

مطالعه خواص سلولز باکتریایی حاوی دندریمر، مواد گیاهی و شیمیایی

ریحانه آذر می^۱، علی اشجاران^۱، شیرین نوربخش^{۱*}، اعظم طالبیان^۱

^۱ گروه نساجی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، تهران، ایران، کد پستی ۱۸۱۵۱۶۳۱۱۱

nourbakhsh.sh@gmail.com

چکیده

ویژگی های منحصر به فرد نانو ساختار ظریف سلولز باکتریایی تولید شده توسط استوباکتر گزلینوم سبب تحقیقات زیادی در جهت تولید یک پانسمان ایده آل از این ترکیب شده است. هدف اصلی این مطالعه، بررسی اثر سلولز باکتریایی حاوی دندریمر و عصاره های گیاهی (حنا، چای سبز، پنیرک صحرایی) و مواد شیمیایی (پنی سیلین، لیدوکائین و اسید گلیکولیک) بر روی باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس (گرم مثبت) و سودوموناس آئروژینوزا (گرم منفی) می باشد. در این مطالعه دیسک های سلولزی تهیه شده از سلولز باکتریایی، با ۰.۵ درصد دندریمر تکمیل شدند. سپس سلولز میکروبی خام در مدت زمان ۴۸ ساعت در دمای اتاق با مواد گیاهی و شیمیایی غوطه ور شد. نتایج ضد میکروبی به صورت هاله عدم رشد پس از ۲۴ ساعت در برابر باکتری های مورد نظر اندازه گیری شد. میزان رهایش مواد موثره از سلولز باکتریایی در آب و بافر فسفات، آنالیز میکروسکوپی SEM و طیف سنجی FTIR انجام شد. تمام نمونه های تکمیل شده با دندریمر و مواد موثره گیاهی و شیمیایی دارای هاله عدم رشد در محیط استافیلوکوکوس ارئوس و نمونه تکمیل شده با اسید گلیکولیک دارای هاله عدم رشد در برابر سودوموناس آئروژینوزا بود. رهایش تمام مواد در بافر فسفات بیشتر از آب بود. نتایج میکروسکوپ SEM نمونه سلولز میکروبی خالص، دارای یک ساختار شبکه سه بعدی بسیار متخلخل را نشان داد. نتایج آنالیز FTIR گروه های عاملی روی سطح و پیوند بین دندریمر، سلولز میکروبی و دندریمر-مواد گیاهی-مواد شیمیایی را نشان داد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس ارئوس، سودوموناس آئروژینوزا، سلولز باکتریایی، هاله عدم رشد، عصاره گیاهی و مواد دارویی

Study on the Properties of Bacterial Cellulose Containing Dendrimers, Plant and Chemical Materials

Reyhaneh Azarmi¹, Ali Ashjarian¹, Shirin Nourbakhsh^{1*}, Aazam Talebian¹

¹Textile Department, Islamic Azad University, Yadegar-e Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Tehran, Iran, 1815163111
nourbakhsh.sh@gmail.com

Abstract

The unique properties of the bacterial cellulose nanostructure produced by *Acetobacter xylinus* are the reason of extensive research to produce an ideal wound dressing. The aim of this study was to evaluate antibacterial effect of bacterial cellulose finished with dendrimer and herbal extract (henna, green tea, malva sylvestris) and chemical pharmaceutical compounds (penicillin, lidocaine, glycolic acid) on *Staphylococcus aureus* (Gram positive) and *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negative) bacteria. Cellulose disks prepared from bacterial cellulose were finished with 0.5% dendrimer. The bacterial cellulose was then immersed in herbal extracts and chemical materials for 48 hours at room temperature. Antimicrobial results were measured as a disk diffusion after 24 hours. Drug delivery of herbal extract and chemical pharmaceutical compounds from bacterial cellulose in water and phosphate buffer, microscopic analysis (SEM) and spectroscopy FTIR were evaluated. All samples treatment with dendrimers and herbal and chemical compound had a growth inhibition zone on *Staphylococcus aureus* bacteria and the bacterial cellulose treatment with glycolic acid had a growth inhibition zone against *Pseudomonas aeruginosa*. Drug delivery of all materials in phosphate buffer was more than water. Scanning Electron Microscopy (SEM) results showed that pure bacterial cellulose samples had a highly porous three-dimensional network. The results of the FTIR analysis indicated functional groups on the surface, chemical bond between bacterial cellulose and dendrimer, dendrimer and herbal extract, and chemical pharmaceutical.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, bacterial cellulose, Inhibition zone, herbal extract, and pharmaceutical compound

۱. مقدمه

در دهه های اخیر انواع پلیمرهای میکروبی در تولید فرآورده های مختلف پزشکی کاربرد زیادی یافته اند که مهم ترین دلیل برای تمایل به استفاده از محصولات میکروبی سازگاری آنها با سیستم های زیستی می باشد. یکی از این محصولات میکروبی، بیو فیلم سلولزی تولید شده توسط باکتری استوباکترگزلیپنوم بوده که دارای ویژگی های منحصر به فردی به عنوان یک پانسما ایده آل می باشد [۱]. سلولز میکروبی از لحاظ ساختار مولکولی مشابه سلولز گیاهی است اما تا حدودی خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی دارد. الیاف و لایه حاصله دارای استحکام کششی بالا، تخلخل زیاد و ساختار نانو فیبریلی نسبت به سلولز گیاهی می باشد ظرفیت بالای نگهداری آب، افزایش تکثیر سلولی پوست، منافذ نانومتری، مانع نفوذ باکتری ها به سطح زخم شده و در عین حال تبادل هوایی را برقرار می سازد و سازگاری آن با سیستم ایمنی بدن از ویژگی های برجسته این محصول میکروبی می باشد. این ویژگی ها باعث شده تا این فرآورده به عنوان یک پانسما نوین مورد توجه زیادی قرار گیرد. سلولز میکروبی در صنایع مختلف از جمله آرایشی و بهداشتی استفاده می شود و به عنوان یک محصول ایده آل در پانسما زخم به کار می رود [۳ و ۲]. دندریمر ساختارهای سه بعدی، بسیار منشعب و شعاعی متقارن دارد و دارای گروههایی است که در سه بعد منظم و پر شاخه قرار گرفته اند. آن ها شامل یک هسته مرکزی، شاخه های اتصال دهنده درونی و گروههای انتهایی

هستند [۴-۶]. طیف وسیعی از ترکیبات طبیعی و شیمیایی وجود دارند که به عنوان مواد ضد میکروبی مورد استفاده قرار می گیرند. که در تحقیق حاضر برای تکمیل ضد باکتریایی سلولز میکروبی از عصاره مواد مؤثره گیاهی و شیمیایی از جمله حنا، چای سبز، پنیرک صحرایی، اسید گلیکولیک، پنی سیلین و لیدوکائین استفاده شد. گیاه حنا دارای خواص درمانی زیادی از قبیل: کمک به بهبود زخمهای عفونی ناشی از باکتری ها، اثر ضد قارچی قوی است که از مهمترین اجزای آن میتوان به Lawsonia نام برد که دارای اثرات ضد باکتریایی قوی می باشد [۷]. چای سبز ماده ضد التهاب قوی است. در تمام مطالعات، نشان داده شد که بیشترین فعالیت ضد باکتریایی مربوط به ترکیبات گالولیل (EGCG، ECG و دیپلات تئافلایون) است [۸]. از گیاه پنیرک به طور سنتی به عنوان دارو برای ضد التهاب، ضد درد، کلان ساز، ضد باکتری و ضد قارچ می توان استفاده نمود. بررسی های فنو شیمیایی عصاره پنیرک نشان داده است که عصاره هیدروآتانولی برگ گیاه پنیرک حاوی مقادیری از ترکیبات پلی ساکاریدی، آنتوسیانین، فلاونوئید، تانن و فنل می باشد که دارای خواص ضد میکروبی است [۹]. لیدوکائین دارویی است که برای بی حس کردن بافت در ناحیه خاص (بی حسی موضعی) به کار می رود و باعث می گردد که رشته های عصبی بی حس گردد [۱۰]. این داروی غیر آنتی بیوتیکی دارای فعالیت ضد میکروبی است که اغلب در درمان عفونت های جدی چشمی استفاده می شود [۱۱]. اسید گلیکولیک

کاهش دهد. هم چنین به دلیل ساختار نانو می تواند بر روی زخم به مدت طولانی تری قرار گیرد و از رشد میکروارگانیسم به دلیل عبور اکسیژن از سطح زخم جلوگیری کند. بنابراین کاندید خوبی به جای استفاده از پوشش الیاف سلولزی است [۱۶]. هدف از این مطالعه بررسی اثر حضور همزمان لایه سلولز باکتریایی و دندریمر به همراه مواد موثره گیاهی و شیمیایی نظیر حنا، پنیرک، چای سبز، پنی سیلین، لیدوکائین و اسید گلیکولیک بر روی باکتری استافیلوکوکوس ارئوس و سودوموناس آئروژینوزا می باشد.

۲. تجربیات

یکی از معروفترین محیط‌های کشت سلولز که در بسیاری از تحقیقات به منظور تولید سلولز میکروبی از آن استفاده می‌گردد، محیط کشت (HS) Schram و Hestrin است ترکیبات مختلف این محیط کشت در جدول ۱ آورده شده است. که برای تولید سلولز از محیط کشت در pH=5 استفاده می‌شود. توانایی تولید سلولز توسط باکتری در محیط کشت HS مورد ارزیابی قرار گرفت که تشکیل صفحه سلولزی در سطح محیط کشت تأیید کننده استوباکترگزلینیوم است. جدول ۱ ترکیبات و مقادیر محیط کشت HS و جدول ۲ عناوین اختصاری و کدبندی نمونه‌ها را نشان می‌دهد.

جدول ۱ - ترکیبات و مقادیر محیط کشت HS

نوع ماده	مقدار w/v %
گلوکز	2
پپتون	0.5
عصاره مخمر	0.6

(GO) یک محصول جانبی گلیکولیز است که برای ضد عفونی سطح استفاده شده و دارای خاصیت ضد درد است [۱۲].

پنی سیلین، مانند سایر آنتی بیوتیک بتا لاکتام، حاوی یک حلقه بتا لاکتام چهار عضوی است، که مسئول مهار ترانسپیتی در باکتری است [۱۳]. در تحقیقی، پارچه پنبه‌ای با دندریمر پلی پروپیلن ایمین و رنگزای قرمز C.I ۸۱ و رنگزای آبی C.I ۷۸ تکمیل گردید. در این تحقیق رنگ مستقیم و دندریمر بوسیله روش رمق کشی بر روی پنبه قرار گرفت. تحقیقات تکمیل نشان می‌دهد که این روش باعث افزایش قدرت رنگی می‌گردد و هیچ اثر منفی روی خصوصیات رنگی ندارد [۱۴]. در تحقیق دیگری بر روی درمان بیماران سرطانی با دندریمر صورت گرفت. سرطان باعث مرگ ۹۰ درصد از بیماران سرطانی می‌شود. پیشرفت نانو مواد جدید برای گیر انداختن سلول‌های سرطانی ضروری است. یکی از دستاوردهای جدید، ساختن سلولز استات الکترورسی شده اصلاح شده با دندریمر PAMAM برای بهبود بخشیدن سلول‌های سرطانی است [۱۵]. پوشش‌های سلولز میکروبی بارگذاری شده با دندریمر در حضور مواد موثره گیاهی و شیمیایی (حنا، چای سبز، پنیرک، اسید گلیکولیک، پنی سیلین، لیدوکائین) بر روی زخم محیطی مرطوب ایجاد می‌کنند که می‌تواند جایگزین مناسبی برای پوشش‌های قدیمی زخم که اغلب محیطی خشک ایجاد می‌کنند، باشند. علاوه بر این، این پوشش‌ها به دلیل ساختار شفاف آن می‌تواند طول درمان بیماری و هزینه بیمار را

دی سدیم فسفات بدون آب	0.27
اسید سیتریک مونوهیدرات	0.15

صافی قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفت [۱۷].

آغشته سازی با دندریمر

آغشته سازی نمونه‌های سلولز باکتریایی (BC) با دندریمر به روش رفق کشی به مدت ۹۵ دقیقه صورت پذیرفت. نسبت مایع به کالا ۳۰:۱ و غلظت دندریمر ۰/۵٪ بود. پس از تکمیل با دندریمر نمونه‌ها آبکشی شدند [۱۸].

آغشته سازی با مواد گیاهی و دارویی

نانو لایه‌های سلولز میکروبی به اندازه ۱ در ۱ سانتی متر بریده شدند. نانو لایه‌های سلولز میکروبی سپس با حنا، چای سبز و پنیرک با غلظت ۱۰۰ mg/ml، لیدوکائین و اسید گلیکولیک با غلظت های ۲۰ mg/ml و پنی سیلین با غلظت ۱۰ mg/ml به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق غوطه ور شد [۱۹]. البته حنا با غلظت ۳۰ mg/ml، ۵۱،۷ mg/ml، چای سبز با غلظت ۹۰ mg/ml، پنیرک صحرایی با غلظت ۵۱،۷ mg/ml کار شد ولی جواب گرفته نشد.

آزمایش ضد میکروبی

روش disk diffusion جهت بررسی حساسیت باکتری S. aureus (ATCC 25923) و باکتری aeruginosa (ATCC p. 27853) تمام نمونه ها انجام شد. یک سانتی متر مربع از هر نمونه در آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. تمام آزمایشات با سه بار تکرار انجام شد. جهت انجام روش disk diffusion روش سوسپانسیون مستقیم از کلنی انجام شد و

جدول ۲ - عناوین اختصاری و کدبندی نمونه ها

نام نمونه	کد گذاری نمونه‌ها
سلولز میکروبی - دندریمر - پنیرک	BC-D- Pani
سلولز میکروبی - دندریمر - حنا	BC-D-H
سلولز میکروبی - دندریمر - چای سبز	BC-D-G
سلولز میکروبی - دندریمر - پنی سیلین	BC-D-Peni
سلولز میکروبی - دندریمر - اسید	BC-D-A
سلولز میکروبی - دندریمر - لیدوکائین	BC-D-L

به منظور خالص سازی صفحه سلولزی تولیدی را به مدت ۳ ساعت درون SDS (سدیم دو دسیل سولفونات) دو درصد در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و در طی این مدت مواد رنگی خارج شده از لایه سلولزی از ظرف خارج شد و سپس سلولز میکروبی را با آب مقطر شستشو داده و آن را به مدت ۹۰ دقیقه در NaOH چهار درصد در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن لایه سلولزی با آب مقطر شستشو داده شد. سلولز میکروبی تیمار شده که به صورت شفاف و فاقد ناخالصی است به مدت یک شب درون آب مقطر قرار گرفت. سپس برای خروج آب اضافی از آن، روی

داده شد رهائش آنها هر ۸ ساعت اندازه گیری گردید. این پروسه به مدت ۸ ساعت طول کشید و در نهایت اعداد جذب حنا، چای سبز، پنیرک، پنی سیلین، لیدوکائین و اسید گلیکولیک به ترتیب در ۲۵۶، ۳۴۸، ۲۵۷، ۲۹۰ و ۲۲۱ و ۲۰۶ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتری جذبی اندازه گیری شد [۱۹].

طیف سنجی مادون قرمز FTIR

طیف سنجی FTIR برای شناسایی حضور گروه‌های عاملی خاص و واکنش‌های شیمیایی در یک نمونه انجام شد. برای آماده سازی نمونه ها ، ابتدا تمام نمونه ها کاملاً پودر شده و سپس با پودر برومور پتاسیم مخلوط شد. سپس مخلوط تحت فشار قرار گرفت. برمور پتاسیم تحت فشار ذوب شده و ترکیب مورد نظر به صورت ماتریس شکل گرفت. قرص KBr تولید شده در یک نگهدارنده در طیف سنج FTIR قرار گرفت. نام دستگاه مورد استفاده در این تحقیق (Germany) ، Bruker Tensor 27 IR) است.

میکروسکوپی SEM

به منظور تایید ساختار سلولز میکروبی و سلولز میکروبی تکمیل شده با مواد، تمام نمونه های خشک شده بر روی گرید مسی قرار گرفت و توسط لایه ای از طلا پوشانیده شد. عکسبرداری توسط میکروسکوپ الکترونی پویشی با

طی آن سوسپانسیون هر سویه باکتریایی از کلنی رشد یافته در محیط نوترینت آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ ساعت ساخته شد. تعداد باکتری در سوسپانسیون مطابق کدورت استاندارد نیم مک فارلند و در حدود $1-2 \times 10^8$ کلنی در هر میلی لیتر تنظیم شد. تست با کشت باکتری توسط سوآپ استریل بر روی پلیت حاوی ۲۵ میلی لیتر محیط مولر هینتون آگار انجام شد. نمونه ها به همراه کنترل آنها در ۱۵ دقیقه پس از کشت بر روی پلیت قرار داده شدند. پلیت ها در مدت ۱۵ دقیقه پس از قرار دادن نمونه ها درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه به مدت ۱۸ ساعت قرار گرفتند. بررسی حساسیت باکتریایی به وسیله اندازه گیری هاله عدم رشد در اطراف نمونه نانو لیف صورت گرفت [۲۰].

میکروارگانیزم

در این پژوهش از دو گونه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (ACCT 25923) و سودوموناس آئروژینوزا (ACCT 27853) استفاده شد. که سویه این میکرو ارگانیزم‌ها از آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه تهران تهیه شد. فعالیت ضد میکروبی تمامی نمونه‌ها به وسیله این دو باکتری تست شد. در ابتدا تمامی نمونه‌ها به وسیله نور UV استریل شدند.

ارزیابی رهائش ۸ ساعت دارو

به منظور تست رهائش لایه های نانو لیفی شامل ۶ ماده به صورت جداگانه در ۱۰cc آب مقطر و ۱۰cc بافر فسفات قرار

ولتاژ ۲۴ کیلوولت صورت گرفت. MIRA 3 TESCAN, (Czech Republic)

۳. نتایج و بحث

نتایج آزمایش ضد میکروبی

نتایج فعالیت ضد باکتریایی نمونه سلولز میکروبی تکمیل شده با دندریمر و سلولز میکروبی تکمیل شده با دندریمر و مواد دارویی با روش انتشار آگار تعیین شد و در جدول ۳ و شکل ۱ و ۲ قطر هاله عدم رشد نشان داده شده است. هاله عدم رشد در بعضی از موارد نتیجه ای به همراه نداشته که با خط تیره در جدول نمایش داده شده است. به دلیل خواص منحصر به فرد BC ناشی از ساختار بسیار ریز شبکه ای، تکمیل اصلاح شده BC یک ماده پانسمان عالی برای درمان انواع سوختگی زخم است. اما سلولز میکروبی به تنهایی دارای خاصیت ضد میکروبی نمی باشد. بنابراین باید با موادی همانند دندریمر و مواد دارویی آن را تکمیل نمود. دندریمرها را می توان به دلیل گروه های عاملی آمین اولیه متراکم به عوامل ضد میکروبی موثر تبدیل کرد. دندریمرها ساختارهای سه بعدی بسیار شاخه ای هستند که برای ایجاد حفره های قابل تنظیم با خواص آمونیم طراحی شده اند. دندریمرها افزایش تصاعدی در گروه های عاملی با نسل ها نشان می دهند و معمولاً تک مولکولی بزرگ تک پراکنده هستند. طبق مطالعات مختلف، مولکول های شاخه دار رفتار متفاوتی با پلیمرهای معمولی دارند [۲۱]. علاوه بر این، غلظت های بالای

گروه های عاملی سطح مولکولی دندریمرها می توانند بر خواص ضد باکتریایی مولکول متقابل تسلط داشته باشند. اگر انتهای گروه های سطحی دندریمرها با گروه های ضد میکروبی فعال بیولوژیکی (مانند دندریمر و داروها) فعال شود، ممکن است فعالیت ضد میکروبی دندریمرها افزایش یابد [۲۲]. بر اساس برخی مطالعات، چای سبز دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد سمی است که شامل پلی فنول ها، یعنی کاتچین های اپی گالوکاتچین گالات (EGCG)، اپی گالوکاتچین (EGC)، اپی کاتچین گالات (ECG) و اپی کاتچین (EC) است که تا حد زیادی مسئول این فعالیت ها هستند [۲۳].

مهار ضد باکتری چای سبز به دلایل (۱) مهار عوامل سموم و ماتریکس خارج سلولی؛ (۲) اختلال در دیواره سلول و غشای سلول. (۳) مهار آنزیم های داخل سلولی. (۴) تنش اکسیداتیو؛ (۵) آسیب DNA است. به همین دلیل چای سبز دارای خاصیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به حنا و پنیرک می باشد [۲۴]. از بین مواد شیمیایی همانند پنی سیلین، لیدوکائین و اسید گلیکولیک، پنی سیلین دارای بیشترین خاصیت ضد میکروبی در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس است و مکانیزم عملکرد آن از طریق مهار سنتز دیواره سلول باکتری است [۲۵].

از بین مواد شیمیایی همانند پنی سیلین، لیدوکائین و اسید گلیکولیک، اسید گلیکولیک دارای خاصیت ضد باکتری در

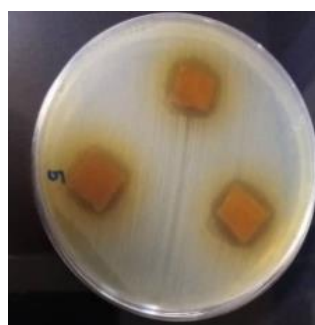
این ماده می تواند با سطح توسط اتصالات فیزیکی پیوند برقرار کند در حالی که سایر مواد تنها می توانند با سطح از طریق اتصالات شیمیایی متصل گردند. هم چنین به عنوان یک عامل اکسید کننده بر روی سطح عمل می کند. [۲۶].

گلیکولیک اسید یکی از مواد برای طیف وسیعی از تمیز کردن مواد و کاربردهای صنعتی است. گلیکولیک اسید (هیدروکسی استیک اسید) اولین عضو از سری آلفا هیدروکسی کربوکسیلیک اسیدها است ، به این معنی که یکی از کوچکترین مولکولهای آلی با عملکرد اسیدی و الکلی است. [۲۷].

برابر باکتری سودوموناس آئروژینوزا است. گلیکولیک اسید کوچکترین اسید آلفا هیدروکسی است و به طور گسترده ای برای کاربردهای مراقبت از پوست ، از جمله از بین بردن آکنه و لگاریس استفاده می شود. آکنه و لگاریس می تواند باعث ایجاد بیش از حد و التهاب و ایجاد ضایعات پوستی شود. بسیاری از استراتژی ها برای درمان آکنه و لگاریس و یک روش امیدوار کننده شامل استفاده از آنتی بیوتیک برای مهار C. آکنه در سطح پوست است. با این حال ، درمان های آنتی بیوتیکی می تواند اشکالاتی مانند تحریک پوست و ظهور سویه های C. آکنه مقاوم در برابر آنتی بیوتیک گردد.



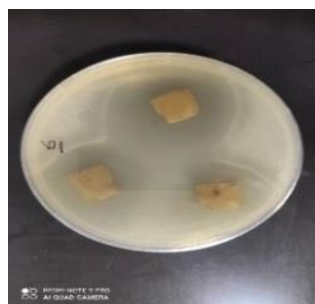
(ب)



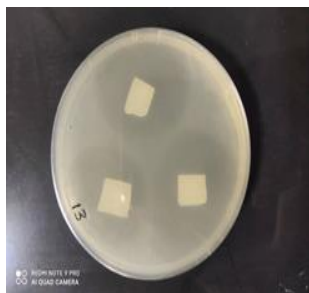
(الف)



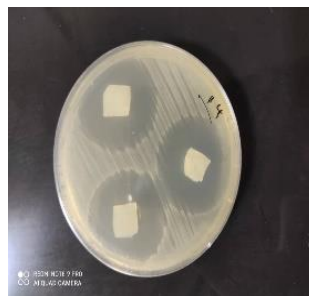
(ج)



(ح)



(خ)



(ح)

شکل ۱: نمونه سلولز میکروبی تکمیل شده در حضور الف) حنا ب) چای سبز ج) پنیرک چ) لیدوکائین ح) پنی سیلین خ) اسید گلیکولیک در حضور باکتری استافیلوکوکوس ارئوس

شکل ۱- نمونه سلولز میکروبی تکمیل شده در حضور الف) حنا ب) چای سبز ج) پنیرک چ) لیدوکائین ح) پنی سیلین خ) اسید گلیکولیک در حضور باکتری استافیلوکوکوس ارئوس

20.5	24	دندریمر- اسید گلیکولیک
------	----	------------------------



رهایش دارو و مواد

با توجه به خواص ضروری نانو سلولز ، از جمله تبلور زیاد ، سازگاری زیستی ، تجزیه بیولوژیکی ، سطح زیاد ، خصوصیات مکانیکی و رئولوژیکی منحصر به فرد ، مورفولوژی و ابعاد هندسی ، این محصول در سال های اخیر به طور گسترده ای برای سیستم های انتقال دارو مورد بررسی قرار گرفته است. رهایش کنترل شده دارو فرآیندی است که در آن یک حامل پلیمری (مانند : نانو ذرات پلیمری، نانو ذرات فلزی، نانو ذرات پروتئینی، نانو ذرات لیپیدی) به طور حساب شده ایی با دارو یا عامل فعال ترکیب شده تا عامل فعال در بدن به شکلی از پیش تعیین شده و دلخواه از این ماده رها

شکل ۲- نمونه سلولز میکروبی تکمیل شده در حضور اسید گلیکولیک در حضور باکتری سودوموناس آئروژینوزا

جدول ۳- هاله عدم رشد نمونه ها در برابر باکتری اشرشیاکولی و

سودوموناس آئروژینوزا

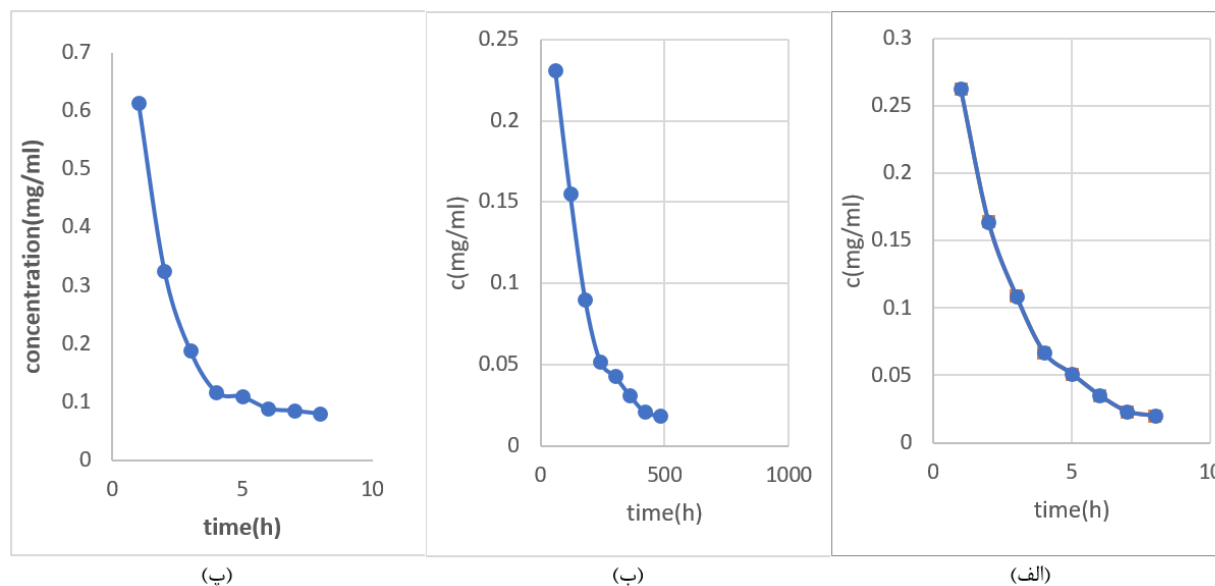
اندازه هاله عدم رشد در برابر باکتری سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 27853)	اندازه هاله عدم رشد در برابر باکتری اشرشیا کولی (ATCC 25923)	نام نمونه
--	8	دندریمر- پنیرک
--	25	دندریمر-چای سبز
--	18	دندریمر- حنا
--	34.5	دندریمر- لیدوکائین
--	45	دندریمر- پنی سیلین

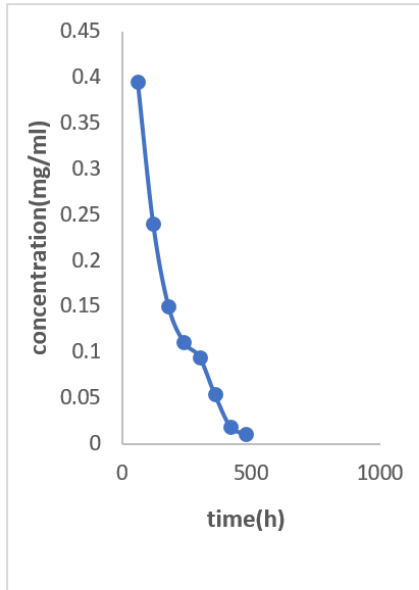
شود. پروفایل انتشار ۸ ساعته دارو در شکل‌های ۳ در آب مقطر و بافر فسفات نشان داده شده است.

دافعه الکترواستاتیک بین گروه‌های آمینه پروتون شده در ساختار دندریمر و اسید باشد [۲۸].

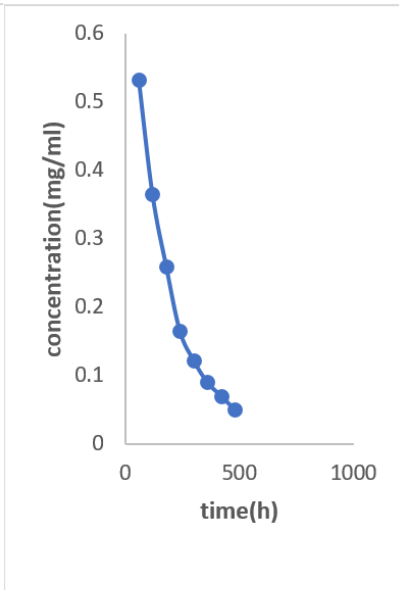
همان گونه که در شکل‌های ۳ مشاهده می‌شود رهائش مواد موثره در بافر فسفات بیشتر از آب است. علت این موضوع به دلیل پروتونه شدن آمین در ساختار دندریمر PAMAM باشد. در نتیجه، در PH فیزیولوژیک ($\text{PH} = 7$) این آمین پروتونه نمی‌شود. در حالی که پروتوناسیون در محلول‌های اسیدی با pH 5.5-6 رخ می‌دهد. بنابراین گروه آمین توانایی اتصال مولکولهای مهمان را از دست می‌دهد، هم چنین ممکن است به دلیل تورم ناشی از فشار اسمزی و

با مشاهده نمودارهای الف تا ح می‌توان دریافت که میزان انتشار اسید گلیکولیک در آب از پنی سیلین و لیدوکائین بیشتر است، که مربوط به ساختار کوچک آلفا اسیدها می‌باشد. همچنین با مشاهده نمودارهای خ تا ژ می‌توان دریافت نتایج نشان داد که پس از ۸ ساعت از انتشار، تمام محتوای حنا در آب از جزء سلولز میکروبی تحویل داده شد. در حالی که میزان انتشار چای سبز و پنیرک صحرایی کمتر از حنا بود. حنا احتمالاً به دلیل ساختار شیمیایی با سطح سلولز میکروبی و دندریمر ارتباط ضعیفی برقرار کرده است.

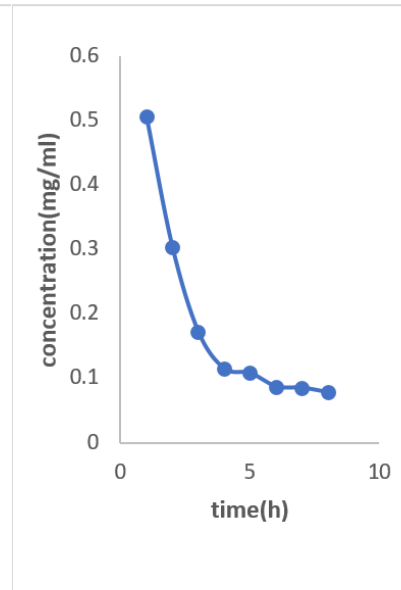




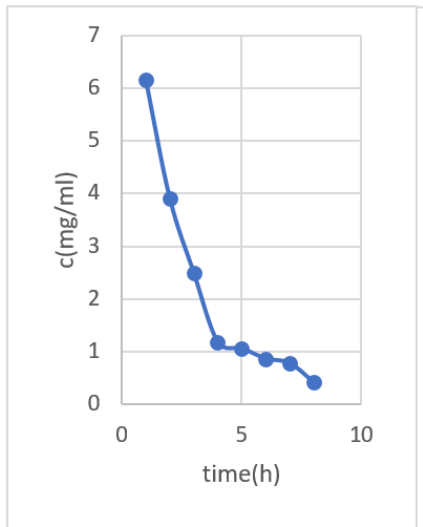
(ا)



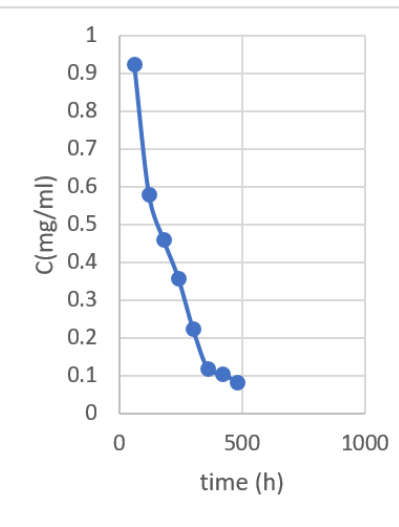
(ب)



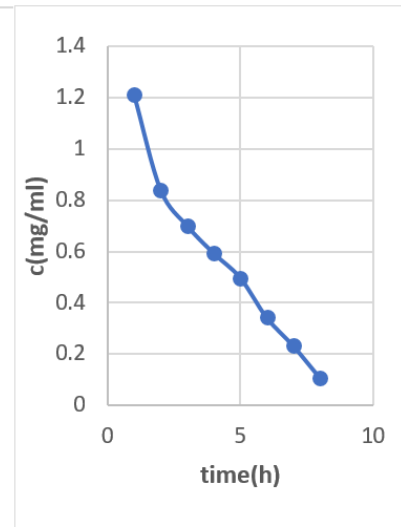
(ج)



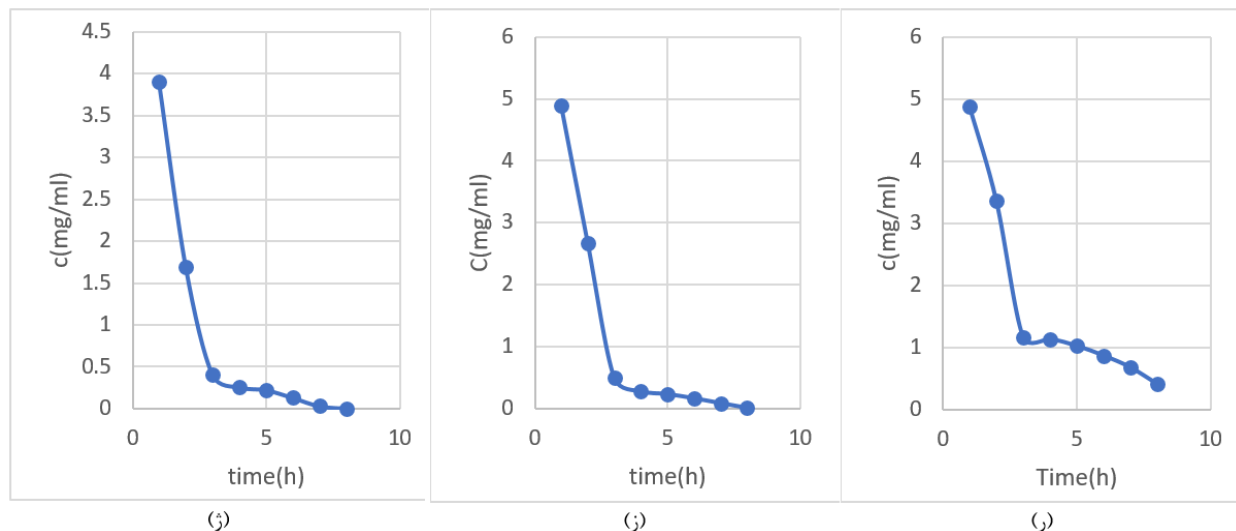
(د)



(ه)



(و)



شکل ۳- الف) رهایش دندریمر- پنی سیلین در بافر فسفات ب) رهایش دندریمر -پنی سیلین در آب مقطر پ) رهایش دندریمر -لیدوکائین در بافر فسفات ج) رهایش دندریمر -لیدوکائین در آب مقطر چ) رهایش دندریمر -اسید در بافر ح) رهایش دندریمر-اسید در آب خ) رهایش دندریمر چای سبز در بافر د) رهایش دندریمر چای سبز در آب ذ) رهایش دندریمر - پنیرک در بافر فسفات ر) رهایش دندریمر پنیرک در آب ز) رهایش دندریمر حنا در بافر ز) رهایش دندریمر حنا در آب

نتایج آنالیز FTIR

2921.52 cm^{-1} در پیک و 1602.66 ، 1625.80 ، 1748.84

و 2895.16 به دلیل کشش CH در CH_2 در پنی سیلین و اسید است و پیک در 662.71 cm^{-1} مربوط به CH خمشی در لیدوکائین است در طیف این نمونه‌ها، پیک در حدود cm^{-1} 3740.12 ، 3838.13 و 3727.49 به ترتیب در اسید، لیدوکائین و پنی سیلین را می‌توان به ارتعاش کششی پیوند (NH) نسبت داد، که نشان‌دهنده واکنش بین گروه NH_2 (دندریمر) و گروه هیدروکسیل مواد شیمیایی با پیوند هیدروژنی است.

علاوه بر این، همانطور که در شکل نشان داده شده است، با افزودن مواد دارویی به نمونه دندریمر - کیتوزان، طیف FT-IR دندریمر سلولز تغییرات قابل توجهی داشت. بر اساس این طیف، ارتعاشات کششی پیوندهای OH در این طیف به ترتیب از 3330.57 cm^{-1} / 3330.57 سانتی‌متر به عدد موجهای cm^{-1}

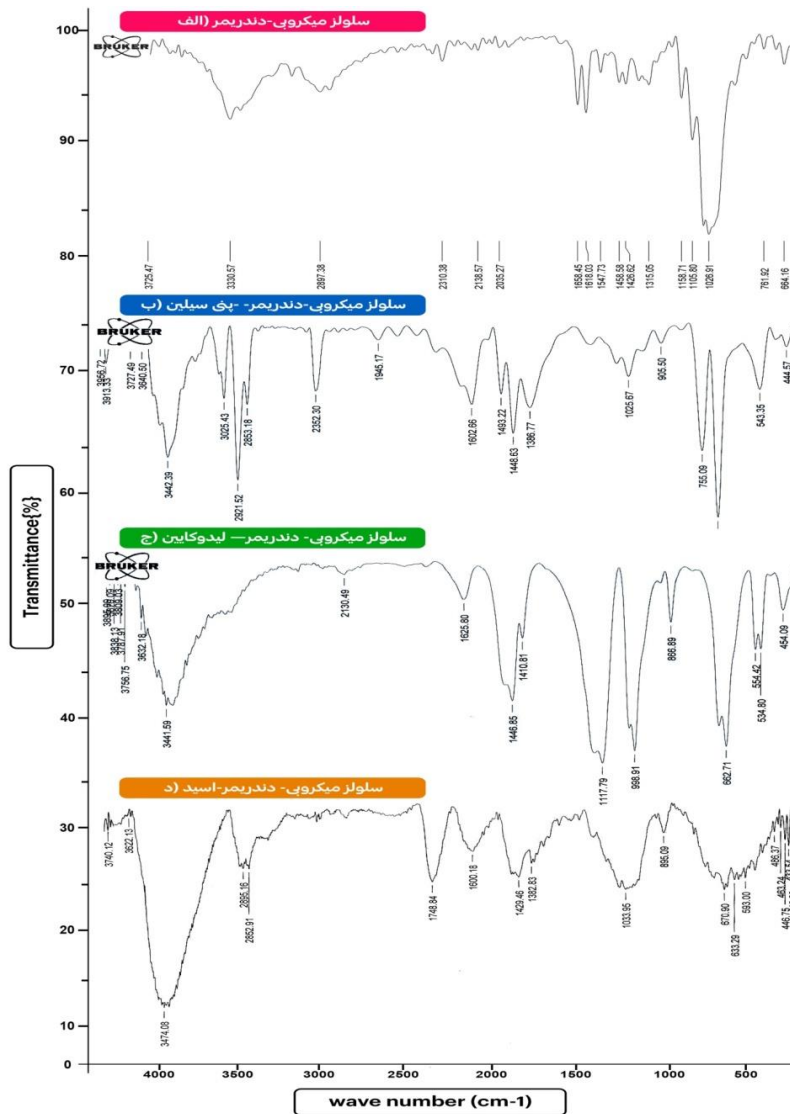
شکل ۴ مربوط به طیف FTIR سلولز تکمیلی با دندریمر در حضور مواد شیمیایی (لیدوکائین، پنی سیلین و اسید گلیکولیک) است. پیک در 1158.71 cm^{-1} وجود کشش C-N آمین را تأیید کرد و پیک در 2897.38 cm^{-1} به دلیل CH کششی در CH_2 بود. همچنین، در طیف‌های تکمیل شده با دندریمر، یک ارتعاش کششی ضعیف N-H در 3725.45 cm^{-1} آمین را نشان داد و پیک در حدود 3330.57 cm^{-1} ممکن است به ارتعاش کششی پیوند هیدروکسیل (O-H) تعلق داشته باشد. تمام پیک‌های مشاهده شده در طیف FTIR، ارتباطات دندریمر PAMAM با سلولز میکروبی را تأیید کردند. ارتعاش کششی پیوندهای C=O یا ارتعاش کششی پیوندهای C=C در اسید گلیکولیک، لیدوکائین و پنی سیلین به ترتیب در cm^{-1}

۳۴۷۴,۰۸، ۳۴۴۱,۵۹ و ۳۴۴۲,۳۹ در اسید، لیدوکائین و پنی سیلین منتقل شد. بنابراین، پیوندهای OH به طور قابل توجهی گسترده تر و شدیدتر شده بود که می تواند به دلیل پیوند هیدروژنی بین گروه های دندریمر با گروه های قطبی (OH) در ساختار شیمیایی مواد است [۲۹]

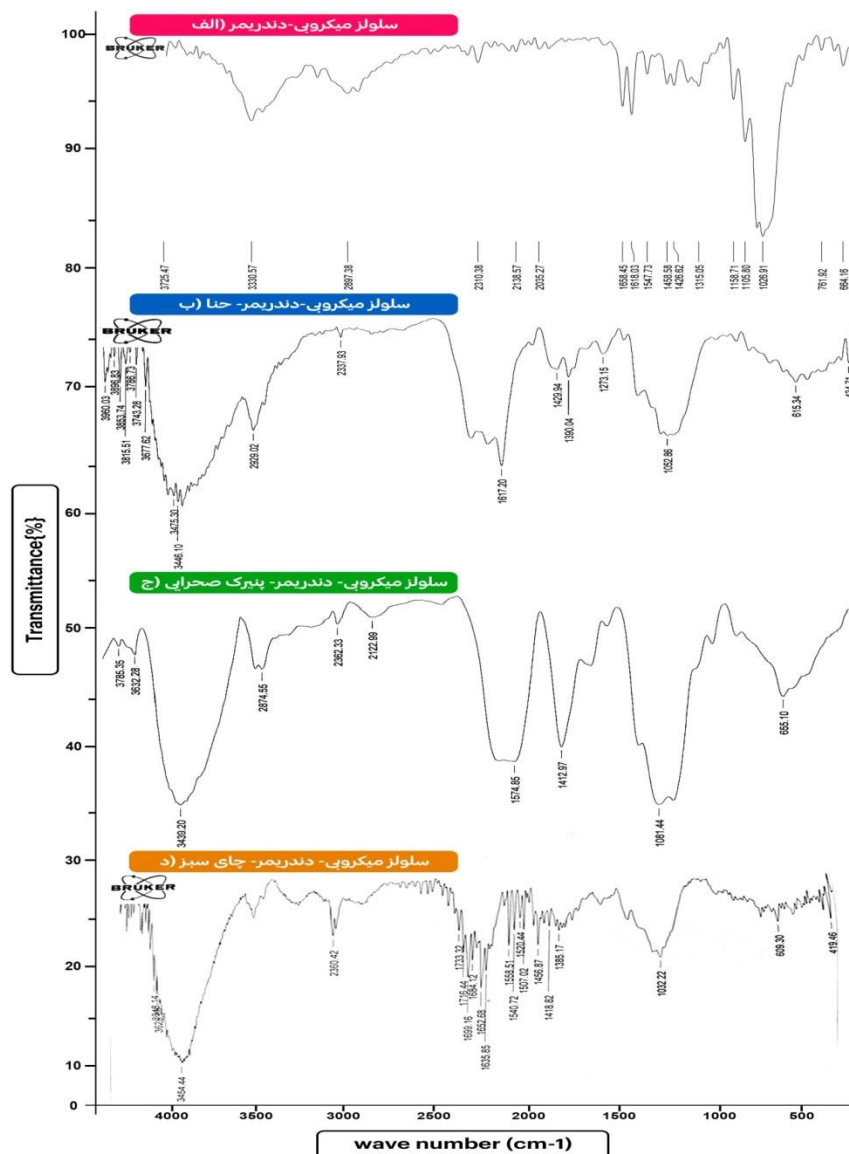
شکل ۵ مربوط به طیف FTIR سلولز تکمیلی با دندریمر در حضور مواد گیاهی (حنا، پنیرک و چای سبز) است. پیک در ۱۱۵۸,۷۱ وجود کشش C-N آمین را تأیید کرد و پیک در $2897,38 \text{ cm}^{-1}$ به دلیل کشش CH_2 بود. همچنین، در طیف های تکمیل شده با دندریمر، یک ارتعاش کششی ضعیف N-H در 3725.45 cm^{-1} آمین را نشان داد و پیک در حدود 3330.57 cm^{-1} ممکن است به ارتعاش کششی پیوند هیدروکسیل (O-H) تعلق داشته باشد. تمام پیک های مشاهده شده در طیف FTIR، ارتباطات دندریمر PAMAM با سلولز میکروبی را تأیید کردند. ارتعاش کششی پیوندهای C=O یا ارتعاش کششی پیوندهای C=C در حلقه های معطر در حنا، چای سبز و پنیرک به ترتیب در نواحی $1617,20$ و $1635,85$ ، $1574,85$ بود. پیک در $2874,55$ ، $2929,02$ به دلیل کشش CH در CH_2 در پنیرک

صحرايي و حنا ماده بود. پیک $609,30 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاش خمشی در چای سبز است. در طیف این نمونه ها، پیک در حدود $3743,28 \text{ cm}^{-1}$ و 3848.14 و $3785,35$ را می توان به ارتعاش کششی پیوند (-NH) در حنا، چای و پنیرک نسبت داد، که نشان دهنده واکنش بین گروه NH_2 (دندریمر) و گروه هیدروکسیل عصاره گیاهی و یا سلولز میکروبی با پیوند هیدروژنی است.

علاوه بر این، همانطور که در شکل نشان داده شده است، با افزودن عصاره گیاهی به نمونه دندریمر - کیتوزان، طیف FT-IR دندریمر - کیتوزان - سلولز تغییرات قابل توجهی داشت. بر اساس این طیف، ارتعاشات کششی پیوندهای OH در این طیف به ترتیب از $3330/57 \text{ cm}^{-1}$ به عدد موج های $3439,20$ ، $3454,44$ ، $3446,10 \text{ cm}^{-1}$ و پنیرک منتقل شد. بنابراین، پیک پیوندهای OH به طور قابل توجهی گسترده تر و شدیدتر شده بود که می تواند به دلیل پیوند هیدروژنی بین گروه های دندریمر با گروه های قطبی (OH) در ساختار شیمیایی ترکیبات در حنا، چای سبز، پنیرک باشد. [۳۰ و ۳۱]



شکل ۴- آنالیز FTIR مربوط به دندریمر- مواد شیمیایی شکل (الف) سلولز باکتریایی با دندریمر شکل (ب) سلولز باکتریایی با دندریمر و پنی سیلین شکل (ج) سلولز باکتریایی با دندریمر و لیدوکائین شکل (د) سلولز باکتریایی با دندریمر و اسید



شکل ۵- آنالیز FTIR مربوط به دندریمر- مواد گیاهی شکل (الف) سلولز باکتریایی با دندریمر و حنا شکل (ب) سلولز باکتریایی با دندریمر و پیرک شکل (ج) سلولز باکتریایی با دندریمر و چای سبز (د)

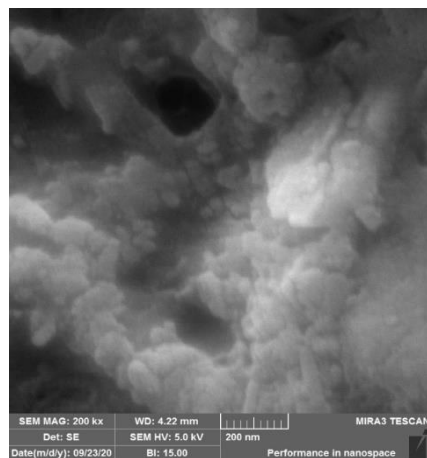
نتایج میکروسکوپ الکترونی پوششی

مورفولوژی سلولز میکروبی با حضور دندریمر، مواد گیاهی (حنا، چای سبز و پیرک صحرائی) و مواد شیمیایی (پنی سیلین، لیدوکائین و اسید گلیکولیک) توسط میکروسکوپ SEM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (شکل ۶ الف تا ۶ د). شکل ۶ الف نشان می‌دهد که سلولز میکروبی بدون تکمیل

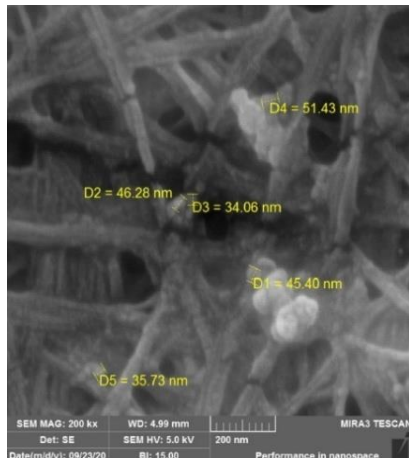
دارای ساختار نانویی سه بعدی، سطح صافی و قطر آن در حدود ۱۷ نانومتر است. نمونه سلولز میکروبی خالص، دارای یک ساختار شبکه سه بعدی بسیار متخلخل، سطح همگن و الیاف نانو شکل را نشان می‌دهد. این ساختار می‌تواند مقدار زیادی آب و مواد شیمیایی را جذب کند.

به طور کلی می توان نتیجه گرفت که نمونه های دارای دندریمر در حضور ، حنا ، چای سبز ، پنیرک صحرایی، لیدوکائین ، اسید گولیکولیک و پنی سیلین باعث ایجاد سطح ناصافی در سطح الیاف شده است [۳۲].

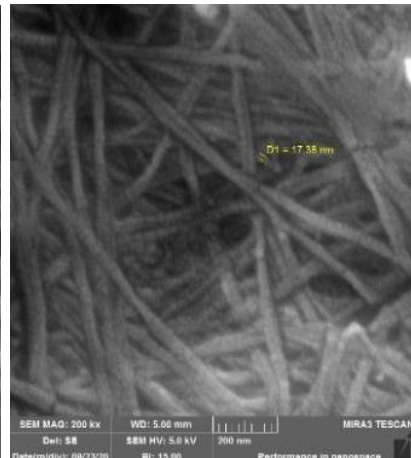
شکلهای (۶ ب تا ۶ د) مورفولوژی سلولز میکروبی با دندریمر در حضور مواد گیاهی و مواد شیمیایی را نشان می دهد. این تصاویر نشان می دهد که پس از تکمیل با دندریمر سایز ذرات به صورت میانگین ۵۱,۷۱ نانومتر است. بنابراین ،



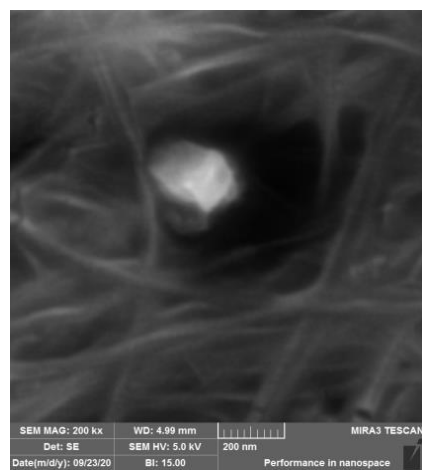
(ج)



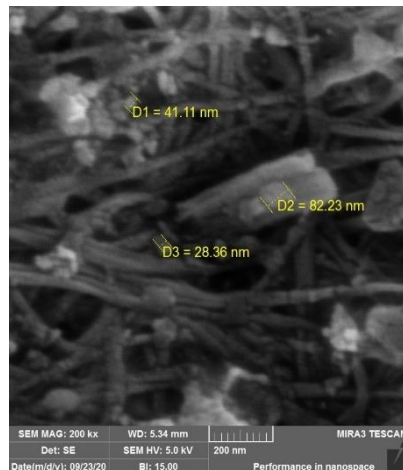
(ب)



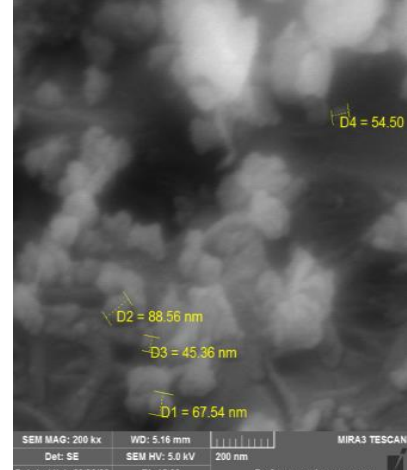
(الف)



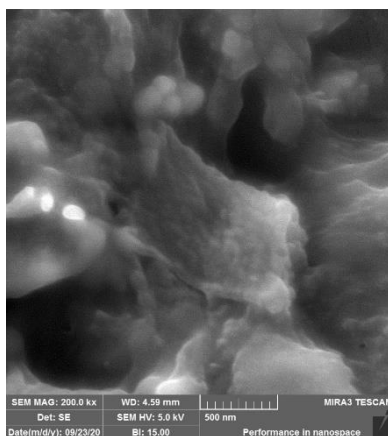
(د)



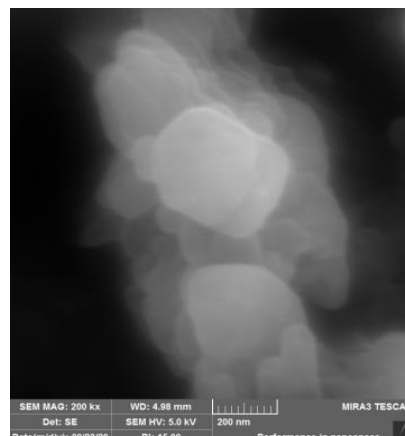
(ح)



(ج)



(د)



(ذ)

شکل ۶: الف) تصاویر SEM سلولز میکروبی بدون تکمیل ب) دندریمر ج) دندریمر-چای سبز چ) دندریمر-پنیسک ح) دندریمر-اسید خ) دندریمر-لیدوکائین د) دندریمر-لیدوکائین د) دندریمر ذ) پنی سیلین

شکل ۶- الف) تصاویر SEM سلولز میکروبی بدون تکمیل ب) دندریمر ج) دندریمر-چای سبز چ) دندریمر-پنیسک ح) دندریمر-اسید خ) دندریمر-لیدوکائین د) دندریمر ذ) پنی سیلین

۴. نتیجه گیری

موثره گیاهی و شیمیایی بر روی باکتری استافیلوکوکوس ارئوس و سودوموناس آئروژینوزا پرداخته شد. نتایج نشان داد که مواد شیمیایی نسبت به مواد گیاهی دارای خاصیت ضد میکروبی بیشتری است. از بین نمونه های گیاهی چای سبز دارای بیشترین خاصیت ضد میکروبی است. در بین تمام مواد اسید گلیکولیک دارای بیشترین خاصیت ضد میکروبی است. هم چنین رهائش مواد موثره گیاهی و شیمیایی نشان می دهد که رهائش مواد گیاهی و شیمیایی در بافر فسفات در PH=5.5 بیشتر از رهائش آن در آب در PH=7 است. نتایج SEM نشان می دهد که نمونه سلولز میکروبی خالص، دارای یک ساختار شبکه سه بعدی بسیار متخلخل، سطح همگن و الیاف نانو شکل است و می تواند مقدار زیادی آب و مواد شیمیایی را جذب کند که در جذب دندریمر و مواد گیاهی و شیمیایی موثر است.

در این مطالعه سلولز باکتریایی با دندریمر، مواد شیمیایی و گیاهی (حنا، چای سبز، پنی سیلین، لیدوکائین، اسید گلیکولیک) تکمیل شد و سپس خواص ضد باکتری و رهائش دارو در آن بررسی گردید. به دلیل خصوصیات منحصر به فرد سلولز باکتریایی که نشات گرفته شده از ساختار بسیار ظریف و نانو آن است، با تکمیل های اصلاح کننده بر روی سلولز باکتریایی، می توان از آن در درمان انواع زخم ها، سوختگی ها و ... استفاده نمود. یکی از این تکمیل ها شامل استفاده از دندریمر و مواد دارویی گیاهی و شیمیایی است. با توجه به اینکه باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس و سودوموناس آئروژینوزا از شایع ترین عوامل عفونت های سوختگی و جراحات های پوستی هستند، در این مطالعه به بررسی مقایسه ای اثر سلولز باکتریایی تکمیل شده با دندریمر و مواد

۵. منابع

- 1) Li Y, Jiang H, zheng W, Gong N, Chen L, Jiang X and Yang G, Bacterial cellulose-hyaluronan nanocomposite biomaterials as wound dressing for severe skin injury repair, 3(17), 3498-3507,2015
- 2) Lin W, Lien Ch, Yeh H, Yu Ch , Hsu Sh, Bacterial cellulose and bacterial cellulose–chitosan membranes for wound dressing applications, Carbohydr Polym, 94(1), 603-605, 2013.
- 3) Pang M, Huang Y, Meng F, Zhuang Y, Liu H, Manling Du, Qianqian Ma, Wang Q , Chen Zh , Chen L , Cai T, Cai Y, Application of bacterial cellulose in skin and bone tissue engineering, European Polymer Journal, 122(5), 2020,
- 4) Lin Q , Jiang G & Tong K , Designed Monomers and Polymers, Dendrimers in Drug-Delivery Applications Designed Monomers & Polymers, 13(4):301-324,2012.
- 5) Tripathy S and Malay K , Dendrimers and their Applications as Novel Drug Delivery Carriers, Journal of Applied Pharmaceutical Science, 3 (09), 142-149, 2013.
- 6) Winnicka K , Wroblewska M , Wiczorek P, Tomasz Sacha P and Tryniszewska E , The Effect of PAMAM Dendrimers on the Antibacterial Activity of Antibiotics with Different Water Solubility, Molecules, 18(2), 8607-8617,2013.
- 7) Khaled S , Fuad A , Khaldoun O, Alshakka M, Phytochemical Screening And Antibacterial Activity Of Yemeni Henna (Lawsonia Inermis) Against Some Bacterial Pathogens, Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 11(2), 24-27,2016.
- 8) Ohishi T , Gotob Sh, Monirac p , Isemura b,c M, and Nakamura Y ,Anti-inflammatory Action of Green Tea, Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem, 15(2),74-90,2016.
- 9) Sadat Sh, Ahani Azari A, Mazandarani M, Evaluation of the Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of Matricaria chamomilla, Malva sylvestris, and Capsella bursa-pastoris against Methicillin Resistant Staphylococcus aureus, Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases, J Med Microbiol Infect Dis, 8 (4), 127-131,2020.
- 10) Hermanns H , W. Hollmann M, F. Stevens M , Lirk Ph , Brandenburger T, Piegeler T and Werdehausen R, Molecular mechanisms of action of systemic lidocaine in acute and chronic pain, 2019, British Journal of Anaesthesia, 123(3):335-349,2019
- 11) Schmidt RM, Rosenkranz HS. Antimicrobial activity of topical anesthetics: Lidocaine and procaine. J Infect Dis. 121:597-607,1970.
- 12) Hashim P, The effect of Centella asiatica, vitamins, glycolic acid and their mixtures preparations in stimulating collagen and fibronectin synthesis in cultured human skin fibroblast Pak J Pharm Sci, 27(2):233-237,2014.
- 13) Lobanovska M and Pilla G, Penicillin's Discovery and Antibiotic Resistance: Lessons for the Future, Journal Of Biology And Medicine, 90 (3), 135-145,2017.
- 14) خاکزار بفرویی فاطمه ، محمدعلی مالک رضا ، مظاهری فیروزمهر ، تاثیر دندریمر بر قابلیت رنگرزی پارچه پنبه ای با مواد رنگزای مستقیم، ۶ (۱) ، ۶۵-۵۹ ، ۱۳۹۱
- 15) Chis A, Dobrea C, Morgovan CL, Maria Arseniu A, Liviu Rus L , Butuca A, Maria Juncan A , Maria Totan, Andreea Loredana Vonica-Tincu, Gabriela Cormos, Andrei Catalin Muntean, Maria Lucia Muresan, Felicia Gabriela Gligor and Adina Frum, Applications and Limitations of Dendrimers, Molecules , 25 (7) , 1- 41 ,2020.
- 16) Gorgieva S, Bacterial Cellulose as a Versatile Platform for Research and Development of Biomedical Materials, processes, 8 (5), 1-26 ,2020.
- 17) Faustino Jozala A & Aparecida R , Pertile N & Alves dos Santos C & de Carvalho Santos-Ebinuma V & Martins Seckler M & Miguel Gama F & Pessoa Jr A, Bacterial Cellulose Production by Gluconacetobacter Xylinus By Employing Alternative Culture Media, Appl Microbiol Biotechnol: 99(3) , 1181-1190, 2015.
- 18) Bafrooei KH , Malek M.R, Mazaheri F, The Effect Of Dendrimer on Cotton Dye ability With Direct Dye, Chem. Ind. Chem. Eng. Q. 20 (3) 379-385, 2014
- 19) Ashjaran A, Sheybani S, Drug Release Of Bacterial Cellulose As Antibacterial Nano Wound Dressing, International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences: 137-143, 8(3), 2019.
- 20) Matuschek E, Brown D.F.G and Kahlmeter G, Development of the Eucast Disk Diffusion Antimicrobial Susceptibility Testing Method and Its

Implementation. In Routine Microbiology

Laboratories, Clinical Microbiology and Infection: 20(4), 255-266, 2014.

21) Ghosh S, Yadav S, Vasanthan N, Sekosan G. A study of antimicrobial property of textile fabric treated with modified dendrimers, 717-720, 2009.

22) Gallien J, Bhairavi S, Rossignol J. PAMAM dendrimer nanomolecules utilized as drug delivery systems for potential treatment of glioblastoma, Int J A Systematic Review, 15: 2789-2808, 2020.

23) Sasagawa K, D Hisanori, Sakagami R, Hirayama S, Maekawa T, Isono T, Hiyoshi T, Tamura H, Takizawa F, Fukushima Y, Tabeta K and Terao Y, Green Tea Exhibits Bactericidal Activity against Streptococcus pneumoniae and Inhibits Functional, Antibiotics, 10, 1550, 2021.

24) Chu DD and Juneja LR, General chemical composition of green tea and its infusion, in Chemistry and Applications of Green Tea, ed by Yamamoto T, Juneja LR, Chu DC and Kim M. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 13-22, 1997.

25) Rahman M, Alam Tumpa A, Zehravi M, Sarker MD, Yamin MD, Rezaul Islam Md, Harun-Or-Rashid Md, Ahmed M, Ramproshad S, Mondal B, Dey A, Damiri F, Berrada M, Habibur Rahman Md, and Cavalu s, An Overview of Antimicrobial Stewardship Optimization: The Use of Antibiotics in Humans and Animals to Prevent Resistance Md. Antibiotics, 11, 667, 2022.

26) Fernandes S, Inês B. Gomes, Manuel Simões, Antimicrobial activity of glycolic acid and glyoxal

against Bacillus cereus and Pseudomonas fluorescens, Journal pree-proofs, 2-5, 2020.

27) Ehrenreich A, Hornero J, Inés M, Dueñas J, Cañete Rodríguez A, Gluconic acid: Properties, production methods and applications—An excellent opportunity for agro-industrial by-products and waste bio-valorization, Procees Biochemistry, 51(12), 1891-1903, 2016.

28) Prabal K. Maiti, Tahir C, ag'in Shiang-Tai Lin And William A. Goddard, Effect of Solvent and PH on the Structure of PAMAM Dendrimers, Macromolecules, 38, 979-991, 2005.

29) Jung M. R. et al., "Validation of ATR FT-IR to identify polymers of plastic marine debris, including those ingested by marine organisms," Marine Pollution Bulletin, 704-716, 2018.

30) Nandiyanto A.B.D, Oktiani R, and Ragadhita R, "How to read and interpret ftir spectroscopy of organic material," Indonesian Journal of Science and Technology, 4 (1), 97-118, 2019.

31) Javidparvar A. A., Naderi R., and Ramezanzadeh B., "L-cysteine reduced/functionalized graphene oxide application as a smart/control release nanocarrier of sustainable cerium ions for epoxy coating anti-corrosion properties improvement," Journal of Hazardous Materials, 389, 122135, 2020.

32) Wang Q Q, Chen D J. Synthesis and Characterization of a Chitosan Based Nanocomposite Injectable Hydrogel. Carbohydr. Polymer, 136: 1 228-1 237, 2016.