

ساخت و مشخصه‌یابی هیدروژل حاوی کورکومین بارگذاری شده در نانوذرات کیتوسان به عنوان زخم پوش نوین

سید احمد میرزابابایی^۱، محبوبه محمودی^{۱*}، رضیه موهبت^۲

^۱دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یزد، گروه مهندسی پزشکی، یزد، ایران.

^۲دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یزد، گروه شیمی، یزد، ایران.

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۶/۷/۲، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۶/۹/۱۸، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۶/۱۰/۱۲

چکیده در این تحقیق، نانو کمپلکس کیتوسان/کورکومین (Cs/Cr) با درصد وزنی Cr/Cs (۱:۱) (نمونه A) و Cr/Cs (۲:۱) (نمونه B) با روش کمپلکس دارو پلی ساکارید ساخته شد و در داخل هیدروژل آلژینات/کیتوسان کپسوله و مورد ارزیابی قرار گرفت. مورفولوژی سطح و گروه های عاملی موجود در روی سطح نمونه ها به ترتیب با میکروسکوپ (SEM) و FESEM و FTIR ارزیابی گردید. متوسط قطر هیدرودینامیکی نانوکمپلکس A و B با روش پراکندگی دینامیکی نور (DLS) به ترتیب در محدوده 80 nm و 45 nm و بار سطحی آن ها به ترتیب 18 mV+ و 24 mV+ محاسبه شد. برای مشخصه یابی هیدروژل حاوی نانوکمپلکس Cr/Cs، آزمون عبور بخار و آزمون درصد تورم در محلول بافر فسفات انجام گرفت. نتایج نشان داد، هیدروژل حاوی نانوکمپلکس B دارای میزان تورم و عبور بخار به ترتیب ۲۰۴۹٪ و 2300 g/m²/day می باشد که می تواند محیط ترمیم مرطوب را در محل زخم ایجاد نماید. هم چنین، برای سنجش رهائش کورکومین از نانوکمپلکس ها، مطالعات رهائش در *in vitro* با روش HPLC که رهائش آهسته بدون رهائش انفجاری را نشان داد، انجام گرفت. سپس جهت بررسی مکانیزم رهائش کورکومین از نانوکمپلکس ها، نتایج حاصل از آزمون رهائش دارو با مدل کورسمایر پیاس تطبیق داده شد. هم چنین، میزان کپسوله شدن کورکومین در نانوکمپلکس ۸۰٪ محاسبه گردید که نشان دهنده بارگذاری بالای کورکومین در نانوکمپلکس می باشد. در نهایت، توسط آزمون سمیت سلولی (MTT)، میزان تکثیر و زنده مانگی سلول های فیروبلاست (L929) بر روی سطح نانو کمپلکس بررسی گردید و نتایج هیچ گونه سمیت سلولی را در نانو کمپلکس نشان نداد. بنابراین، هیدروژل حاوی نانو کمپلکس کیتوسان/کورکومین می تواند کاربرد بالقوه ای را به عنوان زخم پوش برای تسریع در ترمیم زخم داشته باشد.

کلمات کلیدی: کورکومین، نانوکمپلکس، هیدروژل، رهائش دارو، کیتوسان، آلژینات.

Synthesis and Characterization of Hydrogel Loaded Curcumin Encapsulated Chitosan Nanoparticles as Novel Wound Dressing

Seyyed Ahmad Mirzababaei¹, Mahboobeh Mahmoodi^{1*}, Razieh Mohebat²

¹Islamic Azad University, Yazd Branch Department of Biomedical Engineering, Yazd, Iran.

²Islamic Azad University, Yazd Branch Department of Chemistry, Yazd, Iran.

Abstract In this study, curcumin/chitosan (Cs/Cr) nanocomplex with different weight percentages Cs/Cr (1:1) (sample A) and Cs/Cr (2:1) (sample B) by drug-poly saccharide complex method were fabricated and encapsulated into chitosan/alginate hydrogel and then the samples were evaluated. The morphology and functional group of the samples surface were evaluated via the scanning electron microscopy (SEM and FESEM) and fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), respectively. The average hydrodynamic diameter of nanocomplex A and B by the dynamic light scattering (DLS) were measured 80nm and 45 nm, respectively and their zeta potentials were obtained +18 mV and +24 mV, respectively. For characterization of Cs/Cr nano complex loaded hydrogel, the water vapour transmission rate (WVTR) and the swelling test in PBS were performed. The results indicated that hydrogel containing nanocomplex B with high absorbing fluids (2049%) and good WVTR (2300 g/m²/day) can be suitable for creating a wet environment for wound healing. Also, *in vitro* release studies by HPLC method was performed for evaluation of curcumin release from nano complex and the results showed a sustained release without initial burst release. To study the release mechanism of curcumin from nanocomplex, data obtained from release test were fitted to Korsmeyer-Peppas kinetics model. Also, the encapsulation efficiency of curcumin in nanocomplex was measured 80% that the results indicated a high curcumin loading in nanocomplex. Finally, the viability and proliferation of fibroblast cell line (L929) on nano complex surface was evaluated by MTT assay and the results did not showed any cytotoxicity. Therefore, the hydrogel containing Cs/Cr nano complex can be a good choice as wound dressing for rapid healing.

Keywords: Curcumin, Nano-Complex, Hydrogel, Drug Delivery System, Chitosan, Alginate.

۱- مقدمه

روند ترمیم زخم ایجاد می‌کند. کاربرد زخم‌پوش با خواص آنتی‌اکسیدان می‌تواند بر ROS تأثیر بگذارد و سرعت ترمیم زخم را افزایش دهد [۵].

در مطالعات اخیر مشاهده شده است که هیچ ماده‌ای به تنهایی نمی‌تواند تمام نیازهای مراحل بهبود زخم را فراهم کند. اما پانسمان‌های ساخته شده از ترکیب چند بیومواد با خواص مطلوب می‌توانند به‌عنوان زخم‌پوش ایده‌آل به‌کار برده شوند [۴]. ترکیب‌های هیدروژلی این ویژگی را دارند که با جذب مایعات زخم، محیط ترمیم مرطوب را برای زخم ایجاد کنند. همچنین این پانسمان‌ها به دلیل داشتن شفافیت، امکان مشاهدات عینی بهتر را بر روند درمان زخم ایفا می‌کنند [۳]. هیدروژل‌های قابل تزریق فاقد مواد جامد هستند و این توانایی را دارند که تا ۹۰٪ ترشحات در محل را جذب کنند. به‌طور عمده هیدروژل‌ها به‌عنوان داربست دائمی در محل زخم بدون نیاز به تعویض می‌باشند [۶]. هیدروژل‌های قابل تزریق در محل شکل می‌گیرند و در مقایسه با پانسمان‌های از پیش شکل گرفته، می‌توانند انطباق کامل و سطحی بدون چین و چروک را در محل زخم ایجاد کنند [۳].

کیتوسان (Cs) یک پلی‌ساکارید نیمه‌بلورین است که توسط استیل‌زدایی کیتین حاصل می‌گردد. این بیوماده به دلیل دارا بودن خواص مطلوب به‌طور گسترده در زمینه پزشکی و دارویی مورد استفاده قرار گرفته است [۷]. پانسمان‌های حاوی کیتوسان دارای ویژگی‌های مطلوبی مانند هموستاز، آنتی‌باکتریال، زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری می‌باشند [۸]. باید توجه داشت کاربرد آن‌ها به صورت هیدروژل کیتوسان در پانسمان‌ها سبب افزایش سرعت ترمیم، ایجاد محیط مرطوب و محافظت بهتر از زخم می‌گردد [۴]. کیتوسان باعث افزایش سرعت تولید کلاژن در محل زخم و در نتیجه افزایش سرعت ترمیم زخم می‌شود. هم‌چنین گلوکوزامین موجود در کیتوسان باعث تولید سیتوکین، افزایش ترشح ماکروفاژها و تحریک رشد و تکثیر فیبروبلاست و کلاژن گردیده و در نهایت عوامل نامبرده ترمیم زخم را تسریع می‌دهند [۵].

آلژینات یک نوع پلی‌ساکارید خطی می‌باشد که از جلبک‌های دریایی استخراج می‌گردد و به دلیل دارا بودن خواص مناسب باعث کاربردهای وسیع آن در زمینه پزشکی شده است [۶]. پانسمان‌های هیدروژلی برپایه آلژینات سبب

التیام زخم یک فرآیند پیچیده است که در نتیجه انقباض و بسته شدن بافت‌های آسیب‌دیده و بازسازی عملکرد محافظتی پوست صورت می‌گیرد [۱]. پانسمان‌ها با ایجاد موادی در سطح زخم باعث تسریع در روند ترمیم زخم‌ها می‌شوند. پانسمان‌های خشک (سستی) یا پانسمان اسموتیک که در کشورهای جهان سوم خیلی رایج است بسیاری از ویژگی‌های یک پانسمان ایده‌آل را ندارند و در محل زخم، ذراتی را به‌جای می‌گذارند. این پانسمان‌ها به بستر زخم چسبیده و آن را خشک و دهیدراته می‌کنند که نیاز به تعویض مکرر و مراقبت پرستاری ماهرانه دارند. این پانسمان‌ها نباید به‌طور مستقیم روی سطح مرطوب زخم گذاشته شوند و استفاده از آنها محدود به شرایطی است که زخم خشک و تمیز بوده و یا فقط به عنوان پانسمان ثانویه استفاده شوند. علاوه بر این در پانسمان‌های خشک، تبخیر آب باعث سردی محل زخم می‌شود که التیام زخم را کندتر می‌کند. مطالعات چند دهه اخیر نشان داده است، التیام و ترمیم زخم، زمانی‌که از یک پانسمان نگه‌دارنده رطوبت استفاده می‌شود، بسیار سریع‌تر از زمانی است که یک پانسمان خشک به‌کار برده می‌شود [۲].

پانسمان‌های مرطوب (مدرن) با ایجاد محیط مرطوب و حفظ حرارت در محیط زخم باعث افزایش سرعت ترمیم و تشکیل بافت گرانوله می‌شوند [۳]. پانسمان ایده‌آل با جذب ترشحات انتهایی اضافی و عبور بخار مناسب، محیط ترمیم مرطوب را برای زخم ایجاد می‌کند. هم‌چنین دارای خواص آنتی‌باکتریال، آنتی‌اکسیدان، زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیر و جدا شدن آسان از سطح زخم بدون ایجاد آسیب به بافت می‌باشد [۴]. زخم‌پوش‌ها باید چسبندگی مناسب را در محل زخم ایجاد کنند، به‌طوری‌که هیچ‌گونه منطقه بدون چسبندگی در محل وجود نداشته باشد. زیرا مناطق بدون چسبندگی، محل مناسبی برای تجمع مایعات و تکثیر باکتری‌ها می‌باشند [۳]. حضور اکسیژن فعال (ROS) در محل زخم و در بافت آسیب دیده باعث ایجاد تنش اکسیداتیو^۲ می‌شود که این تنش سبب تخریب DNA و غیرفعال شدن آنزیم‌های از بین‌برنده رادیکال‌های آزاد می‌گردد. بنابراین وجود ROS اثرات نامطلوب بر

¹Reactive Oxygen Species
²Oxidative Stress

نانوکمپلکس حاوی کورکومین در هیدروژل کیتوسان/ آلژینات بار گذاری گردید. سپس نانوکمپلکس و هیدروژل حاوی نانوکمپلکس توسط آزمون‌های مختلف مورد ارزیابی، مشخصه‌یابی و مقایسه قرار گرفت.

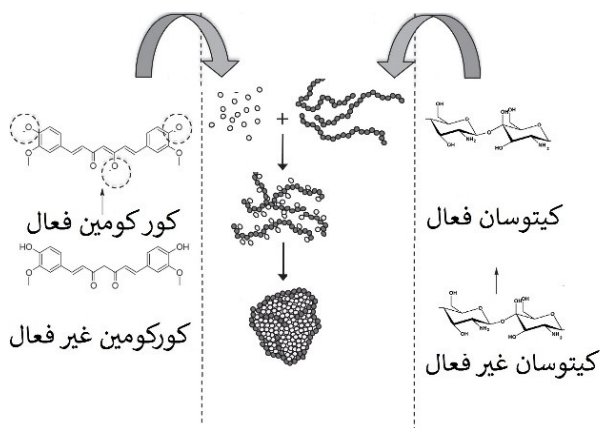
۲- روش تحقیق

۲-۱ مواد

کیتوسان با وزن ملکولی متوسط از شرکت سیگماآلدریج آمریکا خریداری شد. کورکومین با خلوص ۹۵٪، آلژینات با خلوص ۹۹٪، اسید استیک ۱۰۰٪ و هیدروکسیدپتاسیم از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

۲-۲ سنتز نانو کمپلکس کیتوسان/ کورکومین

نانوکیتوسان حاوی کورکومین (Cs/Cr) برای نمونه A با نسبت (۱:۱) Cs/Cr و نمونه B با نسبت (۲:۱) Cs/Cr با روش دارو- پلی ساکاریدی ساخته شد [۱۰]. شماتیک مراحل سنتز در شکل ۱ مشاهده می‌شود.



شکل ۱. شماتیک مراحل سنتز نانوکمپلکس.

برای ساخت نمونه A، ابتدا ۵ mg کورکومین و ۱۰ mg کیتوسان به‌طور جداگانه در محلول آبی حل گردید. سپس محلول‌های آماده شده توسط ورتکس مخلوط و در حمام التراسونیک (FALC -LBS14,5L ایتالیا) قرار داده شد. در مرحله بعد، محلول حاصل در داخل دستگاه سانتریفیوژ (مدل Z36HK شرکت HERMLE - آلمان) در شرایط ۱۴۰۰ دور و دمای چهار درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان ۲۵ دقیقه قرار داده شد. پس از آن نمونه‌ها برای مدت زمان ۴۸ ساعت در دستگاه فریزدرایر (OPERON CO., -8606 FDO-کره) در

تحریک ترشح مونوسیت‌ها و افزایش ترشح اینترلوکین-۶ در محل زخم و در نهایت باعث افزایش سرعت بهبود زخم می‌گردند. این نوع پانسمان‌ها به دلیل دارا بودن اندوتوکسین، باعث ترشح سیتوکین در محل زخم و افزایش فعالیت‌های التهابی زخم در جهت بهبود سریع زخم می‌شوند [۳]. در تحقیقات اخیر در مورد پانسمان‌های هیدروژلی حاوی آلژینات مشاهده شده است که این نوع پانسمان‌ها به‌عنوان زخم‌پوش دارای خواص مهم شامل جذب آب و ترشحات در محل زخم، عبور بخار، خواص ضدآنتی‌باکتریال و زیست‌تخریب‌پذیری مناسب می‌باشند.

کورکومین، رنگ‌دانه زرد استخراج شده از ریزوم (ریشه) زردچوبه می‌باشد که به‌طور گسترده برای درمان انواع بیماری‌های التهابی در طب سنتی به‌کار برده می‌شود [۹]. نقش کورکومین در ترمیم زخم، تحریک ترشح فاکتور رشد TGF- β 1 (فاکتور بسیار مؤثر در بهبود سریع زخم) در محل زخم می‌باشد [۱۰]. هم‌چنین در دو دهه گذشته مطالعات گسترده‌ای بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی موضعی کورکومین برای درمان زخم‌ها انجام گرفته است و نتایج حاکی از آن است که کورکومین باعث کاهش تنش اکسیداتیو در محل زخم و در نهایت بهبود زخم می‌گردد. اما با وجود پتانسیل درمانی عالی کورکومین به دلیل فراهمی زیستی پایین، ناپایداری کورکومین در شرایط خشی و قلبیایی و حلالیت پایین آن در آب و مایعات بدن، برای کاربردهای پزشکی زیاد به‌کار برده نشده است. کورکومین در دسته‌بندی داروهای زیستی در کلاس چهار داروهای مولکولی^۲ (BCS) طبقه‌بندی شده است [۱۱]. به منظور برطرف کردن عیوب مذکور، چندین راهبرد از جمله کاربرد کورکومین به صورت نانوذرات جهت افزایش حلالیت آن، کپسوله کردن کورکومین در حامل‌های پلیمری [۱۲]، استفاده از میسل‌ها [۱۳]، مواد لیپیدی [۱۴] و لیپوزوم‌ها [۱۵] مورد تحقیق و بررسی قرار گرفته است.

بنابراین با توجه به پیچیدگی‌های روش‌های به‌کار برده شده، بارگذاری کم کورکومین و هزینه‌های تولید [۱۱] در این تحقیق جهت رهایش کنترل شده کورکومین، نانوکمپلکس کیتوسان/کورکومین با روش دارو- پلی ساکاریدی ساخته شد و

¹Transforming Growth Factor 1

²Biopharmaceutics Classification System

مخصوص دستگاه منتقل گردید و توسط اندازه‌گیری میزان تفرق الکترون بازتاب شده، متوسط قطر و میزان بار سطحی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

۲-۴-۳ طیف نگاری مادون قرمز تبدیل فوری

شناسایی گروه‌های عاملی و پیوندهای تشکیل شده در نمونه‌ها توسط طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوری (FTIR) (Shimadzu-IR 470) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای انجام این آزمون نانوکمپلکس‌های A و B با KBr خالص مخلوط (با نسبت ۱/۱۰۰ KBr/نمونه) آسیاب شدند و به صورت قرص نازک شکل‌دهی شد. سپس توسط دستگاه FTIR قله‌های جذب پرتو IR در عددموج‌هایی در محدوده 4000 cm^{-1} -۴۰۰ مشاهده و نوع پیوندها با بررسی باند جذبی مشخص گردید.

۲-۴-۴ آزمون تورم هیدروژل

آزمون تورم به منظور برآورد قدرت جذب و قابلیت تورم هیدروژل کیتوسان/ آلژینات انجام گرفت. ابتدا وزن نمونه اولیه توسط ترازو دیجیتالی (Startorius) مدل CP324S با دقت 0.0001 گرم) اندازه‌گیری گردید. سپس فیلم هیدروژل در داخل 15 ml محلول بافر نمکی فسفات (PBS) در دمای $37\text{ }^\circ\text{C}$ قرار داده شد. جهت محاسبه نرخ تورم نمونه در بازه‌های زمانی ۵ تا ۱۰ دقیقه از محلول PBS خارج گردید و آب سطحی آن از طریق کاغذ صافی گرفته و پس از به حالت تعادل رسیدن، نمونه توزین شد. میزان جذب آب یا نرخ تورم (Sw) نمونه‌ها از طریق فرمول (۱) محاسبه گردید [۴].

$$Sw = (W_s - W_0)/W_0 \quad \text{معادله (۱)}$$

در این فرمول W_0 وزن نمونه‌ها در حالت خشک و W_s وزن نمونه‌ها در حالت تر پس از جذب آب می‌باشد.

۲-۴-۵ بررسی عبور بخار آب از هیدروژل

برای انجام این آزمون، دیسکی به قطر 2.5 cm از نمونه هیدروژلی جدا گردید و بر روی دهانه لوله آزمایش با قطر 2 cm که حاوی 15 ml آب دوبار تقطیر بود ثابت شد. در این آزمون یک لوله آزمایش حاوی 15 ml آب دوبار تقطیر بدون درپوش به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. ابتدا هر دو لوله آزمایش به همراه آب و نمونه ثابت شده وزن شدند. سپس

دمای 80 - درجه سانتی‌گراد خشک و به پودر تبدیل شدند.

۲-۳ سنتز هیدروژل حاوی نانوکمپلکس

جهت تهیه هیدروژل کیتوسان/ آلژینات از روش اختلاط حلال استفاده شد [۳]. ابتدا محلول‌های آبی کیتوسان و آلژینات به ترتیب با غلظت‌های 40 mg/ml و 60 mg/ml به صورت جداگانه آماده گردید. سپس برای تهیه هیدروژل بدون نانوکمپلکس دو محلول کیتوسان و آلژینات با هم مخلوط و در دستگاه آون (MEMMERT-IPP55Plus-آلمان) به مدت پنج دقیقه در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به فیلم تبدیل گردید. هیدروژل کیتوسان/ آلژینات بدون نانوکمپلکس به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. در مرحله بعد، جهت بارگذاری نانو کمپلکس‌های A و B در هیدروژل ساخته شده، 5 mg نانو کمپلکس A و B هر کدام جداگانه به محلول آبی کیتوسان 40 mg/ml اضافه و سپس با محلول آبی آلژینات 60 mg/ml مخلوط گردید.

۲-۴-۴ مشخصه یابی نمونه‌ها

۲-۴-۱ بررسی مورفولوژی نمونه‌ها

به منظور مطالعه ریزساختار و مورفولوژی سطح نانوکمپلکس‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (چک) (SEM, VEGA II, Tescan) استفاده گردید. برای آماده‌سازی، ابتدا 16 mg از نانوکمپلکس‌های A و B در آب دوبار تقطیر رقیق و بر روی صفحات آلومینیومی قرار داده شد. کل سطح آن‌ها توسط لایه بسیار نازکی از طلا پوشش داده شد و برای تصویربرداری در دستگاه SEM قرار گرفت. سپس، تصاویر با نرم‌افزار Image J ارزیابی گردید. همچنین، جهت بررسی مورفولوژی سطح هیدروژل‌ها، فیلم‌هایی در ابعاد $1 \times 1\text{ cm}$ تهیه و با لایه‌ای نازک از طلا پوشش‌دهی شد. سپس، با میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM)، (MIRA3 TESCAN چک) تصویربرداری انجام گرفت.

۲-۴-۲ اندازه‌گیری قطرذرات و بار سطحی نمونه‌ها

قطر هیدرودینامیکی و بار سطحی نانوکمپلکس‌های A و B با روش پراکندگی دینامیکی نور (DLS) (COR DOOUAN فرانسه) اندازه‌گیری شد. برای انجام این آزمایش، ابتدا نانوکمپلکس‌ها در آب دوبار تقطیر رقیق و به کوت

انجام گرفت. سپس نمونه برداری تا نه روز ادامه یافت. باید توجه داشت که در هر بار نمونه برداری مقدار ۱ ml از محلول PBS حاوی دارو خارج و همان حجم PBS جدید به محتویات ارلن اضافه می‌گردد. سپس با دستگاه HPLC میزان غلظت رهائش کورکومین از نمونه‌ها در زمان‌های متفاوت اندازه‌گیری شد و مقدار درصد رهائش کورکومین با معادله (۳) محاسبه گردید [۱۵].

$$\text{معادله (۳)} \quad 100 \times \frac{\text{غلظت داروی رها شده}}{\text{غلظت داروی اولیه}} = \text{درصد رهائش دارو}$$

الگوی رهائش کورکومین با مدل کورسمایر- پیاس مطابق با معادله ۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \text{معادله (۴)}$$

در این معادله K ثابت رهائش، مقدار داروی آزاد

شده در زمان t و n سازوکار نفوذ می‌باشد [۱۷].

۶-۲ آزمون کشت سلول (In vitro)

برای انجام کشت سلولی و بررسی درصد زنده‌مانی سلول‌ها بر روی سطح نانوکمپلکس B از رده سلول‌های فیبرو بلاست دم موش (L۹۲۹) تهیه شده از بانک سلولی پژوهشکده رویان یزد استفاده شد. سلول‌های فریز شده به محیط کشت حاوی DMEM/F12، ۱۰٪ سرم جنین گاوی^۱ و ۲۰۰ μl از محلول Pen Strep^۲ اضافه و در فلاسک کشت سلول ریخته شد. سپس فلاسک در انکوباتور با شرایط ۵٪ گاز CO₂ و ۹۸٪ رطوبت قرار داده شد. پس از دو بار پاساژ، از سلول‌ها جهت انجام آزمایش‌ها بر روی نمونه‌ها استفاده گردید.

۱-۶-۲ بررسی میزان سمیت سلولی نمونه‌ها

نمونه‌ها در غلظت‌های ۱ mg/ml، ۰٫۰۰۱، ۰٫۰۰۵، ۰٫۰۵ و ۰٫۵ آماده و سپس با دستگاه اتوکلاو به مدت یک روز استریل شدند. برای انجام آزمون In vitro در ظروف کشت پلی‌استایرن ۹۶ خانه تعداد ۱۰۰۰۰ cell/well سلول در چاهک‌ها ریخته شد. در این آزمون، ظرف کشت سلول بدون نمونه و حاوی همین تعداد سلول به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. جهت رشد و تکثیر سلول‌ها، نمونه‌های نانوکمپلکس دو

نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ °C و رطوبت ۴۰٪ قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت دوباره نمونه‌ها توزین گردید. سپس از طریق فرمول (۲) میزان عبور بخار آب (WVTR) برحسب گرم بر میلی‌متر مربع بر ساعت برای نمونه‌ها محاسبه گردید [۳].

$$\text{معادله (۲)} \quad WVTR = \frac{W_i - W_f}{24A} \times 10^6$$

به طوری که در این رابطه W_i وزن اولیه سیستم (لوله آزمایش، آب و فیلم هیدروژلی)، W_f وزن نهایی سیستم پس از کاهش و A مساحت دهانه بطری می‌باشد.

۵-۲ آزمون رهائش دارو

اندازه‌گیری میزان بارگذاری و رهائش کورکومین از نانوکمپلکس‌ها از روش طیف‌سنجی کروماتوگرافی مایع (HPLC) استفاده شد.

۱-۵-۲ اندازه‌گیری درصد بارگذاری مؤثر کورکومین

به منظور تعیین درصد بارگذاری کورکومین در نانو کمپلکس B، ابتدا ۵ mg از نانوکمپلکس را در ۲ ml محلول حامل که از محلول آبی اتانول و اسید استیک تشکیل شده است، حل نموده و محلول حاصل به مدت یک دقیقه و با میزان ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ می‌گردد. سپس محلول رویی به دستگاه HPLC (KNAUER-آلمان) با ستون C18 تزریق و میزان جذب کورکومین قرائت می‌گردد [۱۶].

۲-۵-۲ اندازه‌گیری رهائش و بررسی سازوکار رهائش کورکومین

برای اندازه‌گیری میزان رهائش کورکومین از نانو کمپلکس B، ابتدا ۵ mg از نانوکمپلکس و دایره‌هایی با قطر cm ۵ از هیدروژل حاوی نانوکمپلکس A و B تهیه و هر کدام جداگانه داخل کیسه دیالیز فعال شده (۱۲۴۰۰ MWCO - سیگما آلدریج امریکا) در ارلن حاوی ۵ ml محلول PBS قرار داده شد. ارلن حاوی نمونه‌ها به مدت ۱۰ روز بر روی شیکر با دور ۱۰۰ rpm در انکوباتور با دمای ۳۷ °C قرار گرفت و نمونه‌برداری در بازه‌های زمانی مشخص انجام گرفت. نمونه برداری در روز اول، در ۳۰ دقیقه اول در هر ۱۰ دقیقه یکبار و پس از آن سه نمونه با فاصله زمانی ۳۰ دقیقه، دو نمونه با فاصله زمانی یک ساعت و دو نمونه با فاصله زمانی دو ساعت

¹ Calf serum Newborn

² Penicillin-Streptomycin

میزان چسبندگی و ایجاد قابلیت جذب مناسب ترشحات، مانع از چسبندگی بیش از حد زخم‌پوش به بافت می‌گردد. بنابراین زخم‌پوش حاوی کیتوسان و آلژینات می‌تواند با ایجاد محیط ترمیم مرطوب و چسبندگی مناسب به بافت آسیب دیده، مانع از ایجاد تجمع و کلونی باکتری‌ها شده و در هنگام جداسازی از بافت کمترین میزان آسیب ثانویه را ایجاد کند [۳].

۳-۱ بررسی ریز ساختار و مورفولوژی سطح نمونه ها

شکل ۲ مورفولوژی سطح نانوکمپلکس A و B را نشان می‌دهد. با توجه به تصاویر می‌توان متوسط اندازه نانوکمپلکس A و B را به ترتیب به‌طور تقریبی در محدوده ۸۰ nm و ۴۵ nm تعیین کرد. تصاویر SEM نشان می‌دهند که سطح هر دو نانوکمپلکس A و B به‌طور تقریبی صاف می‌باشد که این نشان‌دهنده ایجاد پیوند و سازگاری مناسب بین مولکول‌های کیتوسان و کورکومین می‌باشد. نانوکمپلکس A نسبت به نانوکمپلکس B دارای اندازه ذرات بزرگتری می‌باشد. علت افزایش اندازه ذرات در نانوکمپلکس A به دلیل کاهش میزان کیتوسان موجود در محلول می‌باشد که باعث افزایش غلظت بحرانی آن شده است. همچنین تصاویر SEM نشان می‌دهند که میزان کیتوسان واکنش نداده در نمونه B بیشتر از نمونه A می‌باشد. آگلومره شدن کیتوسان بر روی نانوکمپلکس B، باعث افزایش پایداری نانوکمپلکس B در مقایسه با نمونه A می‌شود [۱۸، ۱۴].

کیتوسان و آلژینات از نوع پلیمرهای پلی‌ساکاریدی می‌باشند که قابلیت زیادی در ایجاد پیوند هیدروژنی دارند. بنابراین با توجه به بار الکتریکی مختلف این دو ماده (کیتوسان با بار مثبت و آلژینات با بار منفی) اتصال قوی الکترواستاتیکی بین این دو ماده ایجاد می‌گردد. شکل ۳ مورفولوژی سطح هیدروژل حاوی نانوکمپلکس B را نشان می‌دهد. در زخم‌پوش هیدروژلی، سطح متخلخل که در اثر خروج رطوبت از داخل فیلم در حین خشک شدن آنها به‌وجود آمده است، مشاهده می‌گردد. این منافذ باعث افزایش سرعت تورم و تخریب هیدروژل می‌گردند و عبور بخار مناسب در زخم‌پوش را ایجاد می‌کنند. همچنین بر روی سطح هیدروژل، حضور نانوذرات کیتوسان حاوی کورکومین که به‌طور یکنواخت بدون آگلومره شدن در تمام سطح پراکنده شده‌اند، مشاهده می‌گردد.

روز داخل انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و تحت اتمسفر ۵٪ CO₂ قرار گرفتند. پس از پایان یافتن زمان کشت، محیط کشت رویی خالی شد و نمونه‌ها دو بار به مدت ۲۰ دقیقه توسط PBS شسته شدند. سپس محیط کشت قبلی با محیط کشت حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاو (FBS) جایگزین شد. در مرحله بعد، میزان تکثیر و زنده‌مانی سلول‌های L929 بر روی سطح نمونه‌ها توسط آزمون MTT^۱ مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا ۱۰۰ μl محلول ۰٫۰۵ mg/ml نمک تترازولیوم بروماید (محلول MTT) به محیط کشت حاوی نمونه‌ها و نمونه کنترل اضافه شد و به مدت چهار ساعت داخل انکوباتور (دمای ۳۷ °C و ۵٪ گاز CO₂) قرار گرفت. در اثر افزودن محلول MTT، کریستال‌های نامحلول فرمازون بر روی سلول‌ها زنده ایجاد شد. سپس جهت حل کردن این کریستال‌ها و تغییر رنگ محیط کشت، ۵۰۰ μl محلول حاوی HCl ۰٫۱ و ایزوپروپانال به محیط کشت اضافه شد و به مدت یک روز داخل انکوباتور قرار گرفت. در نهایت محیط کشت رنگی به داخل ظرف کشت ۹۶ خانه منتقل گردید و ظرف کشت به مدت ۲۰ دقیقه داخل شیکر دستگاه الیزاید (پیش‌تازیب مدل Avecina) قرار داده شد و میزان جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد [۱۴].

۲-۷ ارزیابی آماری

مقایسه آماری داده‌های به دست آمده توسط روش t-student انجام شد. تعداد تکرار برای آزمون‌های ۳ در نظر گرفته شده و نتایج به صورت میانگین ± انحراف از معیار گزارش شده است.

۳- نتایج و بحث

در این تحقیق با ساخت هیدروژل آلژینات/ کیتوسان حاوی نانوکمپلکس کیتوسان- کورکومین، زخم‌پوش مناسب جهت ترمیم سریع انواع زخم‌ها با قابلیت چسبندگی مناسب با توجه به بیومواد به‌کار برده شده، تهیه گردید. حضور کیتوسان میزان چسبندگی زخم‌پوش به بافت را افزایش می‌دهد و حضور آلژینات در کنار کیتوسان در داخل زخم‌پوش با کاهش

¹Methyl Thiazol Tetrazolium

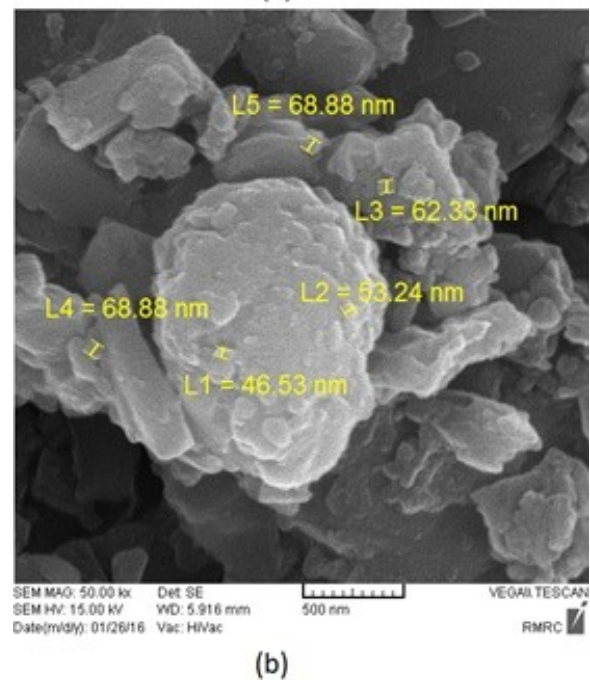
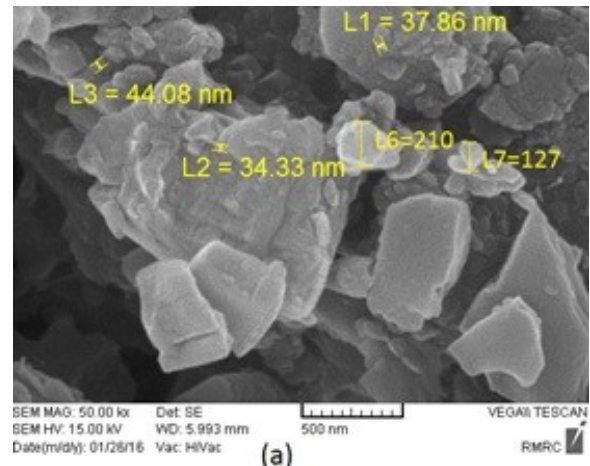
شکل ۲ نانوذرات کیتوسان حاوی کورکومین به طور کامل آگلومره شده‌اند ولی نانوکمپلکس‌ها در هیدروژل بدون کلوخه شدن می‌باشند. چون بارهای همنام در نانوکمپلکس و هیدروژل که هر دو دارای کیتوسان می‌باشند، سبب پراکنده شدن نانوکمپلکس‌ها می‌گردد.

۲-۳ بررسی قطر و بار سطحی نمونه‌ها

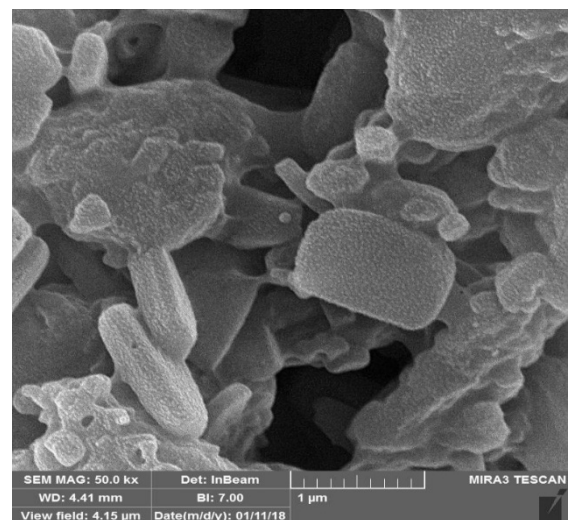
توسط دستگاه DLS بار سطحی نانوکمپلکس A و B به ترتیب در محدوده $+18$ mV و $+24$ mV اندازه‌گیری شد. کیتوسان خالص و کورکومین به ترتیب دارای بار سطحی -40 mV و $+57$ mV می‌باشند. بنابراین هر چقدر میزان کیتوسان در سطح نانوکمپلکس بیشتر و کورکومین در مرکز آن بیشتر قرار داشته باشد، بار سطحی نانوکمپلکس مثبت‌تر می‌گردد. افزایش بار سطحی نمونه B نسبت به نمونه A به دلیل افزایش میزان رسوب کیتوسان واکنش نداده بر روی سطح نانوکمپلکس می‌باشد [۱۰]. اندازه ذرات نمونه A و B به ترتیب در محدوده 80 nm و 45 nm می‌باشد. بنابراین، تصاویر SEM با نتایج اندازه ذرات با روش DLS مطابقت دارد.

۳-۳ بررسی نتایج طیف نگاری تبدیل فوریه

در شکل ۴ طیف FTIR کیتوسان، کورکومین و نانو کمپلکس B در محدوده عدد موج $4000-400$ cm^{-1} مشاهده می‌گردد. پیک ارتعاشی ظاهر شده در 3449 Cm^{-1} معرف هیدروکسیل (OH) و آمین (NH) در کیتوسان می‌باشد [۱۹]. باند جذبی در عدد موج 2925 cm^{-1} معرف گروه عاملی (NH_3^+) و باندهای جذبی در 1649 cm^{-1} ، 1285 cm^{-1} و 1149 cm^{-1} به ترتیب به گروه‌های (CH)، (C-N)، (C-)، (CH₃) و (C) در کیتوسان مرتبط می‌باشند [۲۰]. باند ارتعاشی ظاهر شده در عدد موج‌های 3515 و 2850 cm^{-1} معرف هیدروکسیل (OH) و (CH) می‌باشد [۱۲]. همچنین باند جذبی موجود در 1625 ، 1604 ، 1429 و 860 cm^{-1} مرتبط به (C ring-OH)، (C=C ring)، (C=O ring) و (C ring-O-CH₃) و باندهای مشاهده شده در محدوده عدد موج‌های $959-713$ cm^{-1} منسوب به لغزش ترانس و سیس (CH ring) می‌باشند. باند رویت شده در 1281 cm^{-1} معرف (C=O) انول و باند جذبی ظاهر شده در 1149 cm^{-1} معرف گروه (CH) در شاخه فرعی و پیک 1508 cm^{-1} و ارتعاش ظاهر شده در 1026 cm^{-1}



شکل ۲. تصاویر SEM نانو کمپلکس (a) نمونه A، (b) نمونه B.

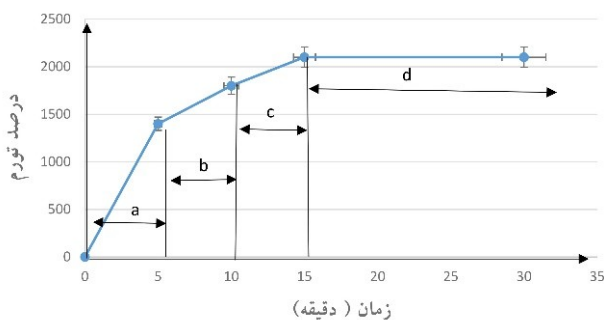


شکل ۳. تصویر FESEM هیدروژل حاوی نانو کمپلکس B.

اندازه ذرات در تصویر FESEM کمتر از 50 nm می

باشد که نشان دهنده کلوخه نشدن ذرات می‌باشد. در تصاویر

به داخل نمونه هیدروژلی می‌باشد. در قسمت b جذب محلول و تورم هیدروژل هم‌چنان ادامه می‌یابد به طوری که وزن نمونه پس از ۱۰ دقیقه از شروع آزمون به طور تقریبی به ۱۸ برابر وزن اولیه می‌رسد. ولی شیب نمودار نسبت به منطقه a کاهش می‌یابد که به دلیل شروع تخریب پیوند می‌باشد. در قسمت c نیز جذب و تورم ادامه می‌یابد ولی شیب نمودار به تدریج کاهش می‌یابد و بعد از گذشت ۱۵ دقیقه وزن نمونه ۲۱ برابر وزن اولیه می‌گردد. درصد تورم به دلیل هم‌پوشانی گروه‌های OH موجود در نمونه و ادامه تخریب نمونه هیدروژلی به حداکثر می‌رسد. در منطقه d درصد تورم نمونه ثابت می‌گردد و با وجود ادامه یافتن تخریب، کاهش وزن حتی پس از گذشت ۱۸۰ دقیقه در نمونه مشاهده نمی‌گردد. بنابراین نتایج حاکی از قدرت تورم عالی نمونه در اثر شکسته شدن تدریجی ساختار فشرده نمونه هیدروژلی و نفوذ محلول به این بخش‌ها و پرشدن این قسمت‌ها می‌باشد [۳ و ۴].

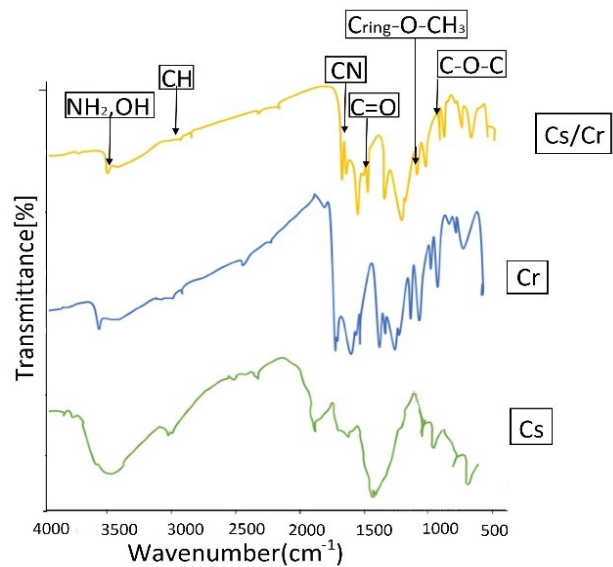


شکل ۵. نمودار درصد تورم هیدروژل B در محلول PBS.

۳-۵ بررسی عبور بخار

با توجه به این‌که زخم‌پوش جایگزین موقت پوست می‌باشد عبور بخار یکی از ویژگی‌های مهم یک زخم‌پوش ایده‌آل به‌شمار می‌آید. ایجاد شرایط عبور بخار و نفوذپذیری مناسب نسبت به اکسیژن باعث افزایش سرعت ترمیم زخم و کاهش میزان تشکیل بافت اسکار باقی‌مانده در سطح زخم می‌گردد. چنان‌چه میزان عبور بخار زخم‌پوش کم باشد امکان تبخیر و خروج ترشحات اضافی از داخل زخم‌پوش کاهش می‌یابد بنابراین انباشته شدن عفونت و تجمع باکتری در محل زخم کاهش می‌یابد و التیام زخم سریع انجام می‌گیرد [۴]. باید توجه داشت که میزان عبور بخار آب از پوست سالم و بافت گرانوله ایجاد شده در محل زخم به ترتیب $2.04 \text{ g/m}^2/\text{day}$ و $2500 \text{ g/m}^2/\text{day}$ می‌باشد [۳]. در شکل ۶ میزان عبور بخار

(C-O-C) در ذرات کورکومین می‌باشند [۹ و ۱۹].



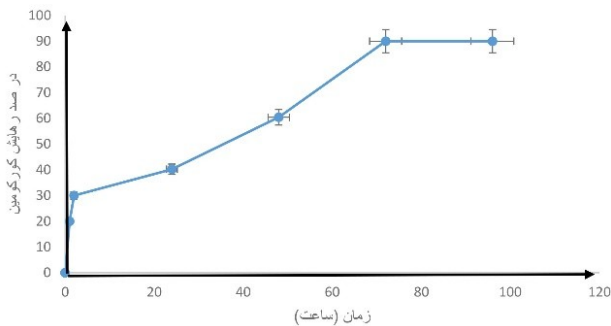
شکل ۴. طیف FTIR کیتوسان، کورکومین و نانوکمپلکس B.

حضور گروه‌های عاملی (NH_3^+) ، (C-N) و (NH) در کنار حضور گروه‌های (C ring-C=C) ، (C ring-C=O) ، (C ring-OH) و (C-O-C) ، (CH ring) ، (C ring-O-CH_3) دهنده وجود گروه‌های اصلی کورکومین و کیتوسان در نانوکمپلکس می‌باشد. هم‌چنین حضور و تغییر نوسان مشاهده شده در عدد موج مربوط به گروه‌های (C-C) ، (OH) و (CH) نسبت به طیف کورکومین و کیتوسان، وجود هر دو ماده را در نانوکمپلکس ثابت می‌کند [۱۰ و ۲۱].

۳-۴ بررسی میزان جذب آب

زخم‌پوش ایده‌آل باید به سرعت و در کمترین زمان ممکن حجم زیادی از ترشحات موجود در زخم را جذب کرده و از رشد و تجمع باکتری‌ها جلوگیری کند. به همین دلیل رفتار تورم هیدروژل B در محلول PBS مورد بررسی قرار گرفت. در شکل ۵ قدرت تورم هیدروژل در محلول PBS مشاهده می‌شود. نمودار پس از ۱۵ دقیقه به تعادل می‌رسد. به طوری درصد تورم نمونه به ۲۰۴۹٪ رسیده است. با توجه شیب نمودار تورم، نمودار به چهار قسمت با شیب و قدرت تورم مختلف تقسیم می‌گردد. در قسمت a که در پنج دقیقه اول رخ می‌دهد، شیب نمودار بسیار زیاد می‌باشد و وزن نمونه حدود ۱۴ برابر وزن اولیه می‌شود که این به دلیل تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین نمونه و محلول و نفوذ سریع محلول

میزان کورکومین کپسوله شده ۶۰٪ و میزان رهائش انفجاری اولیه بدون تغییر شیب بیش از ۶۰٪ و پس از گذشت ۶۰ ساعت ۹۰٪ کورکومین کپسوله شده رهائش یافته است، دارای رهائش کنترل شده تر و بهینه تری به عنوان زخم پوش برای ترمیم زخم می باشد [۹].

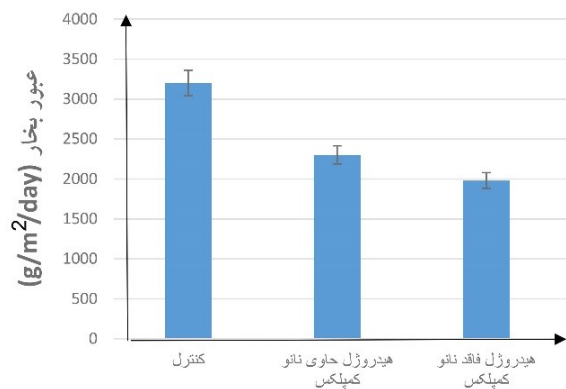


شکل ۷. درصد رهائش کورکومین از نانو کمپلکس B.

۳-۷ بررسی زیست سازگاری نمونه ها

به منظور بررسی زیست سازگاری نانو کمپلکس B از روش MTT استفاده شد. لازم به توضیح می باشد که با توجه به نتایج آزمون های انجام شده بر روی نمونه ها، نانو کمپلکس B به عنوان نمونه های بهینه در آزمون سمیت سلولی مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل ۸ نتایج آزمون MTT برای غلظت های مختلف نانو کمپلکس B را نشان می دهد. تکثیر سلول های L929 در غلظت های کم نانو کمپلکس B (غلظت های ۰/۰۰۰۱ mg/ml و ۰/۰۰۰۵ mg/ml) هیچ گونه سمیتی مشاهده نگردید و شاهد افزایش میزان زنده مانده سلول ها در مجاورت این غلظت ها هستیم که به دلیل تاثیر حضور کورکومین می باشد. با این حال اختلاف معنی داری بین این نمونه ها با کنترل مشاهده نگردید. با افزایش غلظت نانو کمپلکس، میزان زنده مانده سلول ها به طور قابل توجهی افزایش یافته است. بدین صورت که میزان زنده مانده سلول در نمونه با غلظت ۰/۰۵ mg/ml به ۱۴۰٪، ۰/۵ mg/ml به ۴۱۰٪ رسیده است که نشان دهنده وجود اختلاف کامل معنی دار نمونه این نمونه ها به ویژه با نمونه با غلظت ۰/۵ با نمونه کنترل می باشد که به دلیل افزایش فراهمی زیستی و رهائش کنترل شده کورکومین در طول دو روز آزمایش می باشد. بنابراین هیچ گونه سمیتی در نمونه ها حتی در غلظت های زیاد مشاهده نگردید.

نمونه هیدروژل B و هیدروژل فاقد نانو کمپلکس مشاهده می گردد. نتایج نشان داد که میزان عبور بخار از زخم پوش هیدروژل B و هیدروژل فاقد نانو کمپلکس به ترتیب برابر 2300 و 2000 $g/m^2/day$ می باشد. بنابراین با توجه به میزان عبور بخار از پوست سالم زخم پوش هیدروژلی را به عنوان زخم پوش ایده آل می توان برای ترمیم زخم به کار برد.



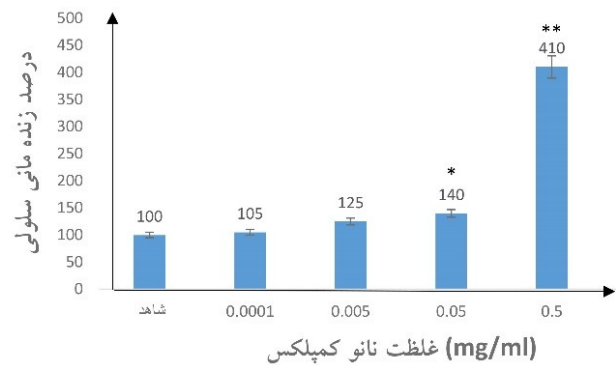
شکل ۶. میزان عبور بخار از نمونه هیدروژل B و هیدروژل فاقد نانو کمپلکس.

۳-۶ رهائش کورکومین از نانو کمپلکس B

شکل ۷ میزان درصد رهائش کورکومین در زمان های متفاوت از نانو کمپلکس B را نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود، رهائش کورکومین در چهار مرحله با شیب نمودار متفاوت رخ داده است. در مرحله اول (زمان شروع تا دو ساعت) رهائش انفجاری کم کورکومین به میزان ۲۰٪ به دلیل آزاد شدن کورکومین های چسبیده بر روی سطح نانو کمپلکس رخ می دهد. مرحله دوم در محدوده ۲ تا ۲۴ ساعت، رهائش کورکومین با شیب کم و میزان ۴۰٪ مشاهده می گردد. در این مرحله پدیده نفوذ محلول PBS در داخل نانو کمپلکس و خارج شدن و رهائش آهسته کورکومین انجام گرفته است. در مرحله سوم (در محدوده ۲۴ تا ۷۲ ساعت) شیب نمودار افزایش و میزان ۹۰٪ رهائش کورکومین به دلیل تخریب سایشی پوشش کیتوسان به دنبال پدیده نفوذ PBS مشاهده می گردد [۱۵]. در مرحله چهارم پس از گذشت ۷۲ ساعت، غلظت کورکومین در داخل و خارج نانو کمپلکس یکسان می گردد. هم چنین، میزان کپسوله شدن کورکومین در نانو کمپلکس ۸۰٪ محاسبه گردید که نشان دهنده درصد بالای بارگذاری کورکومین در نانو کمپلکس می باشد. بنابراین میزان رهائش کورکومین از نانو کمپلکس B در مقایسه با تحقیقات اخیر که

(SCOSCE): a multi-institutional collaboration to develop and validate a clinical skills assessment for melanoma, *The American Academy of Dermatology*, 73 (2015), 959-965.

- Boateng, J., Catanzano, O., Advanced therapeutic dressings for effective wound healing a review, *Pharmaceutical Sciences*, 104 (2015) 3653-3680.
- Delmar, K., Bianco-Peled, H., Composite chitosan hydrogels for extended release of hydrophobic drugs, *Carbohydrate polymers*, 136 (2016) 570-580.
- Wang, T., Zhu, X.K., Xue, X.T., Wu, D.Y., Hydrogel sheets of chitosan, honey and gelatin as burn wound dressings, *Carbohydrate Polymers*, 88 (2012) 75-83.
- Li, X., Kong, X., Zhang, Z., Nan, K., Li, L., Wang, X., Chen, H., Cytotoxicity and biocompatibility evaluation of N, O-carboxymethyl chitosan/oxidized alginate hydrogel for drug delivery application, *International Journal of Biological Macromolecules*, 50 (2012) 1299-1305.
- Li, X., Nan, K., Li, L., Zhang, Z., Chen, H., In vivo evaluation of curcumin nanoformulation loaded methoxy poly (ethylene glycol)-graft-chitosan composite film for wound healing application, *Carbohydrate Polymers*, 88 (2012) 84-90.
- Zhou, Y., Tang, R.C., Modification of curcumin with a reactive UV absorber and its dyeing and functional properties for silk, *Dyes and Pigments*, 134 (2016) 203-211.
- احمدی نسب، ن.، حسنی کومله، ح.، تیموریان، ش.، بیگ زاده، م.، کاظم زاد، م.، فرمولاسیون، مشخصه‌یابی و ارزیابی نانوذرات مزوپورسیلیکا- کیتوسان بارگذاری شده با کورسیتین به منظور دارورسانی هدفمند در درمان سرطان، مواد و فناوری‌های پیشرفته، شماره ۵ (۱۳۹۵) ۳۷-۴۴.
- Martins, A.F., Bueno, P.V., Almeida, E.A., Rodrigues, F.H., Rubira, A.F., Muniz, E.C., Characterization of N-trimethyl chitosan/alginate complexes and curcumin release, *Biological Macromolecules*, 57 (2013) 174-184.
- Parameswari, A.R., Rajalakshmi, G., Kumaradhas, P., A combined molecular docking and charge density analysis is a new approach for medicinal research to understand drug-receptor interaction: Curcumin-AChE model, *Chemico-Biological Interactions*, 225 (2015) 21-31.
- Dey, S., Sreenivasan, K., Conjugation of curcumin onto alginate enhances aqueous solubility and stability of curcumin, *Carbohydrate Polymers*, 99 (2014) 499-507.
- Nguyen, M.H., Yu, H., Kiew, T.Y., Hadinoto, K., Cost-effective alternative to nano-encapsulation: Amorphous curcumin-chitosan nanoparticle complex exhibiting high payload and supersaturation generation, *Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 96 (2015) 1-10.
- Das, R.K., Kasoju, N., Bora, U., Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells, *Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6 (2010) 153-160.
- Zhao, Y.Z., Lu, C.T., Zhang, Y., Xiao, J., Zhao, Y.P., Tian, J.L., Xu, C.Y., Selection of high efficient transdermal lipid vesicle for curcumin skin delivery, *Pharmaceutics*, 454 (2013) 302-309.
- Castangia, I., Nacher, A., Caddeo, C., Valenti, D., Fadda, A.M., Diez-Sales, O., Manconi, M., Fabrication of quercetin and curcumin bionanovesicles for the



شکل ۸ درصد زنده‌مانی سلول‌های L929 در تماس با نانوکمپلکس B با غلظت‌های متفاوت برای دو روز کشت سلول (*افزایش درصد زنده‌مانی سلول‌ها در نمونه با غلظت ۰٫۵mg/ml و ۰٫۰۵ mg/ml نسبت به سه نمونه دیگر معنی‌دار (p<0.05) بوده است).

۴ - نتیجه گیری

در این پژوهش، زخم‌پوش نوین هیدروژلی آلژینات/ کیتوسان حاوی نانوکمپلکس کیتوسان/ کورکومین با روش اختلاط حلال برای کاربرد در ترمیم زخم ساخته شد. در زخم پوش هیدروژلی از ترکیب کیتوسان و آلژینات به عنوان بستر با قابلیت ایجاد جذب مایعات و شرایط عبور بخار مناسب استفاده شد. هم‌چنین کورکومین به عنوان یک عامل طبیعی برای تسریع در روند درمان زخم به‌کار برده شد. جهت افزایش فراهمی زیستی و کنترل رهایش، کورکومین در نانوذرات کیتوسان بارگذاری گردید. نتایج مؤید آن است که افزودن نانو کمپلکس به هیدروژل باعث افزایش توانایی جذب و ایجاد شرایط عبور بخار مناسب‌تر در محدوده بافت گرانوله ایجاد شده بر روی سطح زخم می‌گردد. نتایج مطالعات سلولی نیز هیچ‌گونه سمیت سلولی را در نانوکمپلکس حتی در غلظت‌های بالا نشان نداد. بنابراین، زخم‌پوش هیدروژلی حاوی نانو کمپلکس B می‌تواند به عنوان انتخابی مناسب جهت ترمیم سریع انواع زخم‌ها به‌کار برده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از همکاری پرسنل آزمایشگاه شیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یزد تشکر و قدردانی می‌کنند.

مراجع

- Garg, A., Biello, K., Hoot, J.W., Reddy, S.B., Wilson, L., George, P., Robinson-Bostom, L., Belazarian, L., The Skin Cancer Objective Structured Clinical Examination

- prevention and rapid regeneration of full-thickness skin defects on mice, *Acta biomaterialia*, 10 (2014) 1292-1300.
16. Li, X., Chen, S., Zhang, B., Li, M., Diao, K., Zhang, Z., Li, J., Xu, Y., Wang, X., Chen, H., In situ injectable nano-composite hydrogel composed of curcumin, N, O-carboxymethyl chitosan and oxidized alginate for wound healing application, *Pharmaceutics*, 437 (2012) 110-119.
 17. Delfiya, D.A., Thangavel, K., In vitro release kinetics of spray dried curcumin-loaded egg albumin microparticles, *International Journal of Herbal Medicine*, 5(3) (2017) 45-48.
 18. Govindaraj, P., Kandasubramanian, B., Kodam, K. M., Molecular interactions and antimicrobial activity of curcumin (*Curcuma longa*) loaded polyacrylonitrile films, *Materials Chemistry and Physics*, 147 (2014) 934-941.
 19. Mohan, P.K., Sreelakshmi, G., Muraleedharan, C.V., Joseph, R., Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy, *Vibrational Spectroscopy*, 62 (2012) 77-84.
 20. Li, X., Kong, X., Shi, S., Gu, Y., Yang, L., Guo, G., Qian, Z., Biodegradable MPEG-g-Chitosan and methoxy poly (ethylene glycol)-b-poly (ϵ -caprolactone) composite films: Part 1. Preparation and characterization, *Carbohydrate Polymers*, 79 (2010) 429-436.
 21. Azad, A.K., Sermsintham, N., Chandkrachang, S., Stevens, W.F., Chitosan membrane as a wound healing dressing: characterization and clinical application, *Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 69 (2004) 216-222.