Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018

ORIGINAL ARTICLE

Preparation, Characterization and Analgesic Evaluation of a Novel Physical Hydrogel Composed of Opened-ring poly (Vinyl Pyrrolidone) and Chitosan Containing Ostrich Oil in Mice

Nematollah Ahangar[1],
Masoud Ghadami Razdari[2],
Pedram Ebrahimnejad[3,4]

[1] Associate Professor, Department of Toxicology/Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Doctor of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 9, 2017 ; Accepted August 18, 2018)

Abstract

Background and purpose: Hydrogels are used as carriers to control drug release. Ostrich oil has fatty acids which plays an important role in growth, division, and health of cells and cause wound healing and have anti-inflammatory effects.

Materials and methods: In this experimental study, pH sensitive hydrogel was produced by chitosan deviation and open ring Poly-vinyl pyrrolidon (OR-PVP). The physicochemical characteristics of ostrich oil hydrogel was studied and its analgesic effect on mice was investigated by hot plate and formalin test.

Results: Compared with other formulations, formulations containing chitosan with high molecular weight showed better results. The ratio of OR-PVP to high molecular chitosan was 0.4 for the best formulation. All formulations with 30% ostrich oil were found to have good analgesic effects.

Conclusion: This study showed that ostrich oil hydrogel could reduce inflammation and central pain.

Keywords: hydrogel, ostrich oil, formalin test

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (165): 1-12 (Persian).

* **Corresponding Author: Pedram Ebrahimnejad -** Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: pebrahimnejad@mazums.ac.ir)

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۴۵ مهر سال ۱۳۹۷ (۱۲-۱)

تهیه، بررسی خصوصیات و ارزیابی اثر ضد دردی یک هیدروژل فیزیکی جدید از حلقه باز شده پلی وینیل پیرولیدون و کیتوزان حاوی روغن شترمرغ در موش سوری

نعمت الله آهنگر [۱]
مسعود قدمی رازداری [۲]
پدرام ابراهیم نژاد [۳و۴]

چکیده

سابقه و هدف: از هیدروژل‌ها به عنوان حامل برای کنترل رهش دارو استفاده می‌شود. هیدروژل‌های فیزیکی در مقایسه با نوع شیمیایی دارای ایمنی بیش‌تر و سمیت کم‌تری هستند. روغن شترمرغ دارای اسیدهای چربی است که نقش بسیار مهمی در رشد، تقسیم سلولی و سلامت سلول‌ها دارند و موجب بهبود زخم گشته و خاصیت ضد التهابی نیز دارند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، هیدروژل حاوی روغن شترمرغ حساس به pH به وسیله مشتقات کیتوزان و پلی‌وینیل پیرولیدون با زنجیره باز (OR-PVP) تهیه شد. ویژگی های فیزیکوشیمیایی آن بررسی، و اثر ضد دردی آن بر روی موش‌های سوری با انجام آزمون فرمالین و Hot plate مطالعه گردید.

یافته‌ها: فرمولاسیون‌های حاوی کیتوزان با وزن مولکولی بالا، اثرات بهتری نسبت به سایر فرمولاسیون‌ها داشتند. در بهترین فرمولاسیون نسبت کیتوزان با وزن مولکولی بالا به OR-PVP برابر ۰/۴ بود. همه فرمولاسیون‌های روغن شترمرغ با نسبت ۳۰ درصد دارای اثر ضد دردی مناسبی بودند.

استنتاج: این مطالعه نشان داد که هیدروژل روغن شتر مرغ فرآورده مناسبی برای کاهش دردهای التهابی و مرکزی می‌باشد.

واژه های کلیدی: هیدروژل، روغن شترمرغ، آزمون فرمالین

مقدمه

هیدروژل‌ها شبکه‌های پلیمری سه بعدی هیدروفیل و آبدوست پلیمری می‌باشند که قادرند تا چندین برابر حجم و وزن خود آب و مایعات بیولوژیک را جذب کنند. این شبکه‌ها از هموپلیمرها یا کوپلیمرها تشکیل شده‌اند که به‌دلیل اتصالات کراس سنیک، در آب نامحلول می‌باشند. هیدروژل‌ها سازگاری ترمودینامیکی با آب نشان می‌دهند که به آن‌ها اجازه می‌دهد، در محیط‌های مائی متورم شوند. از هیدروژل‌ها به عنوان حامل برای کنترل رهش داروها در سیستم‌هایی که آزادسازی دارو از آن‌ها تحت کنترل پدیده تورم می‌باشد، استفاده می‌گردد.

مولف مسئول: پدرام ابراهیم نژاد – ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم(ص)، دانشکده داروسازی E-mail:pebrahimnejad@mazums.ac.ir
۱. دانشیار، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دکترای داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. استادیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. استادیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۲/۱۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۷/۲/۱۹ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۵/۲۷

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018

یکی ازسیستم‌های بسیار مورد توجه، پیشرو و پیش‌قدم در سیستم‌های دارورسانی نوین، هیدروژل‌هایی می‌باشند که حساس به محرک‌های محیطی بوده و می‌توانند تحت تاثیر یک محرک خاص مانند یک کلید روشن و خاموش عمل کرده و آزادسازی دارو را تحت کنترل در آورند. این محرک‌های محیطی می‌توانند pH، دما، قدرت یونی، الکتریسیته، مغناطیس، نور و یا تفاوت غلظت یک ترکیب شیمیایی خاص باشند. در تمام این سیستم‌ها، آزادسازی دارو در مکان‌های خاصی از بدن (مانند pH به خصوص دستگاه گوارش یا pH اسیدی‌تر سلول‌های سرطانی) اتفاق می‌افتد(۳-۱).

کیتوزان به عنوان یک پلیمر زیست سازگار و زیست تخریب‌پذیر می‌باشد که کاربردهای فراوانی در صنایع دارویی و غذایی دارد. پلیمر پلی وینیل پیرولیدون (PVP) به‌عنوان یک اکسپیان زیست سازگار بدن، سالیان زیادی است که در فرمولاسیون‌های اشکال دارویی استفاده می‌شود و با این وجود هیدروژل های PVP خواص مکانیکی ضعیفی را نشان می‌دهند. بنابراین برای افزایش خواص مکانیکی هیدروژل‌های PVP، مطالعات زیادی در این زمینه انجام می‌گیرد(۳). هیدروژل‌های کراس لینک شیمیایی زیادی مانند PVP–Chi کراس لینک شده توسط گلوتارآلدئید در سالیان اخیر در مطالعه استفاده می‌شوند، هر چند به دلیل باقیمانده‌های مونومرها و مواد کراس لینک از نظر ایمنی محدودیت‌هایی در استفاده از آن‌ها وجود دارد. در مقابل هیدروژل‌های فیزیکی‌که توسط اتصالات برگشت‌پذیر مثل برهمکنش‌های یونی و یا کمپلکس‌های پلی‌الکترولیت تهیه می‌شوند، توجه زیادی را در مطالعات جدید به خود جلب کرده‌اند(۳). روغن شترمرغ زرد رنگ، حاوی ۷۰ درصد اسید چرب شامل، اسیدهای چرب امگا ۳، امگا ۶، امگا ۹ و سایر اسیدهای چرب ضروری می‌باشد که برای شادابی وحفظ ساختار پوست بسیار موثر است(۴). اسیدهای چرب نقش بسیار مهمی در رشد، تقسیم سلولی و سلامت سلول‌ها دارند. مطالعات نشان می‌دهند که استفاده از اسیدهای چرب ضروری بر روی اثر زخم‌ها موجب افزایش سرعت بهبود آن‌ها می‌گردد. این اسیدهای چرب در روغن شترمرغ به وفور یافت می‌شود. وزن مولکولی این روغن پایین است، بنابراین قدرت و سرعت نفوذ آن در پوست بسیار بالا است(۴). اسیدهای امگا ۳ برای تنظیم فعالیت بدن انسان موادی ضروری هستند ولی در بدن ساخته نمی‌شوند(۴). از چربی زیرپوست یک شترمرغ حدود ۴ الی ۶ لیتر روغن به دست می‌آید که به دلیل دارا بودن اسیدهای چرب ضروری امگا ۳ امگا ۶ و امگا ۹ (در حقیقت بدن انسان قادر به ساخت این اسیدهای چرب ضروری و حیاتی نمی‌باشد) مصرف گسترده‌ای در صنایع دارویی و آرایشی و بهداشتی دارد(۵). بدن انسان توانایی ساختن و سنتز کردن اسیدهای چرب -۳n را از مولکول‌های دیگر ندارد، اما می‌تواند زنجیره بلند ۲۰ و ۲۲ کربنی اسیدهای چرب -۳n سیر نشده را از زنجیره کوتاه هشت کربنی تشکیل دهد(۶،۵). امگا ۳ در بدن به پروستاگلندین‌ها و ایکوزانوییدها تبدیل می‌شود و مصرف امگا ۳ سبب کاهش کلسترول و تری گلیسیریدهای خون، کاهش فشارخون، کاهش وزن، پیشگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی، درمان و کاهش دردهای مفاصل، آرتریت روماتوئید و آرتروز می‌گردد(۸،۷). از آنجا که امگا ۳ جذب کلسیم را افزایش می‌دهد و رسوب کلسیم را در بافت‌های استخوانی تسهیل می‌نماید، سبب درمان پوکی استخوان می‌شود. هم‌چنین این ماده در درمان افسردگی، خشکی چشم، کاهش دردهای قاعدگی، جلوگیری از تصلب شرایین و کاهش بروز التهاب مفاصل موثر است(۹). با توجه به این که تاکنون هیچ فرآورده دارویی از روغن شتر مرغ تولید نشده است و همچنین با توجه به مزایای هیدروژل‌ها در دارو رسانی، هدف از این مطالعه تهیه و ساخت یک هیدروژل فیزیکی از روغن شترمرغ می‌باشد که باتوجه به گسترش روز افزون استفاده از سیستم‌های نوین دارویی، این سامانه هیدروژلی جدید طراحی شد. همچنین در این مطالعه، با توجه به وجود ترکیبات اسیدهای چرب غیر اشباع ۱۸

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018

کربنی در روغن شترمرغ وقابلیت نفوذ مناسب این ترکیبات در پوست و نیز گزارشات قبلی اثرات ضد درد موضعی، بررسی اثر ضد دردی هیدروژل روغن شترمرغ در فرمولاسیون‌های مختلف، در موش سوری انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

مواد مورد استفاده در این مطالعه تجربی، شامل، کیتوسان که یکی با وزن مولکولی پایین و ۸۵ درصد داستیلاسیون و دیگری با وزن مولکولی بالا و ۹۸ درصد داستیلاسیون، از شرکت مرک آلمان، پلی‌وینیل پیرولیدون k30 (PVP) از شرکت Ludwigshafen آلمان و توین ۸۰ از شرکت مرک آلمان و روغن شترمرغ از شرکت Nature's Edge، می‌باشد.

باز کردن حلقه پیرولیدون

جهت باز کردن حلقه پیرولیدون، از هیدرولیز حرارتی محلول ۲۵ درصد PVP در آب دیونیزه، در دمای ۱۲۵ درجه سانتی‌گراد، به‌مدت ۷۲ ساعت در بمب استفاده گردید. در این فرآیند در اثر حرارت و فشار، زنجیره‌های PVP باز می‌گردند(۱۱،۱۰).

روش تهیه نمونه در آزمون FTIR

جهت دستیابی به طیف FTIR از دستگاه PerkinElmer Spectrum استفاده شد. برای آماده سازی نمونه مقدار کمی از نمونه با پودر پتاسیم بروماید مخلوط گردید تا ظاهری خشک پیدا کند و کاملا همگن شود (پتاسیم بروماید جاذب رطوبت است). سپس این مخلوط با اسپاتول در دستگاه پرس به یک قرص نازک تبدیل شد. پتاسیم بروماید در عدد موج cm^{-1} ۴۰۰۰–۶۵۰ هیچ پیکی در نمودار ایجاد نمی کند و برای طیف سنجی ترکیبات آلی بسیار مناسب می باشد. قرص در بین دو دیسک از جنس فولاد ضد زنگ قرار داده شد و سپس درون محفظه قرار گرفت. محفظه در دستگاه قرار داده شد، پرتو فروسرخ به نمونه تابیده و دستگاه طیف FTIR را رسم کرد(۱۳،۱۲).

تهیه هیدروژل فیزیکی حاوی روغن شترمرغ

برای تهیه هیدروژل فیزیکی حاوی روغن شترمرغ ابتدا محلول کیتوزان با انحلال کیتوزان در آب مقطر حاوی ۱ درصد w/v اسید استیک آماده شد. جهت تهیه پایه هیدروژل محلول استیک اسید و کیتوزان با محلول OR-PVP (با نسبت ۰/۲ و ۰/۴) کاملا مخلوط گردید. سپس، درصدهای مختلف روغن شترمرغ به پایه هیدروژل افزوده و در تمام فرمولاسیون‌ها ۱۰ میلی‌گرم توین ۸۰ برای پراکنده شدن بهتر روغن به آن اضافه شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: اجزا و مقادیر مواد در فرمولاسیون های روغن شترمرغ

کد فرمولاسیون	کیتوزان با وزن مولکولی پایین (mg)	کیتوزان با وزن مولکولی بالا (mg)	OR-PVP (mg)	نسبت کیتوزان به OR-PVP $\frac{Chi}{OR-PVP}$	روغن شترمرغ (mg)	Tween80® (mg)
F_1	۱۰۰	–	۵۰۰	۰/۲	–	۱۰
F2	۱۰۰	–	۵۰۰	۰/۲	۱۵۰	۱۰
F3	۱۰۰	–	۵۰۰	۰/۲	۲۸۰	۱۰
F4	۱۰۰	–	۵۰۰	۰/۲	۳۹۰	۱۰
F5	۱۰۰	–	۲۵۰	۰/۴	۱۵۰	۱۰
F6	۱۰۰	–	۲۵۰	۰/۴	۲۸۰	۱۰
F7	۱۰۰	–	۲۵۰	۰/۴	۳۹۰	۱۰
F8	–	۱۰۰	۵۰۰	۰/۲	–	۱۰
F9	–	۱۰۰	۵۰۰	۰/۲	۱۵۰	۱۰
F10	–	۱۰۰	۵۰۰	۰/۲	۲۸۰	۱۰
F11	–	۱۰۰	۵۰۰	۰/۲	۳۹۰	۱۰
F12	–	۱۰۰	۲۵۰	۰/۴	۱۵۰	۱۰
F13	–	۱۰۰	۲۵۰	۰/۴	۲۸۰	۱۰
F14	–	۱۰۰	۲۵۰	۰/۴	۳۹۰	۱۰

تعیین مقدار روغن شترمرغ در هیدروژل با استفاده از کروماتوگرافی گازی

میزان اسید چرب موجود در روغن شترمرغ بوسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی (Varian 3800 GC) اندازه‌گیری شد(۱۵،۱۴). یک گرم هیدروژل توزین گردید و در لوله آزمایش ریخته شد. ۲ میلی‌لیتر KOH متانولی ۲ مولار و ۷ میلی‌لیتر هگزان نرمال به لوله آزمایش افزوده شد. لوله آزمایش با دستگاهTest tube shaker به مدت یک دقیقه همزده و نمونه در بن ماری با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. عمل همزدن و گرم‌کردن ۳ بار تکرار گردید. نمونه طی ۵ دقیقه در محلی ساکن قرار گرفت تا دو فاز گردد. در نهایت ۱ میلی‌لیتر از فاز بالایی برای تزریق به دستگاه برداشته

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018

شد(۱۴). یک میکرو لیتر نمونه به دستگاه کروماتوگرافی گازی شرکت Termo finigan مدل ساخت ایتالیا Termo trace با ستون BPX70 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میکرو متر و با Injector split/splitless با نسبت split Ratio: 1:80 تزریق شد. دمای Injector در ابتدا ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد در ۲ دقیقه اول بود که با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید(۱۴). ز گاز حامل نیتروژن با غلظت ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه و آشکارساز FID[1] (آشکارساز یونیزاسیون شعله) استفاده گردید(۱۴). محل پیک با اسیدهای چرب غیراشباع ۱۸ کربنی به عنوان استاندارد مشخص، و سطح زیرمنحنی پیک به عنوان شاخص اندازه‌گیری نیز با منحنی استاندارد حاصل از اسیدهای چرب غیراشباع ۱۸ کربنی مقایسه شد.

تست تورم پذیری هیدروژل

جهت تعیین میزان تورم فرآورده، نمونه در ۱۰۵ درجه به مدت ۴ ساعت در دسیکاتور کاملا خشک و سپس توزین انجام شد. نمونه خشک شده در محیط آبی با pH ۶/۸ یا ۷/۴ به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق غوطه ور شدند. در زمان‌های مشخص نمونه را روی کاغذ صافی قرار داده تا پس از جذب آب اضافی توسط کاغذ، آن را مجددا توزین و با رابطه ۱ نسبت تورم هیدروژل محاسبه شد و این آزمایش ۳ بار تکرار گردید(۱۵، ۱۶).

رابطه ۱ $$Q_S = \frac{(W_S - W_d)}{W_d}$$

در رابطه ۱، Q_s نسبت تورم پذیری، W_S وزن هیدروژل متورم، W_d وزن هیدروژل خشک ابتدایی می‌باشد.

حیوانات آزمایشگاهی و شرایط نگهداری

آزمون های ضد دردی

در این مطالعه اثر ضد دردی روی موش‌های سوری نر نژاد NMRI، با محدوده وزنی ۱± ۲۲ گرم و سن ۴ هفته انجام پذیرفت. موش‌ها از انیستیتو پاستور خریداری و به‌طور تصادفی به ۱۰ گروه تقسیم گردید. حیوانات در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در دانشکده داروسازی ساری تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، غذا و آب قرار گرفتند. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، هنگام کار با حیوانات رعایت شد(۱۷).

آزمون صفحه داغ

برای انجام آزمون، موش‌های سوری نر نژاد NMRI در محدوده وزنی ۳۰-۲۰ گرم روی یک صفحه داغ که توسط یک استوانه شیشه‌ای بلند احاطه شده بود قرار داده شدند. دمای صفحه داغ ۱±۵۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و برای مطمئن شدن از صحت کار دستگاه با دماسنج هم بررسی گردید. هر موش قبل از تجویز دارو روی دستگاه قرار گرفته و پاسخ حیوان نسبت به محرک دردناک (گرما) ثبت شد. این زمان عکس‌العمل حیوان به عنوان base line در نظر گرفته شده و برای محاسبات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. فاصله زمانی از قرار دادن موش روی صفحه، تا لحظه عکس‌العمل (که شامل لیسیدن دست یا پا و یا پریدن می‌باشد) پس از اعمال روش بر حسب ثانیه، به عنوان پاسخ تاخیری یا test latency نامیده می‌شود. به محض شروع لیسیدن دست‌ها یا تغییر خاص در قدم گذاری موش‌ها، میزان تحمل پایه حیوان ثبت گردید. پس از آن برحسب گروه‌های مورد مطالعه، فرمولاسیون‌ها استفاده شد و ۱۵-۱۰ دقیقه بعد از تجویز دارو و به دنبال آن ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه بعد، میزان تحمل آن‌ها سنجیده و با میزان تحمل پایه مقایسه گردید. حداکثر زمان در نظر گرفته شده برای سطح تحمل موش‌ها ۶۰ ثانیه می‌باشد(۱۸). به هر گروه از موش‌ها پایه هیدروژل (F_1)، دوزهای مختلف روغن شترمرغ با پایه‌ی هیدروژل مختلف، به صورت تجویز موضعی پوستی استعمال شد. یک گروه از موش‌ها هم ژل موضعی دیکلوفناک را به عنوان گروه کنترل مثبت دریافت کردند. زمان پاسخ به

1- flame ionization detector

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018

درد (ثانیه) بر حسب MPE% در فرمولاسیون‌های مختلف گزارش شد. هر نقطه نمایانگر میانگین ± انحراف معیار حداکثر اثر ضد دردی در ۶ موش می‌باشد. برای محاسبه حداکثر ممکن MPE (maximum possible effect) از رابطه ۲ استفاده گردید.

رابطه ۲:

$$MPE = \frac{\text{Post treatment latency time} - \text{Pretreatment latency time}}{\text{Cut off time} - \text{Pretreatment latency time}} \times 100$$

در رابطه ۲، Test latency پاسخ تاخیری پس از استفاده از روغن، Base line پاسخ حیوان (latency) در مقابل محرک قبل از استفاده از روغن، Cut off حداکثر زمان مجاز قرار گرفتن موش روی صفحه داغ از لحاظ اخلاقی جهت جلوگیری از آسیب بافتی(۶۰ ثانیه)، می‌باشد. علت بیان نتایج‌هات پلیت به صورت MPE کاهش تفاوت در بین نمونه‌های حیوانی مورد بررسی می‌باشد که دقیقاً هر حیوان پاسخ اش با خودش مقایسه می گردد.

آزمون فرمالین

تست فرمالین یکی از تست‌های استاندارد در مورد اندازه‌گیری پاسخ در برابر درد است. موش‌ها بعد از استعمال هر یک از فرآورده ها به مدت ۱۵ دقیقه داخل قفس خالی نگه داشته شدند. بعد از ۱۵ دقیقه، حیوان را از قفس بیرون آورده و در این مرحله، حیوان را روی سطح بلندی با آینه‌ای با زاویهٔ ۴۵ درجه در زیر قرار داده شد (به مدت ۳۰ دقیقه) و پاسخ در برابر درد در محدوده زمانی ۳۰ دقیقه (هر ۵ دقیقه) برحسب ثانیه ثبت گردید. این زمان شامل مجموع زمان‌هایی (برحسب ثانیه) که صرف تکان دادن، لیسیدن یا گاز گرفتن پای تجویز شده، می‌باشد(۱۹،۲۰). برای انجام این آزمون از یک جعبه طلقی شفاف که روی چهار پایه‌ای قرار گرفته بود و آیینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه داخل آن قرار داشت استفاده گردید. این آیینه امکان دیدن کف پای موش را به راحتی فراهم کرد. هر موش را قبل از انجام تست داخل جعبه قرار داده تا با محیط آشنا شود. برای هر دوز ۶ موش انتخاب شد. نمونه‌های مورد بررسی بر کف پا و دم موش‌ها مالیده شد. در دسته اول به کف پای راست موش غلظت های مختلف روغن شترمرغ مالیده شد و پس از ۱۵ دقیقه به کف پای راست موش ۲۰۰ میکرو لیتر فرمالین ۵ درصد تزریق گردید. در گروه دوم، داروی ژل موضعی دیکلوفناک به عنوان کنترل مثبت تجویز شد. پس از ۱۵ دقیقه به کف پای راست موش ۲۰۰ میکرولیتر فرمالین ۵ درصد تزریق شد و موش‌ها داخل جعبه قرار گرفتند زمان لیسیدن یا گزیدن پا در یک بازه زمانی نیم ساعته پس از تجویز فرمالین ثبت گردید و گروه‌های مورد مطالعه، طبق جدول شماره ۱ بررسی شدند ($\frac{Chi}{OR-PVP}$).گروهF_1، گروه شاهد است که فقط پایه هیدروژل بدون دارو دریافت کردند. سایر گروه‌ها درصدهای مختلف روغن شترمرغ را از پایه‌های مشخص هیدروژل و یا ژل موضعی دیکلوفناک به عنوان کنترل دریافت‌کردند. درگروه‌های مورد مطالعه دوزهای فوق به کف پای موش مالیده شد.

آنالیز آماری

میانگین ± انحراف معیار برای همه گروه‌ها محاسبه گردید و تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS-19 و با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) انجام شد. برای مقایسه بین گروه‌ها از روش،Tukey's Multiple comparison Test استفاده شد و در مقایسه میانگین بین گروه‌ها $p< ۰/۰۵$ به‌عنوان معنی‌دار تلقی گردید تا بتوان تاثیر درصدهای مختلف فرمولاسیون‌های هیدروژل روغن شترمرغ را در فعالیت ضد دردی بررسی کرد.

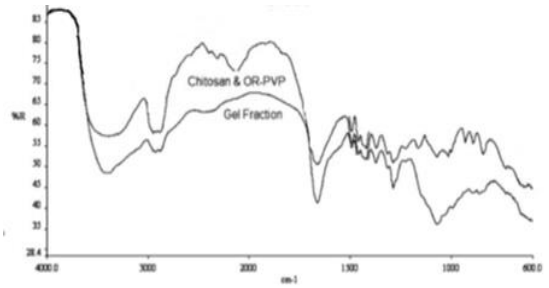
یافته ها

طیف سنجی زیر قرمز

نمودار شماره ۱ طیف FTIR را نشان می‌دهد که کیتوزان در $۳۴۳۵/۷\ cm^{-1}$، دارای OH کششی است که همپوشانی NH کشش در همان منطقه اوج در $۲۹۲۳/۳\ cm^{-1}$، C-H کششی معمولی است.

www.SID.ir

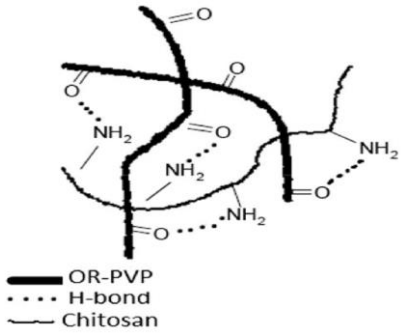
Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018



نمودار شماره ۱: طیف FTIR تشکیل هیدروژل کیتوزان- OR-PVP

قله کوچک در $1633\ cm^{-1}$ به دلیل C = O کششی می‌باشد (آمید I) و نقطه‌ی اوج در $1580\ cm^{-1}$ مربوط به آمید دوم گزارش شده است. قله‌ی $1076/1\ cm^{-1}$ با توجه به C-O ارتعاش کششی در کیتوزان است. پیک $3438\ cm^{-1}$ نشانه وجود باند دوگانه قوی و آماده‌ی واکنش است.

نمودار شماره ۲ نیز طرح تشکیل هیدروژل فیزیکی توسط پیوند هیدروژنی را نشان می‌دهد(۲۰). گروه‌های عاملی آمینه مشتقات کیتوزان به راحتی بین گروه‌های کربونیل حلقه‌های پیرولیدون مستقر می‌شوند، در نتیجه هیدروژل فیزیکی تثبیت می‌گردد. این اتصال فیزیکی برای ایجاد ثبات در ژل بیش از حد قدرتمند نیست. طیف IR بخش نامحلول هیدروژل به وضوح وجود پیوند هیدروژنی قوی در بین دو مولکول برای تثبیت فیزیکی را نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۲: طرح تشکیل هیدروژل فیزیکی توسط پیوند هیدروژنی

یافته های تست تورم پذیری هیدروژل

درصد تورم‌پذیری نمونه‌های تهیه شده هیدروژل روغن شترمرغ پس از ۴۸ ساعت در جدول شماره ۲ ارائه شده است. تصویر شماره ۱، یک نمونه از هیدروژل حاوی روغن شترمرغ را نشان می‌دهد.

جدول شماره ۲: درصد تورم‌پذیری نمونه های تهیه شده هیدروژل روغن شترمرغ پس از ۴۸ ساعت (تعداد دفعات آزمایش = ۳)

فرمولاسیون	درصد تورم پذیری پس از ۴۸ ساعت
F_1	۳۵/۷±۱۵/۵۳
F_2	۳۲/۵±۶۲/۹۱
F_3	۲۹/۴±۱۶/۶۵
F_4	۱۸/۳±۱۴/۲۳
F_5	۱۴/۱±۳۸/۲۶
F_6	۱۱/۱±۱۵/۰۵
F_7	۷/۰±۶۵/۷۳
F_8	۶۷/۹±۶۵/۹۳
F_9	۶۰/۹±۳۲/۵۶
F_{10}	۲۹/۳±۱۶/۰۹
F_{11}	۲۶/۳±۰۴/۴۱
F_{12}	۲۴/۲±۱۱/۲۳
F_{13}	۲۱/۲±۰۱/۲۶
F_{14}	۱۲/۲±۳۰/۴۵

تصویرشماره ۱: هیدروژل روغن شترمرغ ۳۰ درصد با پایه $\frac{chitosan}{OR-PVP}$=۰/۲

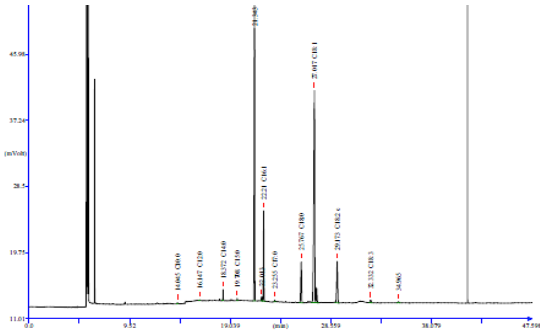
نتایج تعیین مقدار با استفاده از کروماتوگرافی گازی

نمودار شماره ۳، پیک نمونه از تعیین مقدار روغن شترمرغ به روش کروماتوگرافی گازی را نشان می‌دهد. در پیک نمونه کروماتوگرام گازی روغن شترمرغ وجود مقادیر اسیدهای چرب غیر اشباع لینولئیک اسید (C18: 2) با زمان بازداری (RT) ۲۸/۰۶ دقیقه و سطح زیر منحنی ۴۰/۲۷ درصد و اسید لینولنیک (C18: 3) با زمان بازداری (RT) ۳۲/۷۴ دقیقه و سطح زیرمنحنی ۱/۳۹ درصد دیده شد که با شاخص استاندارد های مربوطه، مشخص شده و تعیین مقدار گردید. نتایج میزان حدود ۱۰، ۲۰ و ۳۰

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018

درصد انکپسولاسیون روغن شترمرغ را به ترتیب در فرمولاسیون‌های F3، F4 و F5 نشان داده است.



نمودار شماره ۳: پیک نمونه از تعیین مقدار کروماتوگرام گازی روغن شترمرغ ۳۰ درصد (F_4)

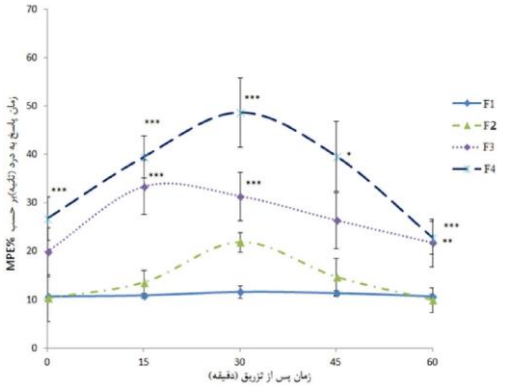
یافته های تست صفحه داغ

نتایج مربوط به تست صفحه داغ در نمودار شماره ۴ و نمودار شماره ۵ نشان داده شده است. نمودار شماره ۴ مقایسه نتایج گروه شاهد و درصدهای مختلف روغن شترمرغ در هیدروژل را نشان می دهد. این نتایج نشان دهنده اختلاف معنا دار بین هیدروژل ها با درصد های مختلف روغن شترمرغ در زمان های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه پس از تجویز می‌باشد ($p<۰/۰۰۱$).

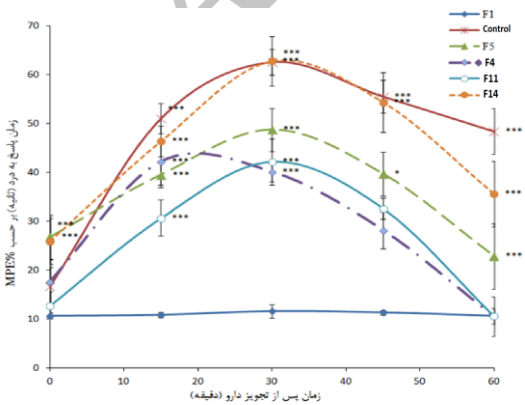
نمودار شماره ۵، مقایسه‌ی زمان پاسخ به درد (ثانیه) بر حسب MPE% در فرمولاسیون‌های مختلف حاوی ۳۰ درصد روغن شترمرغ با گروه کنترل و شاهد (F_1) حاصل از آزمون صفحه داغ را نشان داده است. این نتایج نشان می‌دهند، بین هیدروژل‌های تهیه شده با پایه کیتوزان با وزن مولکولی بالا حاوی روغن شترمرغ ۳۰ درصد و داروی کنترل مثبت در زمان ۱۵ تا ۴۵ دقیقه اختلاف معناداری وجود ندارد ($p>۰/۰۵$). بین تمام فرمولاسیون‌های حاوی ۳۰ درصد روغن شترمرغ و پایه هیدروژل اختلاف معنی‌داری وجود دارد وبین فرمولاسیون F_1 و گروه کنترل در کلیه زمان‌ها نیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۵$). همچنین بین زمان پاسخ به درد (ثانیه) بر حسب MPE% در فرمولاسیون‌های مختلف هیدروژل‌های حاوی ۲۰ و ۳۰ درصد روغن شترمرغ و پایه‌های هیدروژل با وزن مولکولی پایین و بالا کیتوزان(شاهد) اختلاف معنی‌داری در تمام دقایق وجود دارد ($p<۰/۰۱$).

یافته های تست فرمالین

با توجه به نتایج مربوط به تست فرمالین به وسیله آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA)، اختلاف معناداری بین هیدروژل های مختلف روغن شترمرغ ۱۰ و ۲۰ درصد وجود دارد ($p<۰/۰۰۱$). بین هیدروژل روغن شترمرغ ۳۰ درصد با پایه کیتوزان با وزن مولکولی بالا و داروی کنترل بعد از تجویز اختلاف معنی داری وجود دارد ($p<۰/۰۵$) (نمودار شماره ۶).



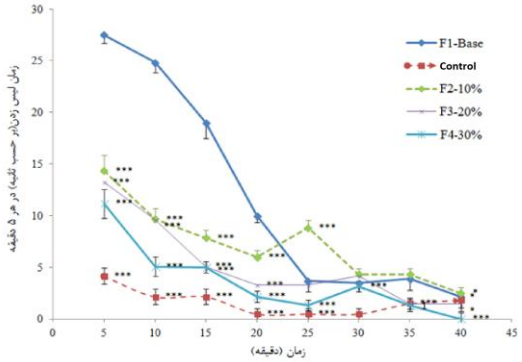
نمودار شماره ٤: زمان پاسخ به درد (ثانیه) بر حسب MPE% در فرمولاسیون های مختلف روغن شترمرغ حاصل از آزمون صفحه داغ



نمودار شماره ۵: مقایسه زمان پاسخ به درد (ثانیه) بر حسب MPE% در فرمولاسیون های مختلف حاوی ۳۰ درصد روغن شترمرغ با گروه کنترل و شاهد (F_1) حاصل از آزمون صفحه داغ

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018



نمودار شماره ۶: زمان پاسخ به درد بر حسب ثانیه در فرمولاسیون های مختلف روغن شترمرغ($\frac{\text{low molecular Chitosan}}{\text{OR-PVP}}$ برابر ۰/۲) حاصل از آزمون فرمالین،
**: p<۰/۰۱ اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل،
***: P<۰/۰۰۱ اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل

بین گروه‌های کیتوزان با وزن مولکولی بالا (در هر نسبتی) و وزن مولکولی پایین در درصدهای روغن یکسان اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵)، اما این اختلاف در کیتوزان‌های مشابه دیده نمی‌شود (p>۰۵/). بین زمان پاسخ به درد بر حسب ثانیه در فرمولاسیون‌های مختلف هیدروژل‌های حاوی ۲۰ و ۳۰ درصد روغن شترمرغ و پایه‌های هیدروژل کیتوزان با وزن مولکولی پایین و بالا (شاهد) اختلاف معنی‌داری در تمام دقایق وجود دارد (به ترتیب p<۰/۰۰۱ و p<۰/۰۱) (نمودار شماره ۶). بین تمام فرمولاسیون‌های حاوی روغن شترمرغ و پایه هیدروژل در ۲۵ دقیقه اول اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بین فرمولاسیون F_4 و گروه کنترل در زمان ۲۰ تا ۲۵ دقیقه و ۳۵ تا ۴۰ دقیقه اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (p>۰/۰۵)، اما در ۲۰ دقیقه اول و زمان ۲۵ تا ۳۰ دقیقه اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۱).

بحث

طیف مادون قرمز از نمونه هیدروژل، به وضوح پیوند هیدروژنی قوی موردنیاز برای مکانیسم تشکیل این هیدروژل فیزیکی را کراس لینک و اتصالات فیزیکی زنجیره‌های هیدروفیل نشان داده است. گروه‌های عاملی آمینه از مشتقات کیتوزان به راحتی بین گروه‌های کربونیل محلول پیرولیدون با حلقه باز اتصال عرض برقرار می‌کنند در نتیجه هیدروژل فیزیکی تثبیت می‌گردد. در این مطالعه هیدروژل‌ها از اختلاط محلول‌های مشتقات پیرولیدون (PVP یا OR–PVP) با کیتوزان و تغییر pH بین ۲ تا ۱۰ به دست آمد. مخلوط محلول‌های نسبت‌های مختلف پلیمر PVP با کیتوزان و با تغییر pH بین ۳/۵ تا ۹ و نیز با افزایش دما به دست نیامده است. اما اختلاط ساده OR–PVP و کربوکسی متیل سلولز در عرض چند دقیقه با اضافه نمودن چند قطره سود یک نرمال و افزایش pH، منجر به تشکیل هیدروژل شد و این در حالی است که اختلاط OR–PVP و محلول کیتوزان در عرض چند ثانیه در محیط اسیدی و pH حدود ۶ منجر به تشکیل هیدروژل فیزیکی شده است که با pH پوست نیز سازگاری بیش‌تری دارد و موجب تحریک و سوزش نمی‌شود. با توجه به نتایج می‌توان گفت که هیدروژل‌های با نسبت کیتوزان وزن مولکولی بالا به OR-PVP برابر ۰/۲ قابلیت تورم‌پذیری بالایی دارند، در حالی که در فرمولاسیون‌های با نسبت کیتوزان با وزن مولکولی پایین به OR-PVP برابر ۰/۲ قابلیت تورم‌پذیری بسیار پایینی دارند. گروه‌های عاملی آمینه از مشتقات کیتوزان به راحتی بین گروه‌های کربونیل محلول پیرولیدون با حلقه باز اتصال عرض برقرار می‌کنند در نتیجه هیدروژل فیزیکی تثبیت می‌گردد. به‌دلیل آن که در گروه‌های آمین بیش‌تر در کیتوزان وزن مولکولی بالا این اتصالات بیش‌تر است، در نتیجه پایداری فیزیکی هیدروژل و قابلیت جذب آب آن نیز بیش‌تر است. در هیدروژل با درصد OR-PVP بالاتر (F_8) خواص چسبندگی بیش‌تر است و ساختار از انعطاف پذیری بالاتری برخوردار است. ذکر این نکته لازم است که OR-PVP به راحتی در آب حل می‌گردد و در نتیجه بین خواص زیست چسبی پلیمر و میزان گروه‌های عاملی آمینه‌ی مشتقات کیتوزان که به راحتی بین گروه‌های کربونیل محلول پیرولیدون با حلقه باز اتصال عرض برقرار می‌کنند، رابطه مناسب

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018

ایجاد می‌گردد(۱۰،۱۱). مطالعات Perale و همکاران در سال ۲۰۱۱ و نیز Peppas و دستیارش در سال ۱۹۸۷ تاییدی بر این موضوع است. هیدروژل هایی که دارای مونومرهای قابل یونیزه شدن می‌باشند، تغییرات حجم بیش‌تری نشان می‌دهند(۲۱،۲۲).

مطالعات واشقانی فراهانی در سال ۱۹۹۰ نشان داد که تغییرات pH و غلظت الکترولیت اثر بسیار زیادی بر تورم هیدروژل‌هایی محتوی گروه‌های یونی، دارند و در pH نزدیک به خنثی، حداکثر تورم را دارند(۲۳). فرمولاسیون‌هایی با پایه کیتوزان و وزن مولکولی بالا (۶۷/۶۵ درصد = F_8) تورم‌پذیری بیش‌تری نسبت به فرمولاسیون‌هایی با پایه کیتوزان با وزن مولکولی پایین (۱۴/۳۸ درصد =F_5) دارند. هر چند با افزایش میزان روغن شترمرغ به مقدار پایه هیدروژل میزان جذب آب کاهش می‌یابد که این امر به دلیل جای‌گیری روغن در بین اتصالات عرضی کیتوزان و پیرولیدون است. افزایش اختلاف فشار اسمزی فاز ژلی نسبت به فاز آبی سبب افزایش جذب آب می‌شود. همچنین با افزایش بیش‌تر مقدار روغن شترمرغ در هیدروژل چگالی اتصالات عرضی در شبکه افزایش و میزان جذب آب کاهش می‌یابد. مکانیسم جذب آب توسط هیدروژل تاحدی متفاوت است و آب براساس اختلاف فشار اسمزی به داخل هیدروژل نفوذ می‌کند. افزایش مقدار اتصال گر عرضی (از جمله کیتوزان-OR-PVP) منجر به کاهش تورم در آب خواهد شد. افزایش گروه‌هایی که توانایی کیلیت‌کنندگی داشته باشند نظیر کربوکسیلات جذب را افزایش می‌دهد(۲۴).

در این مطالعه از مقادیر مختلف روغن شترمرغ برای فرمولاسیون‌های مختلف استفاده شد که با توجه به افزایش میزان روغن در فرمولاسیون‌های مختلف و آنالیز با دستگاه گاز کروماتوگرافی، افزایش سطح زیر منحنی برای پیک‌های شاخص مشاهده شد که دلیل بر وجود بارگذاری مناسب روغن در فرمولاسیون‌ها و نیز اختلاف نتایج تعیین مقدار فرمولاسیون‌ها می‌باشد. در این مطالعه به نتایج مشابه‌ای از اثرات ضد دردی فرمولاسیون روغن شترمرغ با مطالعات قبلی رسیدیم که به دلیل تفاوت اندک در اثر ضد دردی اندازه گیری شده با تست صفحه داغ با تست فرمالین می توان نتیجه گرفت اثرات ضد دردی روغن شترمرغ بیش‌تر از طریق مسیر مرکزی است. تست صفحه داغ موجب برانگیخته شدن رفتارهایی می‌شود که از نواحی سوپرا اسپاینال مشتق می شوند. بخش عمده ای از فعالیت‌های ضد التهابی، در یک سری اسید چرب و تری‌گلیسرید سبک وجود داشت(۲۵). یاگاتانیا و همکاران در مقاله‌ای با عنوان اختلاف اثرات ضد التهابی مصرف موضعی روغن کرچک هندی با روغن شترمرغ بر موش گونه سی‌دی ثابت کردند، یکی از مهم‌ترین خواص روغن شترمرغ خصوصیت مهار فاکتور نکروز تومور آلفا Tumor necrosis factor alpha (TNF-a) که یک سایتوکین التهابی است، می‌باشد. در این مطالعه مشخص گردید که روغن شترمرغ در مقایسه با روغن کرچک هندی و روغن زیتون خصوصیت مهار فاکتور نکروز تومور آلفا بهتری دارد(۲۶).

پولیتس و دمیتروویچ در سال ۱۹۹۸ در مطالعات خود با عنوان بهبود زخم ثانویه به وسیله لوسیون روغن شترمرغ استرالیایی، مقایسه نتایج با furasin، polysporin و کورتیزون نشان دادند که روغن شترمرغ عوارض کم‌تری نسبت به کورتیکوستروئید دارد و بهبود زخم با روغن شترمرغ در مقایسه با سایر ترکیبات مورد آزمایش تسریع می‌گردد(۲۷).

وایت هوز و همکاران در مطالعات خود با عنوان، یک منبع غیر سمی عوامل ضد التهاب ترانس درمال در طب بومی ثابت کردند که روغن شترمرغ دارای اثرات ضد دردی بوده و می‌تواند دردهای مزمن در موش صحرایی را تقلیل دهد(۲۸).

در نهایت با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت که فرمولاسیون‌های حاوی کیتوزان با وزن مولکولی بالا، نتایج مناسب تری نسبت به سایر فرمولاسیون‌ها داشتند. بهترین نسبت فرمولاسیون نسبت کیتوزان با وزن مولکولی بالا به OR-PVP برابر ۰/۴ بوده است. این

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018

مطالعه نشان داد که هیدروژل روغن شترمرغ فرآورده‌ی مناسبی برای کاهش دردهای التهابی و مرکزی می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از حمایت مالی حوزه معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران که نتیجه طرح پژوهشی مصوب با کد ۹۱۱۹۴ می‌باشد، تشکر می‌گردد. همچنین این مطالعه حاصل پایان‌نامه دکترای داروسازی آقای مسعود قدمی رزداری دانشجوی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد.

References

1. Hydrogel AM. Preparation, characterization, and applications: A review. J Adv Res 2015; 6(2): 105-121.
2. Lin YH, Liang HF, Chung CK, Chen MC, Sung HW. Physically crosslinked alginate/N, O-carboxymethyl chitosan hydrogels with calcium for oral delivery of protein drugs. Biomaterials 2005; 26(14): 2105-2113.
3. Jensen BE, Dávila I, Zelikin AN. Poly (vinyl alcohol) Physical Hydrogels: Matrix-Mediated Drug Delivery Using Spontaneously Eroding Substrate. J Phys Chem B 2016; 120(26): 5916-5926.
4. Umair A, Melissa Y, Kurian D, Chandra M. Omega-3 Fatty Acids in Rheumatic Diseases: A Critical Review. J Clin Rheumatol 2017; 23(6): 330-339.
5. Nazari H, Bidokhty S, Mohammadi A, Jafari M, Taherian A A. Antinociceptive effects of aqeous extract Launaea acanthodes gum in mice. Koomesh 2017; 19(1): 154-163 (Persian).
6. Blankson H, Stakkestad JA, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. J Nutr 2000; 130(12): 2943-2948.
7. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23(2): e20-e30.
8. Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the anti- inflammatory potential of long- chain omega- 3 fatty acids. Nutr Rev 2010; 68(5): 280-289.
9. Jackson JC, Mozaffarian D, Graves AJ, Kiehl AL, Ely EW. Fish oil supplementation does not affect cognitive outcomes in cardiac surgery patients in the Omega-3 fatty acids for prevention of post-operative atrial. J Nutr 2018; 148(3): 472-479.
10. Abashzadeh S, Hajimiri MH, Atyabi F, Amini M, Dinarvand R. Novel physical hydrogels composed of opened-ring poly (vinyl pyrrolidone) and chitosan derivatives: Preparation and characterization. Journal of Applied Polymer Science 2011; 121(5): 2761-271 (Persian).
11. Suknuntha K, Tantishaiyakul V, Worakul N, Taweepreda W. Characterization of muco- and bioadhesive properties of chitosan, PVP, and chitosan/PVP blends and release of amoxicillin from alginate beads coated with chitosan/PVP. Drug Dev Ind Pharm 2011; 37(4): 408-418.
12. Solomon PR, Carangelo RM. FTIR analaysis of coal. 1. techniques and determination of hydroxyl concentrations. Fuel 1982; 61(7): 663-669.
13. Enayatifard R, Akbari J, Saeedi M, Morteza-Semnani K, Parvin S, Hashemi MH, et al. Investigating the Effect of Coated Lipid Nano Particles of Spironolactone with

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 11:01 +0330 on Monday November 19th 2018

Chitosan on Their Properties. J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28(162): 25-36 (Persian).

14. Liu X, Chen T, Liu X, Chen Y, Wang L. Penetration effect of Ostrich Oil as a Promising Vehicle on Transdermal Delivery of Sinomenine. Journal of Oleo Science 2013; 62(9): 657-664.
15. Pintilie L, Catalina PI, Cristina H, Georgeta R, Elena P, Daniela PR. Studies on two-step acid-base catalyzed transesterification of refined ostrich oil. Rom Biotechnol Lett 2014; 19(2): 9222-9231.
16. Farahpour MR, Vahid M, Oryan A. Effectiveness of topical application of ostrich oil on the healing of Staphylococcus aureus- and Pseudomonas aeruginosa-infected wounds. Connect Tissue Res. 2018; 59(3): 212-222.
17. Miller RA, Nadon NL. Principles of animal use for gerontological research .J Gerontol. 2000; 55(3): B117-B123.
18. Heidari MR, Sharififar F, Orangi B, Salmani Befruei M. Analgesic effect of hydroalcoholic extract of Zingiber and Piper Nigrum in mice by Tail-Flick test. J Kerman Univ Med Sci 1998; 4(3): 107-113 (Persian).
19. Moghaddamnia AA, Hosseini Motlagh L, Jandaghi.Jafarei M. The study of effect of Piperine by hot-plate and Formalin test in mice. J Gorgan Univ Med Sci 2004; 6(13): 8-16 (Persian).
20. Hoseini Abforosh N, Asgari M R, Ghods A A. Pain control with lavender essential oil. Koomesh 2017; 19(1): 10-21 (Persian).
21. Perale G, Rossi F, Santoro M, Marchetti P, Mele A, Castiglione F,etal. Drug release from hydrogel: a new understanding of transport phenomena. J Biomed Nanotechnol 2011; 7(3): 476-481.
22. Peppas NA. Korsmeyer RW. Dynamically swelling hydrogels in controlled release applications. In: Hydrogels in Medicine and Pharmacy. Peppas NA (Ed). Boca Raton, CRC Press; 1987. p: 109-136.
23. Vasheghani-Farahani E, Vera JH, Cooper DG, Weber ME. Swelling of ionic gels in electrolyte solutions. Ind Eng Chem Res 1990; 29(4): 554-560.
24. Jadidi M, Sameni H, mirbeygi Z, Jafari M, Taherian AA. Effects of hydroalchoholic extract of Turmeric (Curcuma longa) Rhizome on the peripheral and visceral pain in mice. Koomesh 2016; 17 (3) :692-700 (Persian).
25. Santoro M, Marchetti P, Rossi F, Perale G, Castiglione F, Mele A, et al. Smart approach to evaluate drug diffusivity in injectable agar− carbomer hydrogels for drug delivery. J Phys Chem B 2011; 115(11): 2503-2510.
26. Yoganathan S, Nicolosi R, Wilson T, Handelman G, Scollin P, Tao R, et al. Antagonism of croton oil inflammation by topical emu oil in CD-1 mice. Lipids 2003; 38(6): 603-607.
27. Politis M, Dmytrowich A. Promotion of second intention wound healing by emu oil lotion: comparative results with furasin, polysporin, and cortisone. Plast Reconstr Surg 1998; 102(7): 2404-2407.
28. Whitehouse M, Rainsford K, Taylor R, Vernon-Roberts B. Zinc monoglycerolate: a slow-release source of zinc with anti-arthritic activity in rats. Agents Actions 1990; 31(1): 47-58.

Archive of SID

www.SID.ir