

بررسی اثر افزودن نانوذره‌های کیتوسان و داروی سدیم دیکلوفناک در پوشش تسکین درد ژلاتین / پلی‌وینیل‌الکل

شیوا فلاتی، حسین بنی‌اسدی*⁺، امیرحیدری نسب

دانشکده نفت و مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

چکیده: پوشش‌دهنده‌های معرفی شده در پژوهش حاضر دارای برتری‌هایی از جمله سازگاری با پوست، زیست تخریب‌پذیری و امکان رهایش کنترل شده دارو هستند. ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل به عنوان بستر اصلی پوشش‌دهنده و نانو کیتوسان به عنوان عامل بهبود دهنده ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی و کنترل‌کننده رهایش دارو در نظر گرفته شد، همچنین به منظور تسکین درد داروی سدیم دیکلوفناک درون بستر پلیمری بارگذاری شد. وزن کل دو پلیمر در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۵ گرم در نظر گرفته شد. نمونه‌های گوناگون شامل نسبت‌های وزنی ژلاتین به پلی‌وینیل‌الکل ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ ساخته شد. مشخصات ظاهری نمونه شامل نسبت وزنی ژلاتین به پلی‌وینیل‌الکل ۳، نسبت به نمونه‌های دیگر بهتر بود بنابراین این نسبت برای دو پلیمر در نظر گرفته شد. در ادامه درصدهای گوناگون نانو کیتوسان به بستر پلیمری اضافه شد. نتیجه‌های آزمون استحکام کششی مشخص ساخت که بیشترین استحکام در حضور ۱٪ وزنی نانو کیتوسان به دست می‌آید. سپس مقادیر گوناگون دارو به نمونه ژلاتین/پلی‌وینیل‌الکل/نانو کیتوسان اضافه شد و ویژگی‌های گوناگون نمونه‌ها با استفاده از آزمون‌های گوناگون شامل استحکام کششی، آزمون پراکنندگی نور دینامیکی، رهایش، میکروسکوپ الکترونی روبشی، تورم، تخریب‌پذیری، آزمون تخریب گرمایی مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه‌ها نشان داد که برهم‌کنش مناسب این اجزا و نیز توزیع مناسب نانوذره‌های درون نمونه‌ها ایجاد شده است. همچنین حضور نانو کیتوسان منجر به بهبود ویژگی‌های گرمایی نمونه‌ها شده است. اندازه‌گیری میزان رهایش دارو در نمونه‌ها طی مدت زمان ۸ ساعت مشخص ساخت که راندمان بارگذاری میزان داروی بهینه بالای ۹۵٪ است، میزان رهایش در زمان‌های اول با سرعت بیش‌تری بوده است. یافته‌های این پژوهش اثبات می‌کند که ترکیب ژلاتین/پلی‌وینیل‌الکل/نانو کیتوسان/داروی دیکلوفناک سدیم قابلیت استفاده به عنوان تسکین‌دهنده پوستی را دارد.

واژه‌های کلیدی: پوشش تسکین‌دهنده، ژلاتین، پلی‌وینیل‌الکل، نانو کیتوسان، دیکلوفناک سدیم، رهایش دارو.

KEYWORDS: Soothing coating, Gelatin, Polyvinyl alcohol, Nanoachitosan, Diclofenac sodium, Drug release.

مقدمه

اپیدرم^۱، درم^۲ و هیپودرم^۳ تشکیل شده‌است. سطحی‌ترین لایه پوست، اپیدرم است که از بدن انسان در برابر محیط محافظت می‌کند.

پوست عضو بسیار مهمی برای حفاظت از اندام‌های داخلی بدن در برابر عوامل خارجی است. پوست بزرگترین ارگان بدن است، که از سه لایه

+E-mail: hbaniasadi@srbiau.ac.ir

* عهده دار مکاتبات

(۱) Epidermis
(۲) Derm
(۳) Hypodermis

زمان تعویض پانسمان شد تا بهبود سریع، درد کمتر و صرفه‌جویی در هزینه شود. تقی‌زاده و همکاران [۱۳] بر روی کیتوسان و میکروذره‌های آن به عنوان حامل در سامانه‌ی دارورسانی پژوهش نمودند. در رهایش داروی دیکلوفناک سدیم از میکروذره‌ها در pH‌های نزدیک به خنثی رهایش دارو پس از گذشت مدت زمانی کامل شد. در این پژوهش نسبت پلیمر آلژینات و کیتوسان و غلظت کاتیون‌های محیط رهایش، به عنوان کنترل کننده سرعت رهایش دارو گزارش شد.

در پژوهش حاضر هدف بررسی اثر افزودن نانوذره‌های کیتوسان و داروی دیکلوفناک سدیم در پوشش تسکین درد ژلاتین/ پلی‌وینیل‌الکل است. تاکنون محققین از این بستر به عنوان زخم پوش استفاده می‌کردند که به روند بهبود زخم و ترمیم پوست کمک می‌نماید به دلیل خواص ژلاتین، پلی‌وینیل‌الکل و نانو کیتوسان برای پوست، این بستر برای رهایش داروی تسکین درد انتخاب شده است. در این پژوهش به بررسی خواص فیزیکی و مکانیکی بستر همراه با نانو کیتوسان و ماده مؤثر دیکلوفناک سدیم برای تسکین درد پرداخته شده است.

بخش تجربی

مواد

در این پژوهش از ژلاتین (دراژه)، پلی‌وینیل‌الکل (مرک) با جرم مولکولی $72000 \frac{g}{mol}$ ، پودر کیتوسان (سیگما) با جرم مولکولی $10^6 * 1/0.95 \frac{g}{mol}$ ، ماده مؤثر سدیم دیکلوفناک (شهردارو)، قرص بافر فسفات (زیست مواد فارمد)، سدیم‌تری‌پلی‌فسفات^۱ (مرک) با جرم مولکولی $367/3864 \frac{g}{mol}$ ، گلیسرول (مرک) با جرم مولکولی $92/1 \frac{g}{mol}$ ، اسید استیک (مرک) و کیسه دیالیز با سایز ۱۲ کیلو دالتون از شرکت سیگما استفاده شد. همچنین برای تمام محلول‌سازی‌ها از آب دوبر تقطیر استفاده شد.

تهیه نانو ذره‌های کیتوسان

برای تهیه نانو ذره‌های کیتوسان از روش ژل شدن یونی استفاده شد. بدین منظور مقدار ۱/۲ گرم کیتوسان در ۶۰۰ میلی لیتر اسید استیک ۱ درصد حجمی حل شد. سپس در ظرفی دیگر ۲/۴ گرم سدیم‌تری‌پلی‌فسفات در ۲۴۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و به صورت قطره قطره به محلول کیتوسان و اسید استیک اضافه شد و به مدت ۲ ساعت به وسیله همزن مغناطیسی در سرعت ۸۰۰rpm هم زده شد. محلول با پیشرفت فرایند ژل شدن یونی به تدریج به سمت کلوئیدی شدن

این لایه خود از لایه‌های گوناگون تشکیل شده است. عمقی‌ترین لایه اپیدرم، لایه بازال^۱ است. درحقیقت، این لایه محل زایش سلول‌های پوستی است که بدین سبب لایه زایا نیز نامیده می‌شود [۲،۱]. پوست بدن انسان که سطح بزرگی را اشغال می‌کند در افراد بالغ بین ۱/۵ تا ۲ متر مربع وسعت دارد. حضور رگ‌های خونی فراوان و سطح جذبی بالا در پوست، سبب تبدیل شدن این ارگان به یکی از مسیرهای مهم دارورسانی می‌گردد [۳، ۴]. کاربرد پلیمرهای سنتزی امروزه در داروسازی و پزشکی رشد چشم‌گیری داشته است. اساسی‌ترین روش برای دسترسی به دارورسانی مطلوب، طرح‌ریزی سامانه‌هایی است که دارو را با سرعت کنترل شده در خون آزاد کند، به طوری که غلظت آن در خون در سطح مناسب درمانی و زیر سطح سمیت آن باقی بماند. بدین منظور پلیمرها به عنوان نگه‌دارنده یا حاملان دارو استفاده می‌شود. کاربرد پلیمرها در دارورسانی سبب افزایش بازدهی درمان، کاهش دفعات استعمال دارو و تجویز هفتگی، ماهانه یا سالانه آن و نیز کاهش سمیت داروها می‌شود. نفوذپذیری، زیست‌سازگاری و قابلیت متلاشی شدن در بدن از جمله خواصی است که باعث استفاده مطلوب از پلیمرها در سامانه‌های دارورسانی می‌شود [۵،۶]. سامانه‌های دارورسانی و رهایش هدفمند دارو به منظور کاهش عوارض جانبی و انتشار کنترل شده دارو، رو به توسعه است. نانوذره‌های کیتوسان حامل مناسبی برای عمده داروها هستند [۷]. مطالعات نشان می‌دهد نانوذره‌های کیتوسان می‌توانند به راحتی اصلاح شوند و نیز به دلیل زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری، حامل مناسبی برای انواع داروها شامل داروهای ژنی، داروهای پروتئینی، داروهای شیمیایی، ضدسرطانی و آنتی‌بیوتیک‌ها است [۸،۹،۱۰].

قنواتی و همکاران [۱۱] درباره‌ی اثر نانوذره‌های گرافن اکسید بر خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم بر پایه‌ی کیتوسان، ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل پژوهش نمودند. در آزمون کشش نتیجه‌ها نشان داد تغییر ترکیب درصد فیلم‌ها موجب تغییر خواص مکانیکی فیلم‌ها شد. در نمونه‌ای که میزان پلی‌وینیل‌الکل کمتر و میزان کیتوسان و نانوذره‌های گرافن اکسید نسبت به پلی‌وینیل‌الکل بیشتر بود استحکام کششی افزایش یافت. فن^۲ و همکاران [۱۲] درباره‌ی تهیه و بررسی پانسمان‌های زخم بر پایه‌ی کیتوسان، ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل پژوهش نمودند. نتیجه‌ها نشان داد کیتوسان، ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل غیرسمی و بی‌ضرر هستند. در آزمایش تورم نمونه‌ی حاوی کیتوسان باعث افزایش درصد تورم شد. افزایش درصد تورم باعث افزایش

(۱) Basal

(۲) Pentasodium triphosphate(STPP)

(۲) Fan

شده به صورت مستطیل با اندازه‌های ۸ cm × ۲ cm برش داده شدند. نوار به‌دست‌آمده در دو فک دستگاه کشش ثابت شد. دستگاه کشش مورد استفاده Instron Testing System ساخت کشور انگلستان بود. نیروسنج دستگاه ۵ N انتخاب شد. فک‌ها با سرعت ۱ mm/min از یک‌دیگر فاصله گرفتند. آزمایش در دمای محیط انجام پذیرفت. خروجی دستگاه نمودار نیرو بر حسب جابه‌جایی می‌باشد که باید به نمودار تنش بر حسب کرنش^۲ تبدیل شود. بدین منظور جابه‌جایی (Δl) بر طول اولیه (فاصله دو فک، ۷ cm) تقسیم شد تا مقدار کرنش حاصل گردد ($\epsilon = \frac{\Delta l}{l_0}$). برای تبدیل نیرو به تنش نیز، میزان نیرو را بر سطح مقطع ($A = t \times w$) تقسیم شد که در این رابطه t ضخامت قطعه و w عرض آن است.

آزمون رهایش

از پوشش تسکین دهنده درد بدست آمده ۰/۱ گرم داخل کیسه دیالیز به طول ۸ سانتی متر قرار داده شد. پس از آماده سازی پوشش تسکین دهنده درد آن را درون ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH=۵/۵ (پوست انسان) که به وسیله شیکر انکوباتر با دمای ثابت ۳۷ درجه و سرعت ۱۰۰ rpm در حال چرخیدن بود شناور شد. در فواصل زمانی مشخص به میزان ۴ میلی‌لیتر از محلول نمونه برداری شد و به وسیله دستگاه اسپکتوفوتومتری میزان جذب هر نمونه مشخص شد برای ثابت نگه داشتن حجم بافر فسفات حاوی پوشش تسکین دهنده درد پس از هر نمونه برداری میزان ۴ میلی‌لیتر بافر فسفات خالص به محلول مورد نظر اضافه شد. این آزمون در مدت زمان ۱۲ ساعت مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت. محاسبه‌ی مقدار تجمعی داروی آزاد شده نیز با استفاده از رابطه‌ی ۱ بدست آمد [۱۶].

$$CumR (\%) = \frac{c(i)v + \sum c(i-1)v_s}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

که در آن C(i) غلظت نمونه برداشته شده از محلول رهایش در زمان i، V حجم محلول رهایش، Vs حجم نمونه برداشته شده در هر زمان، cumR مقدار تجمعی داروی آزاد شده و m₀ مقدار کل داروی بارگذاری شده در پوشش است.

میکروسکوپ الکترونی روبشی^۳

در این پژوهش، بررسی ریز ساختارهای پوشش‌ها به وسیله میکروسکوپ الکترون روبشی (SEM) مدل Quanta ساخت کشور آمریکا

پیش رفت، بنابراین به کمک گریز از مرکز با سرعت ۶۵۰۰ rpm به مدت ۲۵ دقیقه جداسازی شد. نانو ذره‌ها به‌دست آمده با این روش جداسازی شد و سپس توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی در دمای ۵۴- درجه سلسیوس به صورت پودر درآمد [۱۴].

روش ساخت پوشش‌ها

برای ساخت پوشش تسکین دهنده درد، ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر درون بشر درب‌دار ۱۰۰ میلی‌گرم ریخته شد. در نمونه‌های گوناگون مقادیر ۰/۵، ۱، ۳، ۵ درصد وزنی نانوکیتوسان (برحسب مجموع وزن کل دو پلیمر) به آب افزوده شد و سامانه به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه فراصوت قرار داده شد تا به خوبی درون آب پخش شود. سپس مقدار ۰/۳۲۹ گرم پودر پلی‌وینیل‌الکل به ظرف اضافه شد. سامانه به مدت ۲ ساعت با استفاده از همزن مغناطیسی هم زده شد. در ادامه مقدار ۰/۹۸۷ گرم پودر ژلاتین را به سامانه اضافه شد و هم زدن در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۱ ساعت دیگر ادامه یافت. در نمونه‌های گوناگون مقادیر ۱، ۳، ۵، ۷، ۱۰ درصد وزنی دارو (برحسب مجموع وزن کل دو پلیمر) به محلول افزوده شد. سامانه به مدت ۱ ساعت همزده شد تا مخلوط به‌طور کامل یکسان حاصل شود. سرانجام نیز به میزان ۳۰٪ وزن کل دو پلیمر به محلول ساخته شده گلیسرول افزوده شد تا ویژگی نرمی به زنجیره‌ی پلیمر بدهد. مخلوط حاصل درون پتری دیش با قطر ۱۰ سانتی‌متر ریخته شد تا در دمای محیط خشک شود.

آزمون‌ها

آزمون پراکندگی نور دینامیکی^۱

توزیع اندازه ذره‌های نانوکیتوسان با روش پراکندگی دینامیکی نور اندازه‌گیری شد. برای انجام این آزمایش ۵cc از محلول نانوکیتوسان در آب دوبار تقطیر درون سل‌های مخصوص دستگاه ریخته شد و در دستگاه DLS قرار گرفت. پس از عبور نور از نمونه، نموداری حاصل می‌شود که با توجه به این نمودار می‌توان به توزیع اندازه نانوذره‌های کیتوسان پی برد. در این پژوهش از دستگاه برند MALVERN مدل ZEN3600 استفاده شد [۱۵].

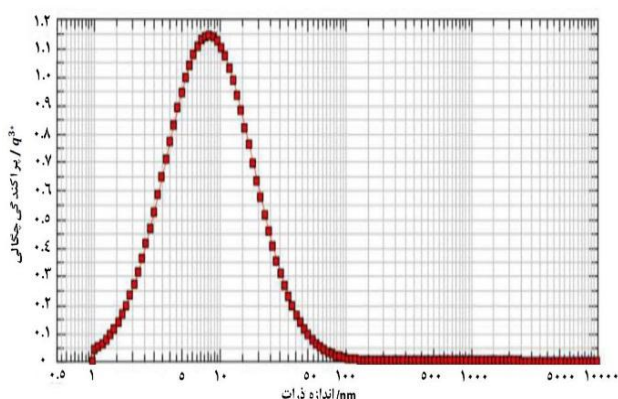
آزمون مقاومت مکانیکی

توانایی مقاومت مواد گوناگون در برابر کشش یکی از مهم‌ترین و پرکاربردترین خواصی است که میزان و تنوع، کاربرد مواد گوناگون را مشخص می‌کند. برای انجام این آزمون نمونه‌ها با ضخامت اندازه‌گیری

(۱) Dynamic light scattering (DLS)

(۳) Scanning electron microscopy (SEM)

(۲) Strain



شکل ۱: پراکندگی قطر ذره‌های نانوکیتوسان

محاسبه‌ی میزان نوسانات در شدت پرتوهای نور متفرق شده با ذره‌ها تعیین شد. نرخ شیب نزولی نمودار همبستگی، این دستگاه توزیع اندازه ذره‌های نانوکیتوسان مورد آزمایش را بر حسب شدت نور متفرق شده از ذره‌ها ارایه داد. این روش به برهم‌کنش نور با ذره بستگی داشته و نور پراکنده شده به وسیله نانوذره‌های موجود در سوسپانسیون با زمان تغییر کرده است که می‌تواند به قطر ذره ارتباط داده شود. با توجه به شکل ۱ توزیع ذره‌های نانوکیتوسان در محدوده بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است. سایز اکثر نانوذره‌های کیتوسان 7 ± 3 نانومتر است. طبق پژوهش مفضل جهرمی و همکاران [۱۹] اندازه و بار نانو ذره‌های کیتوسان حامل کورکومین با دستگاه DLS اندازه‌گیری شد. دستگاه اندازه نانو ذره‌های کیتوسان را 7 ± 2 نانومتر تعیین نمود. همچنین اندازه نانو ذره‌های کیتوسان حامل کورکومین را 10 ± 16 نانومتر مشخص نمود. در پژوهش حاضر هم مشاهده شد که سایز نانوذره‌های کیتوسان با پژوهش اشاره شده مطابقت دارد.

آزمون مکانیکی پوشش

نتیجه‌های آزمون کشش در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده شد با افزودن نانوکیتوسان استحکام کششی ابتدا افزایش و سپس کاهش یافته است. در نمونه‌ی حاوی ۱٪ نانوکیتوسان نسبت به دیگر درصد‌های میزان استحکام مکانیکی بیشتری داشته است. حضور نانوذره باعث ایجاد شبکه‌های مستحکم و انتقال تنش از ماتریس به نانوذره و از نانوذره به ماتریس شد. بنابراین ماتریس حاوی نانوذره، نسبت به حالت خالص نیروی بیشتری را تحمل می‌کند. هرچه میزان توزیع نانوذره درون ماتریس بهتر باشد. برهم‌کنش مناسب‌تری مابین ماتریس و نانوذره رخ دهد و

صورت گرفت. برای انجام این آزمون، ابتدا پوشش‌ها درون ازت مایع قرار داده شد (برای تهیه سطح مقطع شکست از نیتروژن مایع استفاده شد که پس از خارج کردن نمونه از نیتروژن مایع، نمونه توسط یک ضربه کوچک شکسته شد) سپس به وسیله چسب نقره بر پایه آلومینیومی چسبانده شدند و پایه‌ها در یک دستگاه پوشش دهنده، پاشنده تا نقطه بحرانی خشک شده و به مدت ۵ دقیقه با طلا پوشش داده شدند. استفاده از پوشش طلا بدین منظور است که بیشتر پلیمرها نارسا بوده و حتماً نیاز به پوشش‌دهی دارند و از طرف دیگر به علت دارا بودن ساختار زنجیره‌ای با استحکام پایین، با قرار گرفتن در معرض پرتو الکترونی، ممکن است زنجیره‌ها گسسته شده و مانع از نتیجه‌گیری مطلوب شود [۱۷]. در پژوهش حاضر تصویربرداری از نمونه‌ها به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی با ولتاژ ۲۵ kV صورت گرفت.

آزمون تورم^۱

برای سنجش تورم و میزان جذب آب، نمونه را در زمان‌های گوناگون، بر روی اسفنج خیس شده توسط بافر فسفات با $\text{pH}=5/5$ (شبیه ساز پوست انسان) قرار دادیم درجه تورم می‌تواند توصیف کننده مقدار آب جذب شده توسط هیدروژل باشد. درصد تورم با استفاده از (معادله (۲)) محاسبه شد [۱۸].

$$DS(\%) = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (2)$$

در رابطه بالا، DS درجه تورم، W_s وزن پوشش در حالت متورم شده و W_d وزن پوشش در حالت خشک است.

آزمون تخریب حرارتی (TGA)

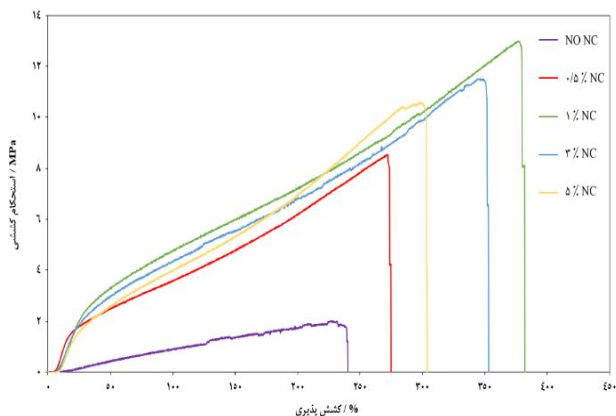
در پژوهش به منظور بررسی خواص حرارتی پوشش‌ها و تأثیر افزودن نانوکیتوسان و داروی دیکلوفناک سدیم بر نمونه‌های بهینه‌ی پوشش‌ها آزمون TGA با دستگاه PYRIS ساخت Elmer Perkin در بازه گرمادهی مابین 25°C تا 600°C با نرخ $10^\circ\text{C}/\text{min}$ در محیط آرگون انجام پذیرفت.

نتیجه‌ها و بحث

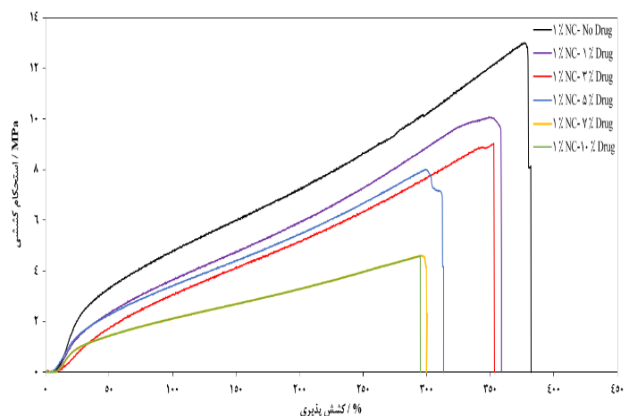
آزمون پراکندگی نور دینامیکی DLS

از روی حرکت براونی ذره‌ها در فاز سیال توزیع اندازه ذره‌ها در محلول مشخص شد. توسط آزمایشگاه اندازه‌گیری حرکت براونی ذره‌ها به وسیله

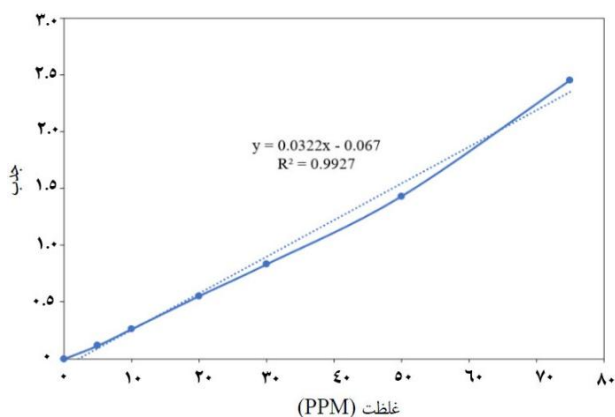
(۱) Swelling



شکل ۳: آزمون مکانیکی پوشش ژلاتین، پلی‌وینیل‌الکل و درصد بهینه‌ی نانوکیتوسان و به همراه درصدهای متغیر دیکلوفناک سدیم



شکل ۴: آزمون مکانیکی پوشش ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل به همراه درصدهای متغیر نانوکیتوسان



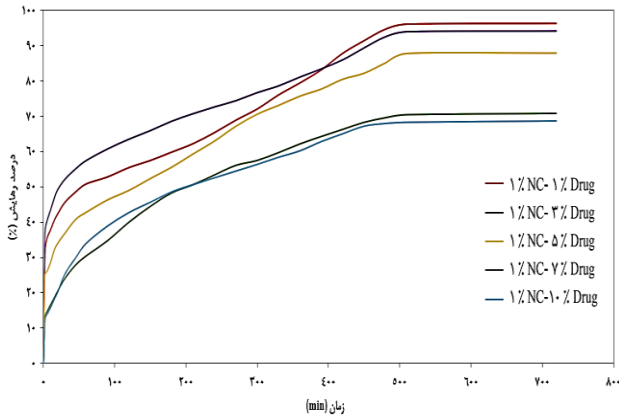
شکل ۴: نمودار کالیبراسیون ماده مؤثر دیکلوفناک سدیم

آزمون رهایش داروی دیکلوفناک سدیم

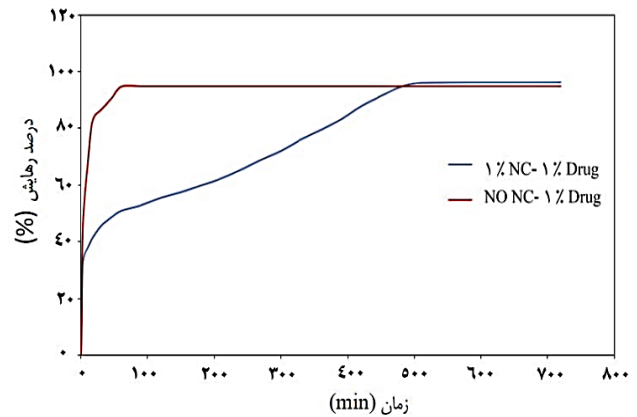
برای انجام این آزمون به نمودار کالیبراسیون داروی سدیم دیکلوفناک و طول موج ماکزیمم جذب داروی سدیم دیکلوفناک نیاز است. به منظور تعیین طول موج ماکزیمم جذب از غلظت‌های گوناگون داروی دیکلوفناک سدیم محلول، درون بافر فسفات با pH=۵/۵ در ناحیه ۲۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتری اسکن گرفته شد و طول موج ماکزیمم جذب در ۲۷۶ نانومتر تعیین شد. سپس با استفاده از عددهای جذب خوانده شده در طول موج ۲۷۶ نانومتر، در غلظت‌های گوناگون داروی دیکلوفناک سدیم محلول در آب نمودار کالیبراسیون رسم شد (شکل ۴). همان‌گونه که دیده شد ضریب همبستگی نمودار ۰/۹۹۲۷ است که نشان دهنده مناسب بودن خط برازش کننده است. بنابراین از معادله خط حاصل برای یافتن مقادیر شدت جذب در غلظت‌های مجهول استفاده شد.

بهبود استحکام کششی بیش‌تر خواهد بود. در نمونه با درصد وزنی ۳ از نانوکیتوسان خواص افت کرده است. این افت خواص می‌تواند به دلیل کلوخه شده نانوذره‌ها در درصدهای وزنی بالا باشد که به عنوان نقطه‌های تمرکز تنش عمل کرده و باعث کاهش ویژگی‌های می‌شوند از سوی دیگر حضور نانوذره منجر به افزایش درصد افزایش طول نیز شده است. این بهبود می‌تواند به دلیل ایجاد شبکه‌های مستحکم درون ماتریس پلیمری و ایجاد اتصالات عرضی در حضور نانوذره باشد که منجر به بهبود خاصیت کشش پذیری ماتریس شد. بنابراین نمونه‌ی دارای ۱٪ نانوکیتوسان به عنوان درصد بهینه‌ی نانوکیتوسان انتخاب شد. طبق پژوهش قنوتی و همکاران [۱۱] در آزمون کشش فیلم کیتوسان، ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل به همراه نانوذره‌های گرافن اکسید نتیجه‌ها نشان داد تغییر ترکیب درصد فیلم‌ها باعث تغییر خواص مکانیکی فیلم‌ها شد. با افزایش درصد کیتوسان و نانوذره‌های گرافن اکسید و همچنین کاهش میزان پلی‌وینیل‌الکل استحکام کششی افزایش یافت. در پژوهش حاضر هم مشاهده شد که با افزودن ذره‌های نانوکیتوسان استحکام کششی و کشش پذیری نمونه افزایش یافته است.

در شکل ۳ نمودار تنش- کرنش پوشش دهنده حاوی دارو نشان داده شده است. همان‌گونه که دیده شد با افزایش درصد سدیم دیکلوفناک میزان استحکام مکانیکی و درصد افزایش طول کاهش یافته است. این کاهش می‌تواند به دلیل انحلال پذیری کم دارو درون آب باشد که یکنواختی محلول را کاهش داده است. همان‌گونه که در نتیجه‌ها دیده شد نمونه‌ی حاوی ۱٪ نانوذره‌های کیتوسان و ۱٪ ماده مؤثر سدیم دیکلوفناک به دلیل استحکام کششی و کشش پذیری نسبت به دیگر نمونه‌ها به عنوان بهینه در این آزمون معرفی شد.



شکل ۶: درصدهای رهائش دارو حاوی درصد بهینه‌ی نانوکیتوسان



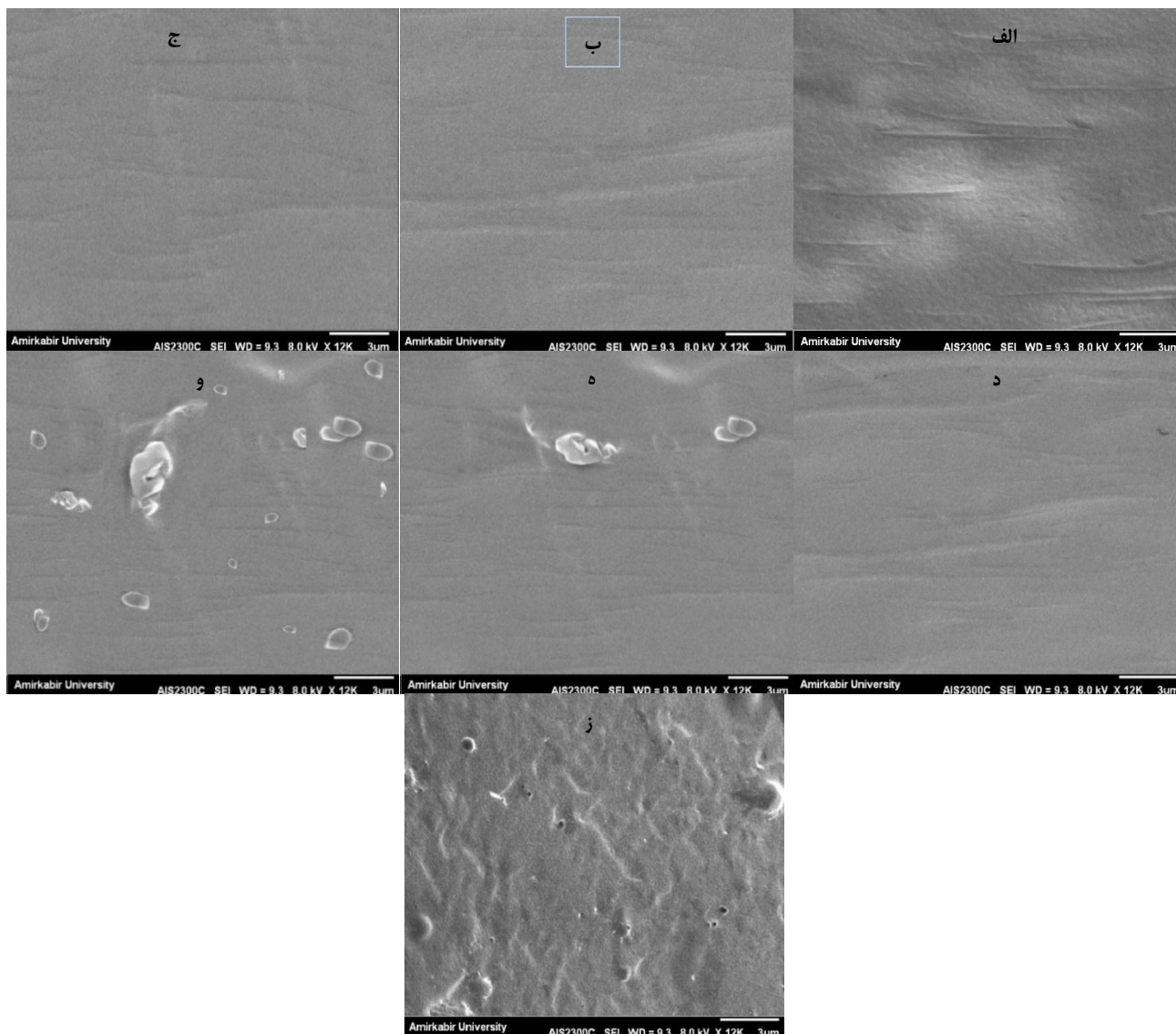
شکل ۷: درصد رهائش پوشش تسکین دهنده درد با نانوکیتوسان و بدون نانوکیتوسان

و نانوکیتوسان (۱٪) انجام شد. سپس برای بررسی شناسایی ریخت‌شناسی سطح مقطع نمونه و ویژگی‌های ریزساختاری از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. در شکل ۷ تصویر نتیجه‌های آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی با بزرگ‌نمایی ۱۲۰۰۰ نشان داده شده است. در شکل ۷ تصویرهای (الف، ب) هیچ گونه جدایش فازی دیده نشد بیانگر برهم‌کنش خوب مابین ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل است. و در تصویر (ب) برهم‌کنش و توزیع مناسب مابین نانوذره‌ها و ماتریس پلیمری دیده شد. در شکل ۷ تصویرهای (ج، د) افزون بر عدم جدایش فازی، توزین یکنواخت و مناسب نانوذره‌ها به همراه ماده‌ی مؤثر داروی سدیم دیکلوفناک درون ماتریس دیده شد. در تصویر (د) با توجه به افزایش میزان ماده مؤثر دارو به نسبت تصویر (ج) همچنان توزین یکنواخت درون ماتریس دیده شد. در شکل ۷ (ه) ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل و نانوکیتوسان به همراه ۵٪ ماده مؤثر داروی سدیم دیکلوفناک در ترکیب با یکدیگر همان‌گونه که دیده شد با افزایش میزان ماده مؤثر سدیم دیکلوفناک، مقدار کمی از ماده مؤثر دارو در ماتریس پلیمری کلوخه شده است. در شکل ۷ (و) ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل و نانوکیتوسان به همراه ۷٪ ماده مؤثر داروی سدیم دیکلوفناک در ترکیب با یکدیگر همان‌گونه که دیده شد با افزایش میزان ماده مؤثر سدیم دیکلوفناک، مقدار بسیار زیادی از ماده مؤثر دارو در ماتریس پلیمری کلوخه شده است. برای نشان دادن میزان زیاد کلوخه شدن دارو با بزرگ‌نمایی ۱۲۰۰۰ نشان داده شد. در شکل ۷ (ز) ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل و نانوکیتوسان به همراه ۱۰٪ ماده مؤثر داروی سدیم دیکلوفناک در ترکیب با یکدیگر همان‌گونه که دیده شد با افزایش میزان ماده مؤثر سدیم دیکلوفناک، افزون بر این که مقدار بسیار زیادی از ماده مؤثر دارو در ماتریس پلیمری کلوخه شده است سطح به‌طور کامل غیریکنواخت و دارای فرورفتگی می‌باشد.

میزان رهائش از پوشش تسکین دهنده‌ی درد بدون نانوکیتوسان نیز در شکل ۵ گزارش شده است تا تأثیر احتمالی حضور نانوذره بر رهائش دارو بررسی شود. میزان رهائش از پوشش تسکین دهنده‌ی درد بدون نانوکیتوسان بسیار سریع رخ می‌دهد و در طی ۶۰ دقیقه به میزان ماکسیمم داروی درون پوشش تسکین دهنده‌ی درد می‌رسد. اما پوشش تسکین دهنده‌ی درد حاوی نانوکیتوسان در طی ۵۱۰ دقیقه (۸ ساعت) به میزان ماکسیمم درصد رهائش خود می‌رسد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت حضور نانوکیتوسان منجر به رهائش کنترل شده‌ی دارو شده است. با توجه به شکل ۶ برای درصدهای متغییر سدیم دیکلوفناک، در پوشش تسکین دهنده‌ی درد این پژوهش رهائش دارو تا ۱۲ ساعت بررسی شد. رهائش نمونه‌ها شامل ژلاتین/ پلی‌وینیل‌الکل/ نانوکیتوسان ۱٪ / درصدهای متغییر ماده مؤثر، داروی دیکلوفناک سدیم با هم مقایسه شد. همان‌طور که دیده شد اول در همه نمونه‌ها بیش‌ترین زمان رهائش حدود ۵۱۰ دقیقه بوده است به عبارت دیگر طی مدت زمان ۵۱۰ دقیقه تمامی مقدار دارو از نمونه رها شده است. دوم با افزایش میزان درصد ماده مؤثر دیکلوفناک سدیم میزان رهائش کم‌تر شده است. این پدیده می‌تواند به کلوخه شدن دارو در درصدهای بالا مرتبط باشد. در این شرایط میزان داروی در دسترس برای رهائش کاهش می‌یابد. این کلوخه شدن در آزمون کشش نیز مشاهده شد به طوری که با افزایش دارو مقدار استحکام کششی و درصد ازدیاد طول کاهش یافت.

ریخت‌شناسی و ریزساختارهای پوشش

به منظور شناسایی و بررسی ریخت‌شناسی سطح نمونه انجام آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی در آزمایشگاه با بزرگ‌نمایی بر روی سطح مقطع نمونه‌ها انجام شد. ساخت پوشش با درصدهای وزنی متغییر دیکلوفناک ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰٪ و درصد ثابت ژلاتین (۷۵٪) و PVA (۲۵٪)

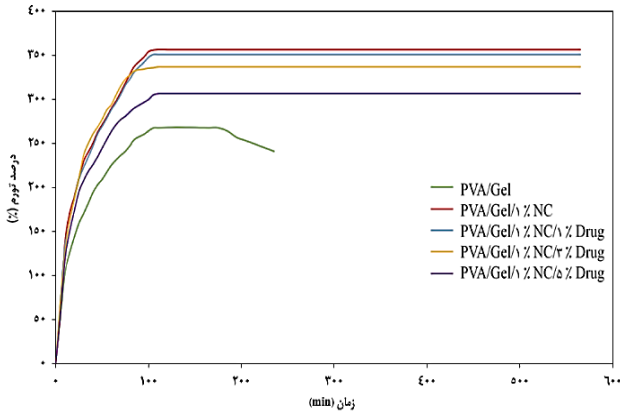


شکل ۷: تصاویرهای میکروسکوب الکترونی روبشی: (الف) پوشش ۷۵٪ و پلی‌وینیل‌الکل ۲۵٪، (ب) پوشش ۷۵٪ و پلی‌وینیل‌الکل ۲۵٪ به همراه ۱٪ نانوکیتوسان، (ج) پوشش ۷۵٪ و پلی‌وینیل‌الکل ۲۵٪ و ۱٪ نانوکیتوسان به همراه ۱٪ ماده‌ی مؤثر داروی دیکلوفناک سدیم، (د) پوشش ۷۵٪ و پلی‌وینیل‌الکل ۲۵٪ و ۱٪ نانوکیتوسان به همراه ۳٪ ماده‌ی مؤثر داروی دیکلوفناک سدیم، (ه) پوشش ۷۵٪ و پلی‌وینیل‌الکل ۲۵٪ و ۱٪ نانوکیتوسان به همراه ۵٪ ماده‌ی مؤثر داروی دیکلوفناک سدیم، (و) پوشش ۷۵٪ و پلی‌وینیل‌الکل ۲۵٪ و ۱٪ نانوکیتوسان به همراه ۷٪ ماده‌ی مؤثر داروی دیکلوفناک سدیم، (ز) پوشش ۷۵٪ و پلی‌وینیل‌الکل ۲۵٪ و ۱٪ نانوکیتوسان به همراه ۱۰٪ ماده‌ی مؤثر داروی دیکلوفناک سدیم.

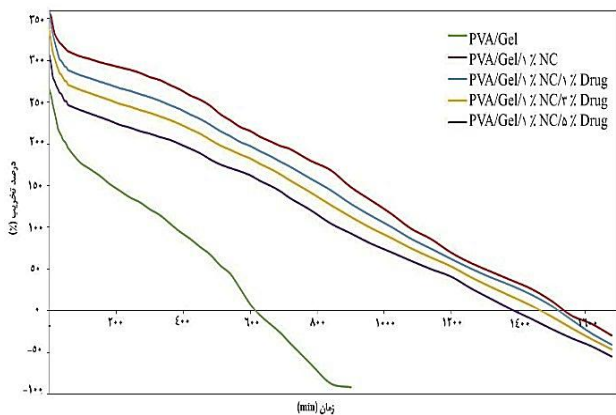
آزمون تورم و تخریب

با توجه به شکل ۸ نمونه ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل خالص پس از گذشت ۱۰۰ دقیقه به بیشینه میزان تورم خود رسیده است و پس از آن تا ۱۸۵ دقیقه وزن نمونه ثابت مانده است، ولی نمونه‌ای که دارای درصد بهینه‌ی نانوکیتوسان بوده است، روند تورم آن تا ۱۰۰ دقیقه طول کشیده و بعد از آن تا ۵۶۵ دقیقه وزن آن ثابت بوده است. سپس نمونه‌های دارای نانوکیتوسان به همراه درصدهای

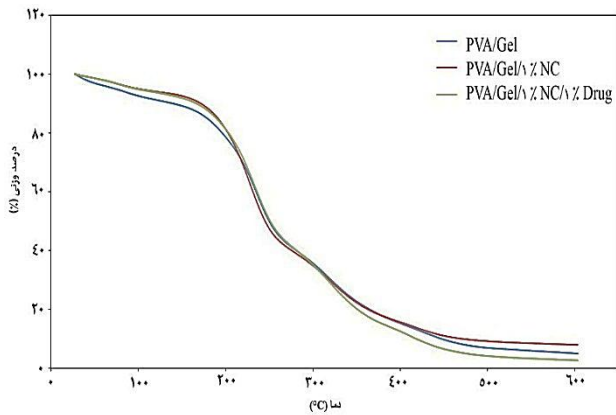
نتیجه‌های حاصل از آزمون SEM نشان می‌دهد که هیچ گونه جدایش فازی بین اجزای محلول حاوی ژلاتین، پلی‌وینیل‌الکل و نانوکیتوسان وجود ندارد. و همچنین با افزودن ۱٪ و ۳٪ دارو هیچ گونه جدایش و ساختار نامنظمی مشاهده نشده است. با افزایش میزان ماده‌ی مؤثر سدیم دیکلوفناک، مقدار کمی از ماده مؤثر دارو در ماتریس پلیمری کلوخه شده است. پس میزان بهینه دارو درون پوشش ۱٪ و ۳٪ می‌باشد.



شکل ۸: مقایسه‌ی درصد تورم‌ها



شکل ۹: مقایسه‌ی درصد تخریب‌ها



شکل ۱۰: نمودار TGA، ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل به همراه درصد بهینه‌ی نانوکیتوسان و ۱٪ ماده مؤثر داروی دیکلوفناک سدیم

دارای نانوکیتوسان اندکی کاهش یافته است که نشان دهنده تأثیر دارو بر کاهش استحکام حرارتی نمونه است. طبق پژوهش راجشوارا^۱ و همکاران [۲۰] در آزمون TGA از نمونه‌ی دارای پلی‌وینیل‌الکل

متغییر دارو مورد بررسی قرار گرفت که در همه‌ی نمونه‌های حاوی دارو هم بعد از گذشت ۱۰۰ دقیقه به حداکثر میزان تورم خود رسیده است و بعد از آن تا ۵۶۵ دقیقه وزن آن ثابت بوده است. می‌توان نتیجه گرفت با اضافه نمودن نانو ذره، مدت زمان ثابت بودن وزن نمونه‌ها افزایش یافته است.

با تغییر در میزان دارو تغییری در مدت زمان میزان تورم ایجاد نشد. همانطور که در شکل ۸ مشاهده شد با افزایش میزان دارو در پوشش تسکین دهنده، درصد تورم کمتر شده است. بعد از ۱۸۵ دقیقه با درصد تورم ۲۶۴٪ در نمونه‌ی ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل خالص کاهش وزن رخ داده است که این کاهش وزن نشان دهنده‌ی شروع فرایند تخریب است. همان‌گونه که در شکل ۹ مشخص است نمونه حاوی درصد بهینه‌ی نانوکیتوسان بعد از ۵۶۵ دقیقه با درصد تورم ۳۵۴٪ شروع به کاهش وزن داشته است. نمونه‌های حاوی درصد بهینه‌ی نانوکیتوسان و درصدهای متغیر دارو هم بعد از گذشت ۵۶۵ دقیقه با درصد تورم‌های متغیر شروع به تخریب داشته است. می‌توان نتیجه گرفت با افزودن نانو ذره، مدت زمان تخریب نسبت به وزن نمونه‌ها افزایش یافته است. و با افزایش در میزان دارو تغییری در مدت زمان ۱۶۸۰ دقیقه، دیده نشده است. همان‌طور که در شکل ۹ دیده شد با افزایش میزان دارو در پوشش تسکین دهنده، درصد تخریب هم افزایش یافته است. با توجه به مشاهده‌های آزمون تورم و رهایش نتیجه گرفته شد با افزایش درصد تورم در نمونه‌های دارای دارو جذب و رهایش بیشتر شد. و با کاهش درصد تورم در نمونه‌های دارای دارو رهایش دارو کاهش یافت.

آزمون تخریب حرارتی TGA

به منظور بررسی استحکام گرمایی نمونه‌ها، آزمون TGA تهیه تا تأثیر حضور نانوذره و دارو بررسی شد و نتیجه‌ها در شکل ۱۰ ارائه شد. در شکل TGA ماتریس ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل، دو ناحیه کاهش وزن قابل دیدن است یکی کمتر از ۲۰۰°C مربوط به تبخیر آب سطحی و ناخالصی‌های ریز مولکولی است. و دیگری مابین حدود ۲۰۰ تا ۴۰۰ درجه سلسیوس مربوط به تجزیه کامل ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل. در نمودار TGA مربوط به نمونه حاوی نانوکیتوسان دو ناحیه بالا قابل دیدن است با این تفاوت که محدوده‌های درصد وزنی اندکی افزایش یافته‌اند که نشان دهنده تأثیر نانوکیتوسان در بهبود خواص ماتریس پلیمری است. در نمونه حاوی دارو نیز این افت درصد وزنی دیده شد ولی نسبت به نمونه

(۱) Rajeshwari

نشان داد که برهم‌کنش مناسب مابین اجزا و نیز توزیع مناسب نانوذره‌های درون نمونه‌ها حاصل شده است. همچنین حضور نانوکیتوسان منجر به بهبود ویژگی گرمایی نمونه‌ها شده است. بررسی رهایش داروی دیکلوفناک سدیم با استفاده از این بستر نشان داد در بافر فسفات با $\text{pH}=5/5$ (پوست انسان) بیشینه‌ی رهایش در نمونه‌ی حاوی ۱٪ ماده مؤثر دیکلوفناک سدیم در مدت ۸ ساعت اتفاق افتاد. که البته رهایش درصدهای بالاتر دارو مورد تایید می‌باشد اما با توجه به نبود جدایش فازی در تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (۱٪ و ۳٪) دارو و همچنین با توجه به نتیجه‌های آزمون مکانیکی که نمونه‌ی ۱٪ دارو بیش‌ترین میزان استحکام کششی را داشته بنابراین نمونه‌ی ۱٪ دارو برای دارورسانی از طریق پوست به عنوان نمونه‌ی بهینه معرفی شد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۴

و نانوذره‌های کیتوسان بین دو ناحیه ۲۰۰ تا ۳۵۰ درجه سلسیوس افت وزن دیده شد. که نتیجه‌های آزمون TGA این پژوهش را تایید می‌نماید.

نتیجه گیری

در این پژوهش به بررسی اثر افزودن نانوذره‌های کیتوسان و داروی دیکلوفناک سدیم در پوشش تسکین درد ژلاتین/ پلی‌وینیل‌الکل پرداخته شد. ابتدا ساخت نانوکیتوسان با استفاده از روش ژل سازی یونی در حضور عامل اتصال عرضی کننده سدیم‌تری‌پلی‌فسفات تولید شد و با استفاده از روش خشک‌کن انجمادی خشک شد. در تمام نمونه‌ها درصد پلیمر خشک ۵٪ در نظر گرفته شد. نمونه‌هایی با نسبت‌های وزنی گوناگون ژلاتین به پلی‌وینیل‌الکل ساخته شد. مشخصه‌های ظاهری نمونه شامل نسبت وزنی ژلاتین به پلی‌وینیل‌الکل ۳، نسبت به نمونه‌های دیگر بهتر بود بنابراین این نسبت برای دو پلیمر در نظر گرفته شد. در ادامه نمونه‌هایی با درصدهای گوناگون به بستر پلیمری افزوده شد. سرانجام نتیجه‌ها

منابع

- [1] Geerligs M., Oomens C., Ackermans P., Baaijens F., Peters G., *Linear Shear Response of the Upper Skin Layers, Biorheology*, **48**: 229-245 (2011).
- [2] Tavakoli Targhi F., Baniyadi H., Hemmati A., *Design, Fabrication and Characterization of Electrospun wound Dressing Composed of Polyvinyl Alcohol/Aloe Vera, IQBQ*, **4(2)**: 83-93 (2020).
- [3] Saeedi M., Farmoudeh A., Rezaeirosan A., *A Review on Current Status and Future Potential of Transdermal Patches as a Promising Drug Delivery System, J Mazandaran Univ Med Sci*, **29(173)**: 164-175 (2019).
- [4] Baghersad S., HajirBahrami S., Mohammadi M.R., Mojtahedi M. R.M., Milan P.B., *Development of Biodegradable Electrospun Gelatin/Aloe-Vera/Poly(ϵ -caprolactone) Hybrid Nanofibrous Scaffold for Application as Skin Substitutes, Mater. Sci. Eng. C*, **93**: 367-379 (2018).
- [5] Ahmed R., Tariq M., Ali I., Asghar R., Noorunnisa Khanam P., Augustine R., Hasan A., *Novel Electrospun Chitosan/Polyvinyl Alcohol/Zinc Oxide Nanofibrous Mats with Antibacterial and Antioxidant Properties for Diabetic Wound Healing, Int. J. Biol. Macromol*, **120**: 385-393 (2018).
- [۶] زادهوش، علی؛ حسینی، سید سعید؛ موسوی، سیده محدثه؛ اهمیت و اثر خواص رتولوژی محلول‌های پلیمری در فرایند جدایی فاز و شکل‌شناسی غشاهای پلیمری، *مجله علوم و تکنولوژی پلیمر*، **۲۸(۵)**: ۳۵۱ تا ۳۷۱، (۱۳۹۴).
- [۷] گونه فراهانی، سحر؛ نعیمی جمال، محمدرضا؛ نقیب، سید مرتضی؛ مروری بر روش‌های ساخت نانو کامپوزیت بر پایه کیتوسان در دارورسانی، *نشریه پژوهش و توسعه فناوری پلیمر ایران*، **۳(۳)**: ۶۷ تا ۷۶، (۱۳۹۶).

- [۸] غیاث الدین، علی؛ شجاع الساداتی، سید عباس؛ واشقانی فراهانی، ابراهیم؛ اصلاح و بهینه سازی فرایند استخراج کیتین از پوست میگو، نشریه شیمی و مهندسی شیمی، (۱) ۳۰: ۱ تا ۹، (۱۳۹۰).
- [9] Sasikalaa L., Rathinamoorthy R., Dhurai B. Optimization of Process Conditions for Chitosan-Manuka Honey Film as Wound Contact Layer for Wound Dressings, *Wound Medicine*, 23:11-21 (2018).
- [۱۰] دیده بان، خدیجه؛ مخزن موسوی، سیده زهرا؛ نانوزل‌های پلیمری: روش‌های سنتز و کاربردهای دارورسانی، نشریه پژوهش و توسعه فناوری پلیمر ایران، (۴) ۲: ۱ تا ۱۴، (۱۳۹۶).
- [۱۱] قنوتی، سرور؛ ایزدی وصفی، حسین؛ اثر نانوذره‌های گرافن اکسید بر خواص فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های بر پایه کیتوسان و ژلاتین و پلی‌وینیل‌الکل، مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، (۱) ۳۳: ۷۵ تا ۸۷، (۱۳۹۹).
- [12] Fan L., Yang H., Yang J., Peng M., Hu J. Preparation and Characterization of Chitosan/Gelatin/PVA Hydrogel Forwound Dressings, *Carbohydrate Polymers*, **146**: 427-434 (2016).
- [۱۳] تقی‌زاده، سید مجتبی؛ صادقی، محسن؛ گنجی، فریبا؛ مرور کوتاه بر کیتوسان و میکروذره‌های آن به‌عنوان حامل در سامانه‌های دارورسانی، فصلنامه علمی ترویجی بسپارش، (۴) ۶: ۴ تا ۱۹، (۱۳۹۵).
- [14] Sadeghi M., Ganji F., Taghizadeh M. Preparation and Optimiztion of Labeled Chitosan Nanoparticles and Evaluation of Their Release from Transdermal Drug Delivery System, *Iran. J. Polym. Sci. Technol*, **28(4)**: 333-344 (2015).
- [۱۵] قرایلو، داود؛ مرادده، ساسان؛ تعیین توزیع اندازه ذره‌ها در ابعاد نانو با استفاده از دستگاه تفرق نور پویا، مجله دانش آزمایشگاهی ایران، (۴) ۲: ۱۴ تا ۲۰، (۱۳۹۳).
- [16] Salehi M.A., AkbariDogolsar M., JahaniKadocaraee M., Assessing the Loading and Release of Metronidazole from Bacterial Cellulose Film as a Pharmaceutical Dressing, *Feyz. J*, **21(3)**: 240-6 (2017).
- [۱۷] نادری سهی، علیرضا؛ نادری منش، حسین؛ سلیمانی، مسعود؛ مقایسه‌ی کارکرد میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) در بررسی توپوگرافی نانوالیاف مورد استفاده به عنوان بستر کشش سلول، نشریه زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس، (۲) ۷: ۴۳ تا ۵۹، (۱۳۹۵).
- [18] Baniasadi M., Baniasadi H., Azimi R., KhosraviDehaghi N., Fabrication and Characterization of a Wound Dressing Composed of Polyvinyl Alcohol/ Nanochitosan/Artemisia Ciniformis Extract: An RSM Study, *Polym Eng Sci*, **60**: 1459-1473 (2020).
- [۱۹] مفضل جهرمی، میرزا علی؛ رجایی، هاجر؛ موسوی، سید شرف الدین؛ پیرستانی، مجید؛ فصیحی رامندی، مهدی؛ احمدی، کاظم؛ شریف‌زاده پیوستی، وحید؛ محمدحسن، زهیر؛ کمالی، مهدی؛ میرنژاد، رضا؛ ارزیابی اثر ضد باکتریایی نانو ذره‌های کایتوزان بارگذاری شده با کورکومین، مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا، (۱) ۵: ۱۳۴ تا ۱۴۱، (۱۳۹۴).
- [20] Rajeshwari K., Latha S., Gomathi T., Sangeetha K., Sudha P.N. Preparation and Characterisation Study of Nanochitosan (NCS) and Polyvinyl Alcohol (PVA) Binary Blends with Glutaraldehyde as a Crosslinking Agent, *Scholars Research Library*, **8(19)**: 485-495 (2016).