

رهايش کنترل شده داروی آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین از داربست هیبریدی ژلاتین/پلی گلیسرول سباسیت به

## منظور جلوگیری از عفونت های ناشی از زخم های سوختگی

پریسا شیرازکی<sup>۱</sup>، انوشه زرگر خرازی<sup>۲\*</sup>، ژاله ورشوساز<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد مهندسی پزشکی بیومتریال، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده فناوری های نوین علوم پزشکی، گروه

بیومتریال

<sup>۲\*</sup> استادیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، عضو هیأت علمی دانشکده فناوری های نوین علوم پزشکی، گروه بیومتریال

نویسنده مسئول [a\\_zargar@med.mui.ac.ir](mailto:a_zargar@med.mui.ac.ir)

<sup>۳</sup> استاد دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، عضو هیأت علمی دانشکده داروسازی، گروه فارماسیوتیکس

### مقدمه و هدف

کمبود بافت اهدایی برای پیوند پوست و بحث بازسازی سریع پوست همواره یکی از دغدغه های بشر بوده است. این مساله به خصوص در سوختگی های وسیع که بافت پیوندی از خود فرد فراهم نیست، بیشتر اهمیت می یابد (۱). آمار نشان داده اند که ۷۵٪ مرگ و میرها به دنبال عفونت پس از سوختگی بوده اند (۲). عفونت زخم علاوه بر ایجاد التهاب در زخم موجب تعویق در بهبودی، افزایش طول مدت بستری و افزایش هزینه ها شده و می تواند با ایجاد عفونت خون بیمار را از پای در آورد این بحث بخصوص در زخم های سوختگی اهمیت می یابد زیرا استفاده از آنتی بیوتیک های سیستمیک در سوختگی موثر نیست؛ چرا که بافت سوخته بافتی غیر زنده و بدون خونرسانی است و در نتیجه گلبولهای سفید، آنتی بادی ها و آنتی بیوتیک ها نمی توانند از طریق جریان خون به محل زخم برسند و بنابراین محل مناسبی برای رشد میکروارگانیسم ها می باشند و به همین جهت برای کنترل عفونت در این زخم ها حتماً

باید از آنتی‌بیوتیک‌های موضعی استفاده شود(۳). امروزه مشخص شده است که استفاده از غشاهای تولید شده با روش مهندسی بافت پوست گزینه مناسب‌تری نسبت به سایر روش‌ها در مواجهه با سوختگی‌های وسیع یا سوختگی‌های تمام ضخامت و هم چنین حوادث ناگهانی از قبیل تصادفات یا برق گرفتگی می‌باشد(۴).

در چند دهه اخیر استفاده از مخلوط پلیمرهای طبیعی و سنتزی در تولید داربست‌های زیستی پوستی به دلیل قابلیت دستیابی به ویژگی‌های مطلوب، بسیار مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است به طور کلی یک غشای پوستی ایده‌آل مهندسی بافت باید توانایی کنترل از دست رفتن مایعات و ایجاد رطوبت در محل زخم، جلوگیری از ایجاد عفونت، انقباض‌ها و اسکارها را داشته باشد(۵).

ژلاتین یکی از پلیمرهای طبیعی است که خواص منحصر به فردی مانند آبدوستی، فعالیت سطحی، قابلیت تشکیل ژل و کنترل گرانروی دارد ولی خواص مکانیکی آن بسیار ضعیف است و به سرعت تخریب می‌شود و پایداری ابعادی خود را از دست می‌دهد(۶). کولپلیمر کردن این پلیمر طبیعی با پلیمر سنتزی زیست تخریب پذیر پلی گلیسرول سباسیت که دارای خواص مکانیکی و شیمیایی کنترل پذیر در کاربردهای ترمیمی است(۷)، می‌تواند گزینه مناسبی برای ساخت غشاهای پوستی به منظور جلوگیری از عفونت و از دست رفتن مایعات بدن و ایجاد سد محافظتی انتخابی بر روی زخم و در نهایت ترمیم و بازسازی پوست باشد.

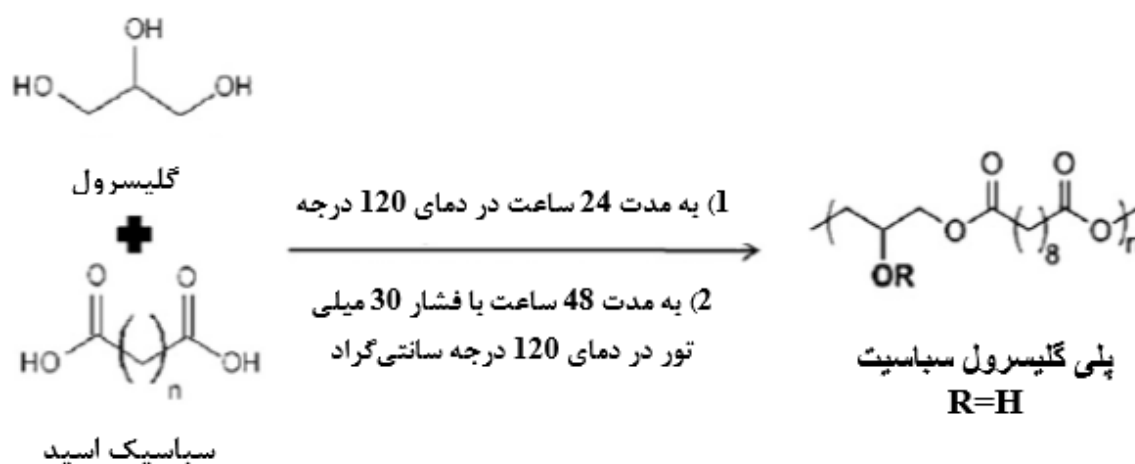
از آنجایی که نرخ تخریب پلی گلیسرول سباسیت قابل کنترل است کاربردهایی در زمینه رهایش دارو پیدا کرده است. بنابراین استفاده از این پلیمر برای بارگذاری داروهای آنتی بیوتیک مانند سیپروفلوکساسین یا جنتومايسين که از عفونت‌های پوستی در زخم‌ها جلوگیری می‌کنند، بسیار امیدبخش خواهد بود(۸).

یکی از دغدغه‌ها در بحث ترمیم زخم استفاده از آنتی بیوتیک‌ها به صورت سیستمیک می‌باشد که عوارض زیادی به دنبال دارد. هم چنین در بحث تولید غشاهای پوستی متاسفانه هنوز محصولاتی که بتوانند نیاز بیماران را در این حیطة به طور کامل برطرف کنند،

در کشورمان موجود نیست و نمونه‌های خارجی نیز علاوه بر قیمت گزاف نیازمندی‌های بیماران را پاسخگو نیستند. در نتیجه تحقیق و توسعه در بحث تولیدات غشاهای پوستی که بتوانند به صورت موضعی رهایش آنتی‌بیوتیک‌ها را انجام دهند، بسیار ضروری به نظر می‌رسد.

## روش پژوهش

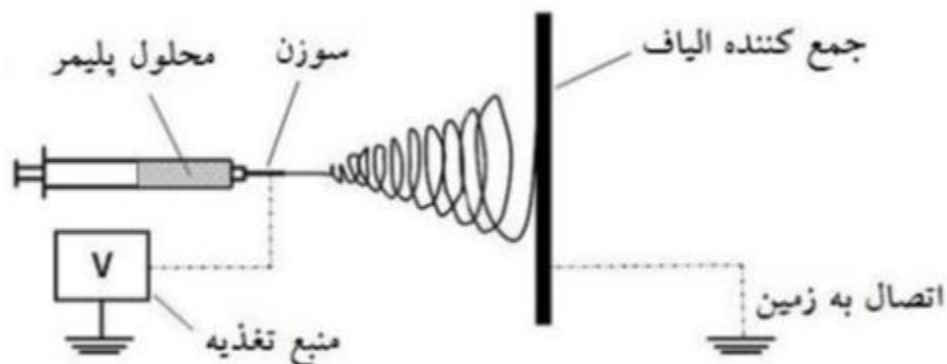
ابتدا برای سنتز پلیمر پلی گلیسرول سباسیت، گلیسرین تحت اتمسفر نیتروژن و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت گاز زدایی شده و سباسیک اسید در آن خلاء به مدت ۲ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد آب‌گیری می‌شود. سپس این دو به نسبت مولی ۱ به ۱ تحت دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و اتمسفر نیتروژن با یکدیگر به آرامی هم خورده و مخلوط می‌شوند. پس از ۲۴ ساعت گاز نیتروژن قطع می‌شود تا پلیمر پلی گلیسرول سباسیت به دست آید. (۹)



شکل ۱. مراحل ساخت پلی گلیسرول سباسیت (۸)

در مرحله بعد پودر ژلاتین با نسبت ۳ به ۱ به همراه پودر آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین با غلظت ۱۰٪/وزنی پلیمرها به محلول استیک اسید ۸۰٪/V، برای فرایند الکترورسی اضافه می‌گردد. در فرایند الکترورسی از سر سوزن ۲۳ گیج (G)، با فاصله ۱۲

سانتی متر با کولیماتور و ولتاژ ۱۸۰ کیلو ولت (kV) استفاده می شود همچنین کولیماتور را در حالت rotation قرار دادیم تا احتمال یکنواختی وجود دارو در داربست افزایش یابد.



شکل ۲. نمایی از روش الکترورسی

ژلاتین محلول در آب است و داربست الکترورسی شده سریعا در محیط بدن تخریب می گردد(۱۰) لذا باید فرایند کراس لینک انجام شود تا ساختار آن پس از قرار گرفتن روی زخم های بدن، پایدار باقی بماند به این منظور از EDC و NHS با نسبت ۲/۵ به ۱ در الکل ۹۰٪ به مدت ۲ ساعت استفاده کردیم. سپس داربست با محلول بافر فسفات سه بار شسته می شود تا مواد کراس لینک کننده کامل خارج گردند.

توپوگرافی سطح داربست الکترورسی شده، قبل و بعد از فرایند کراس لینک توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد

بررسی قرار گرفتند که برای بررسی اندازه تخلخل ها و مورفولوژی غشا نیز استفاده شده است. همچنین از آزمون FTIR در

رنج  $500-4000 \text{ cm}^{-1}$  برای شناسایی ترکیب شیمیایی پلیمر سنتز شده و اثبات وجود دارو بعد از فرایند کراس لینک استفاده

کردیم. برای ارزیابی نرخ تخریب از روش وزن سنجی استفاده شد که نمونه ها به مدت ۱، ۴، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز در دمای ۳۷ درجه

سانتی‌گراد در محلول بافر فسفات انکوبه و سپس وزن سنجی شدند. همچنین برای بررسی نرخ رهایش داروی آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین از روش اسپکتروفتومتری UV-Vis استفاده شده است.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از SEM تغییرات زیادی را در مورفولوژی فیبرها قبل و بعد از فرایند کراس لینک نشان داده است به گونه ای که قطر الیاف از  $178 \pm 60$  به  $872 \pm 90$  نانومتر افزایش یافته و همچنین ارتباط بین الیاف (interconnectivity) در هردو مورد حفظ شده است که این تفاسیر با استفاده از نرم افزار MATLAB به دست آمده اند.

نتایج حاصل از FTIR نیز پیک های شاخص پلیمر پلی گلیسرول سباسیت، ژلاتین و داروی سیپروفلوکساسین در نمونه کراس لینک شده و شستو داده شده توسط PBS را به خوبی نشان داده است.

فرایند تخریب، تخریب زیادی را در نمونه ها بعد از فرایند کراس لینک نشان داده است که این موضوع در ۲۴ ساعت اول باعث کاهش قابل توجه وزن نمونه ها می شود که به گونه ای می توان به رهایش مواد کراس لینک کننده و مقداری دارو آن را مرتبط دانست و شاهد تخریب تدریجی نمونه ها در ۳، ۷، ۱۴ و روز بوده ایم به گونه ای که در روز ۲۱ تقریباً به تخریب کامل دست یافتیم و نمونه بسیار اندکی برای اندازه گیری باقی مانده بود که این موضوع نوید بخش رهایش کامل دارو در طول سه هفته می باشد.

با تحلیل نتایج حاصل از اسپکتروفتومتری میزان داروی باقی مانده در داربستها و میزان رهایش دارو را از آنها به خوبی اندازه گرفتیم به طوریکه میزان کل داروی موجود در نمونه  $1 \times 1$  سانتی متر کراس لینک شده،  $60 \mu\text{g/ml}$  میکروگرم در میلی لیتر می باشد و پس از قرار گرفتن نمونه ها در PBS شاهد رهایش داروی سیپروفلوکساسین در مدت زمان های مختلف بوده ایم به گونه ای که حدود  $30 \mu\text{g/ml}$  در عرض ۲۴ ساعت و  $12 \mu\text{g/ml}$  دیگر نیز در عرض ۷۲ ساعت از داربست آزاد شدند به بیان دیگر ۵۰٪ دارو در ۲۴ ساعت اول یا به نوعی ۷۰٪ دارو در ۷۲ ساعت اول پس از واقع شدن در محیط invitro آزاد می شود که این موضوع در عفونت های ناشی از زخم بسیار اهمیت دارد زیرا پزشک به منظور درمان بیماران سوختگی نیازمند دوز اولیه بالا از داروی آنتی بیوتیک و دوز مداوم کمتری طی مدت زمان طولانی تر، دارد

و می توان به استفاده کننده از این داربستها اطمینان داد که داروی موجود در داربستها به طور کامل طی سه هفته به همراه مواد تشکیل دهنده داربستها، رها می شود. این موضوع امید بخش می تواند راه بسیار مناسبی برای کنترل عفونت بیماران حوزه سوختگی باشد و با توجه به ارزان قیمت بودن مواد تشکیل دهنده آن می تواند بسیار به صرفه در کاربرد invitro

واقع شود

منابع

۱. Shevchenko RV, James SL, James SE. A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. *Journal of the Royal Society Interface*. 2010;7(43):229-58.
۲. Dallal MS, Safdari R, Koochak HE, Sharifi-Yazdi S, Akhoondinasab M, Pourmand M, et al. A comparison between occlusive and exposure dressing in the management of burn wound. *Burns*. 2016;42(3):578-82.
۳. El-Refaie WM, Elnaggar YS, El-Massik MA, Abdallah OY. Novel curcumin-loaded gel-core hyalurosomes with promising burn-wound healing potential: Development, in-vitro appraisal and in-vivo studies. *International journal of pharmaceutics*. 2015;486(1):88-98.
۴. Zilberman M, Egozi D, Shemesh M, Keren A, Mazor E, Baranes-Zeevi M, et al. Hybrid wound dressings with controlled release of antibiotics: Structure-release profile effects and in vivo study in a guinea pig burn model. *Acta biomaterialia*. 2015;22:155-63.
۵. Kamel RA, Ong JF, Eriksson E, Junker JP, Caterson EJ. Tissue engineering of skin. *Journal of the American College of Surgeons*. 2013;217(3):533-55.
۶. Agarwal T, Narayan R, Maji S, Behera S, Kulanthaivel S, Maiti TK, et al. Gelatin/Carboxymethyl chitosan based scaffolds for dermal tissue engineering applications. *International journal of biological macromolecules*. 2016.
۷. Kharaziha M, Nikkhah M, Shin S-R, Annabi N, Masoumi N, Gaharwar AK, et al. PGS: Gelatin nanofibrous scaffolds with tunable mechanical and structural properties for engineering cardiac tissues. *Biomaterials*. 2013;34(27):6355-66.
۸. Rai R, Tallawi M, Grigore A, Boccaccini AR. Synthesis, properties and biomedical applications of poly (glycerol sebacate)(PGS): a review. *Progress in polymer science*. 2012;37(8):1051-78.
۹. Masoumi N, Jean A, Zugates JT, Johnson KL, Engelmayr GC. Laser microfabricated poly (glycerol sebacate) scaffolds for heart valve tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2013;101(1):104-14.
۱۰. Nguyen T-H, Lee B-T. Fabrication and characterization of cross-linked gelatin electro-spun nano-fibers. *Journal of Biomedical Science and Engineering*. 2010;3(12):1117.