A-Cur/Alg سنتز شده بررسی شد که رهایش مطلوبی را نشان داد.

کلید واژگان: هیدروژل های درجا تشکیل شونده، درشت مولکول های چند حفره ایی، کلیکس آرن، سیکلودکسترین، کورکومین

۱- مقدمه

زخم به عنوان یک بریدگی یا شکاف در بافت پوششی تعریف می شود که یکپارچگی آن را از بین می برد. این شکاف می تواند عمیق تر باشد و قسمت های زیرین بافت پوششی نظیر پوست حقیقی^۱، نیام^۲ و ماهیچه^۳ را نیز درگیر کند. زخم ها در چهار گروه اصلی قرار می گیرند: زخم حاد^۴، زخم مزمن^۵، زخم باز^۶ و زخم بسته^۷. زخم پوش های تهیه شده در این پژوهش برای ترمیم زخم های رو باز و زخم های حاد کاربرد دارند. خون ایستی اولین مرحله از ترمیم زخم است که با قطع خونریزی شروع می شود. وقتی قسمتی از بدن، خونریزی می کند، اولین مرحله، مرحله ی خون ایستی و انقباض عروق خونی است که باعث کاهش خونریزی می شود سپس پلاکت ها برای پوشاندن دیواره ی عروقی آسیب دیده به هم می چسبند و انعقاد خون رخ می دهد. انتخاب یک زخم پوش مناسب به چند عامل بستگی دارد که عبارتند از نوع

¹ Dermis
² Fascia
³ Muscle
⁴ Acute wound
⁵ Chronic wound
⁶ Open wound
⁷ Close wound



زخم، وجود عفونت، اندازه زخم و ... یک زخم پوش ایده آل بایستی فاکتورهای لازم از قبیل خون ایستی مناسب، عدم سمیت و عدم ایجاد حساسیت بر روی پوست را داشته باشد. عملکرد اصلی پانسمان‌ها، محافظت از زخم در برابر عفونت و کم آبی بدن می‌باشد در صورتی که استفاده از دارو در یک زخم پوش می‌تواند ظرفیت‌های آن زخم پوش را بالا ببرد چرا که باعث کنترل عفونت ایجاد شده در زخم می‌شود و زمان ترمیم زخم را نیز کاهش می‌دهد. ترمیم زخم‌هایی که با عفونت‌های باکتریایی بر روی آنها ایجاد شده است، به شدت مشکل می‌باشد و پزشکان به ناچار مجبور هستند که از درمان های آنتی بیوتیکی نظیر کارباپنم‌ها^۱ استفاده کنند که بعضا منجر به سمیت‌های کلیوی^۲ در بدن هم می‌شود. یکی از داروهای غیر آنتی بیوتیکی و ضد باکتریایی که امروزه کاربرد زیادی در ترمیم زخم دارد، داروی کورکومین می‌باشد. کورکومین به عنوان یک ترکیب فنولی که دارای خاصیت ضد باکتریایی است کاربرد زیادی در درمان عفونت باکتریایی و بیماری‌های سرطانی از خود نشان می‌دهد. کورکومین یک ماده آنتی‌اکسیدانی^۳ و ضد باکتریایی^۴ قوی محسوب می‌شود، اما بزرگترین و مهم‌ترین مشکل کورکومین آگریزی^۵ این ماده می‌باشد که اگر در زمینه دارورسانی به صورت خوراکی استفاده شود و یا اینکه به صورت عادی در زخم‌پوش‌ها به کار گرفته شود، کمترین کارایی را در محیط آبی بدن از خود نشان می‌دهد و با درصد بالایی از بدن دفع می‌شود. اخیرا از کورکومین در بید های آلژیناتی استفاده شده است که منجر به تسریع ترمیم زخم شده است [۲].

در این پژوهش به منظور پخش پذیری بهتر کورکومین و همچنین افزایش ظرفیت بارگذاری دارو از حامل های حفره دار HPβCD و SC4A استفاده گشت. حامل های حفره دار نسبت به سایر حامل های دارویی نظیر نانوذرات، لیپوزوم ها و ... ظرفیت بارگذاری دارو را افزایش می دهند.

۲- بخش تجربی

۲-۱- تهیه حامل حفره دار HPβCD و SC4A

حامل HPβCD از شرکت Sigma-Aldrich تهیه شد. حامل SC4A به صورت سنتزی به صورت زیر تهیه گشت:

۴۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد به بالن سه دهانه ۱۰۰ میلی لیتری مجهز به کندانسور، دمش نیترژن و همزن مغناطیسی اضافه گردید. سپس ۲ گرم (۰/۰۳ مول) ماکروسیکل پارا ترشو بوتیل کلیکس [۴] آرن به آرامی به اسید سولفوریک اضافه گردید و اجازه داده شد واکنش به مدت ۵ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد انجام شود تا محلولی به رنگ قهوه‌ای سوخته حاصل شود. محلول حاصل با قیف سیلیسی صاف گردید و سپس به محلول زیر صافی ۳۰۰ میلی لیتر محلول NaCl اشباع اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه تحت همزن مغناطیسی در آب سرد هم خورد. سپس مخلوط نهایی سانتریفیوژ گردید و دو مرتبه با ۱۰ میلی لیتر متانول شست و شو داده شد و مجدد سانتریفیوژ گردید. رسوب کرمی رنگ به دست آمده به مدت ۶ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد در آون خلاء قرار داده شد. [۳].

¹ Toxicity

² Carbapenem

³ Renal toxicity

³Antioxidants

³Antibacterial

³Hydrophobicity

⁴Antioxidants

⁵Antibacterial

⁶Hydrophobicity



۲-۲ بارگذاری کورکومین در حامل

شیوه بارگذاری کورکومین در هر یک از حامل‌ها یکسان است. ۸۵ میلی‌گرم حامل و ۱۵ میلی‌گرم کورکومین (۰/۰۴ میلی مول) توزین شده و در یک شیشه پنی سیلین بزرگ ریخته شد و به آن ۱۰ میلی‌لیتر استون و همچنین ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شده و این سیستم در محیط کاملاً تاریک بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت و اجازه داده شد به مدت ۴۸ ساعت محلول دارو و حامل کاملاً هم زده شود تا فرایند بارگذاری دارو به طور بهینه انجام گیرد. پس از مدت ۴۸ ساعت شیشه پنی سیلین را از محیط تاریک خارج کرده و جهت تبخیر حلال موجود در سیستم (آب و استون) از دستگاه تبخیر کننده چرخان استفاده شد و با استفاده از این دستگاه کل حلال موجود در سیستم خارج گردید و در نهایت پودرهای زرد رنگی که به دیواره بالن چسبیده بود حاصل شد [۴].

۲-۳ تهیه ژل های آلژیناتی حاوی کمپلکس های دربرگیری

۴ میلی‌گرم پودر کمپلکس های دربرگیری حامل-دارو توسط ترازوی دیجیتال توزین شده و به یک شیشه پنی سیلین حاوی ۴ میلی‌لیتر محلول آلژیناتی ۰.۲٪ اضافه گردید و اجازه داده شد که این مخلوط به مدت ۲۴ ساعت به هم بخورد. پس از این مدت زمان محتویات شیشه پنی سیلین در قالب تفلونی از قبل آماده شده ریخته شد و ۵/۰ میلی‌لیتر محلول کلسیم سولفات آماده شده به عنوان عامل اتصال دهنده عرضی توسط نمونه بردار به آن اضافه شد. سپس توسط همزن شیشه‌ای به مدت دو دقیقه هم زده شد. در نهایت ژل های بدست آمده به منظور نگهداری تا قبل از آزمون ها در یخچال نگهداری شد. [۴]

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی حامل حفره دار HPβCD و SC4A

شناسایی این حامل ها با استفاده از دو آزمون FT-IR و HNMR در هر دو مرحله از سنتز این حامل ها انجام گرفت و سنتز آنها به تایید رسید.

۳-۲- تشکیل کمپلکس دربرگیری حامل-دارو

به منظور بررسی بارگذاری صحیح دارو در حامل های مذکور از آزمون های FT-IR, XRD, FE-SEM, DLS, تعیین پتانسیل زتا و آزمون TGA استفاده شد. آزمون FT-IR با جایابی شدت پیک ها، آزمون XRD و SEM با کاهش شدت پیک های بلورین، آزمون DLS و پتانسیل زتا به ترتیب با افزایش اندازه و کاهش بار کمپلکس دربرگیری و همچنین آزمون TGA با به تاخیر انداختن تخریب حرارتی کمپلکس دربرگیری نشان دادند که بارگذاری دارو در حامل به بهترین وجه انجام گرفته است.

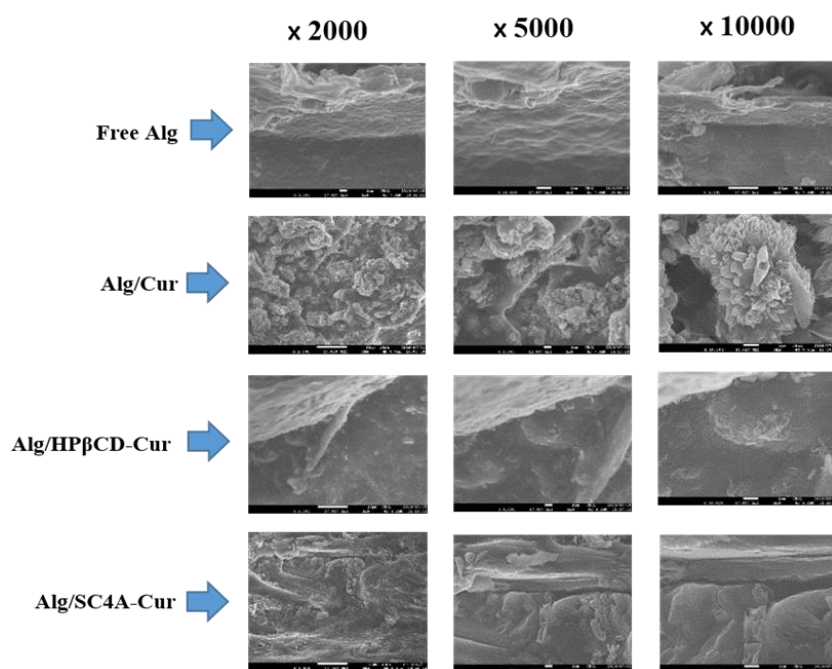
تصاویر FE-SEM چهار نمونه ژل آلژیناتی Alg/HPβCD-Cur, Alg/SC4A-Cur, Alg/Cur و Free Alg در شکل ۱ ارائه شده است. همانطور که در تصاویر مشخص است بلورینگی و پخش دانه های کورکومین در تصاویر مربوط به ژل های دارای کورکومین بارگذاری شده در حامل به مراتب بهتر از تصاویر دو نمونه ژل دیگر می باشد.

۳-۳- بررسی سنتز ژل های آلژیناتی حاوی کمپلکس دربرگیری

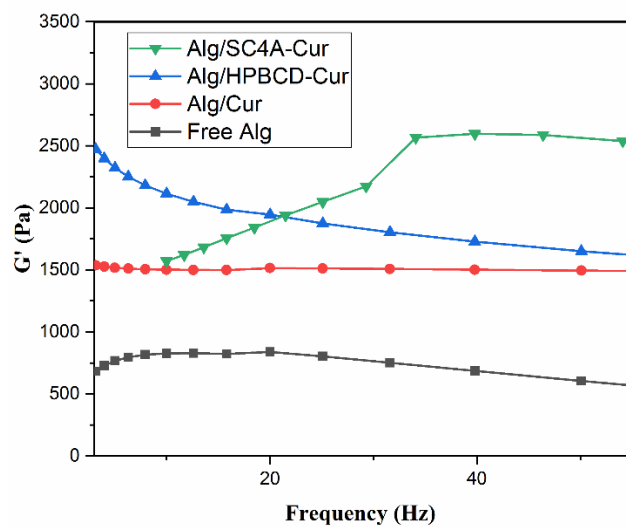
به منظور بررسی استحکام ژل های آلژیناتی تهیه شده از آزمون RMS استفاده شد. نتایج این آزمون (شکل ۲ و ۳) نشان داد که ژل های مذکور در شرایط فرکانسی، دمایی و زمانی مختلف دارای استحکام مناسبی بوده و استحکام خود را از دست نمی دهد. [۵]

۳-۴- بررسی رهایش دارو از شبکه ژل

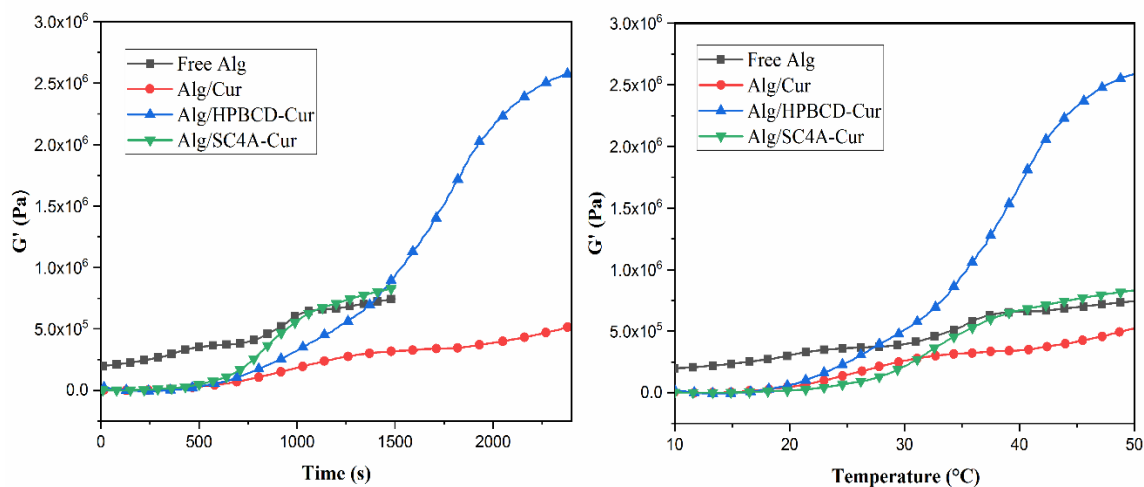
نتایج حاصل از آزمون UV-Vis نشان داد که طی مدت ۷۲ ساعت، ۸۰٪ دارو از شبکه ژل با سینتیک مرتبه غیر صفر خارج شده است بدین معنا که رهایش دارو به صورت انفجاری بوده و بیشترین مقدار کورکومین را به عنوان یک داروی آنتی باکتریال بر روی زخم، رها می کند.



شکل ۱- تصاویر SEM ژل آلژینات، آلژینات-کورکومین و کورکومین بارگذاری شده در حامل های حفره دار



شکل ۲- آزمون جاروب فرکانسی چهار نمونه ژل سنتز شده



شکل ۳- آزمون جاروب دمایی و جاروب زمانی چهار نمونه ژل سنتز شده

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش هیدروژل های آلژیناتی حاوی کورکومین بارگذاری شده در حامل های ۲-هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین و سدیم پارا سولفونات کلیکس [۴]آرن به همراه یک نمونه هیدروژل حاوی کورکومین بدون حامل و همچنین یک نمونه هیدروژل بدون حامل و دارو به عنوان نمونه کنترل تهیه شد و هدف اصلی حل مشکل آگریزی داروی کورکومین در بدن بود که پس از تهیه زخم پوش ها خواص فیزیکی، شیمیایی، مکانیکی و زیستی آن ها با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که حامل HP β CD بهترین حامل برای داروی کورکومین می باشد، چرا که وقتی کورکومین در این حامل بارگذاری شد و کمپلکس پودری HP β CD-Cur بدست آمد، این کمپلکس نسبت به کمپلکس پودری SC4A-Cur از انحلال پذیری بهتری در آب برخوردار بود. این ادعا با توجه به آزمون های DLS, XRD, FT-IR, Zeta potential به اثبات رسید. در مرحله بعد هم که کمپلکس های حامل-دارو در ژل آلژیناتی بارگذاری شدند، سیستم های Alg/HP β CD-Cur و Alg/SC4A-Cur هر دو استحکام بهتری نسبت به Alg/Cur از خود نشان دادند که این موضوع از طریق آزمون RMS به اثبات رسید. از طریق آزمون FE-SEM پخش و یکنواختی مناسب دارو در زخم پوش Alg/HP β CD-Cur و Alg/SC4A-Cur نشان داده شد. رهایش دارو یکی از مهم ترین و حیاتی ترین ارزیابی ها برای یک سامانه دارو رسان محسوب می شود. این ارزیابی توسط آزمون UV-Visible انجام گرفت که رهایش مطلوبی را طی مدت ۷۲ ساعت نشان داد.

مراجع

- [1] Weller, C. (2009). Advanced Textiles for Wound Care.
- [2] Xu, W., Huang, L., Jin, W., Ge, P., Shah, B. R., Zhu, D., & Jing, J. (2019). Encapsulation and release behavior of curcumin based on nanoemulsions-filled alginate hydrogel beads. *International journal of biological macromolecules*, 134, 210-215.
- [3] Shinkai, S.; Araki, K.; Tsubaki, T.; Arimura, T.; Manabe, O. New syntheses of calixarene-p-sulphonates and p-nitrocalixarenes. *J. Chem. Soc. Perkin*, 1987, 1, 2297-2299.
- [4] Gou, M., Men, K., Shi, H., Xiang, M., Zhang, J., Song, J., ... & Qian, Z. (2011). Curcumin-loaded biodegradable polymeric micelles for colon cancer therapy in vitro and in vivo. *Nanoscale*, 3(4), 1558-1567.
- [5] Rezende, R. A., Bártolo, P. J., Mendes, A., & Filho, R. M. (2009). Rheological behavior of alginate solutions for biomanufacturing. *Journal of applied polymer science*, 113(6), 3866-3871.