



تهیه زخم پوش هیدروژلی آنتی باکتریال پلی وینیل الکل - تانیک اسید با استفاده از پرتو دهی الکترون

صادقی، فرناز^(۱) - توکل، مسلم*^(۲) - نصیری زاده، نوید^(۳)

^(۱) دانشگاه آزاد اسلامی واحد یزد، دانشکده فنی و مهندسی، گروه مهندسی پزشکی
^(۲) سازمان انرژی اتمی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، مجتمع پژوهشی ایران مرکزی
^(۳) دانشگاه آزاد اسلامی واحد یزد، دانشکده فنی و مهندسی، گروه مهندسی پلیمر و نساجی

چکیده:

در این پژوهش یک هیدروژل ضد باکتری از آمیزه فیزیکی پلی وینیل الکل و تانیک اسید با استفاده از پرتو الکترونی تهیه شد. سرد کردن محلول ۱۰٪ وزنی پلی وینیل الکل در غلظت بیشتر از ۰/۲۵ درصد وزنی تانیک اسید به دمای یخچال، موجب تشکیل ژل فیزیکی، بدون نیاز به افزودن آگار، گردید. حضور تانیک اسید موجب افزایش دز مورد نیاز برای تشکیل ژل گردید و با افزایش غلظت تانیک اسید، محتوی ژل کاهش و توان حفظ رطوبت افزایش یافت. هیدروژل یاد شده در مقابل باکتری استافیلوکوکوس اورئوس فعالیت ضد میکروبی مناسبی نشان داد. با توجه به نتایج، این هیدروژل، می‌تواند به عنوان یک گزینه مناسب برای درمان زخم مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پلی وینیل الکل، تانیک اسید، پرتو دهی الکترون، زخم پوش هیدروژلی

Preparation of antibacterial hydrogel wound dressings based on poly (vinyl alcohol) and tannic acid using electron beam irradiation

Sadeghi, Farnaz⁽¹⁾ - Tavakol, Moslem*⁽²⁾ - Nasirizadeh, Navid⁽³⁾

⁽¹⁾ Department of Biomedical Engineering, College of Engineering and Technical, Yazd Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran

⁽²⁾ Central Iran Research Complex, Nuclear Science and Technology Research Institute, Yazd, Iran

⁽³⁾ Department of Textile and Polymer Engineering, Yazd Branch, Islamic Azad University
 Yazd, Iran

In this study, antibacterial hydrogels based on poly (vinyl alcohol) (PVA) and tannic acid (TA) was prepared using electron beam irradiation. The results showed that the cooling of blended



PVA (10% w/v)-TA (over than 0.25% w/v) solution to refrigerator temperature, led to formation of physical gel, without using agar. The minimum irradiation dose for gel formation, as well as the moisture retention capability increased and gel content decreased by an increase in tannic acid composition. In addition, PVA-TA hydrogels showed good antibacterial activity against *S. aureus*.

Keywords: poly (vinyl alcohol), Tannic acid, Electron beam irradiation, Hydrogel wound dressing.

مقدمه:

هیدروژل‌ها شبکه‌های سه بعدی پلیمری هستند که با جذب آب به جای حل شدن تا رسیدن به حالت تعادلی متورم می‌شوند. ویژگی‌های منحصر به فرد هیدروژل‌ها از جمله ظرفیت جذب میزان بالای آب، نزدیکی خواص زیستی به بافت‌های زنده و حفظ خواص داروها در طول فرایند بارگذاری، موجب کاربرد فراوان آن‌ها در زمینه‌های پزشکی و دارویی شده است. در دهه‌های اخیر، اهمیت استفاده از زخم‌پوش‌های هیدروژلی در درمان برخی زخم‌ها نشان داده شده و ضمن تولید چندین محصول تجاری، تحقیقات زیادی در این زمینه در حال انجام است.

تاریخچه تولید تجاری زخم‌پوش‌های هیدروژلی با استفاده از پرتوهای یونیزه کننده به سال ۱۹۹۰ بر می‌گردد. این محصول از تابش‌دهی محلول آمیزه فیزیکی پلی‌وینیل پیرولیدین، پلی‌اتیلن گلاکول و آگار با شدت پرتودهی ۲۵ کیلوگری اولین بار به صورت صنعتی در کشور لهستان تولید گردید [۱]. در سال‌های بعد محصولات زیادی با استفاده از این فناوری در کشورهای مختلف وارد بازار شده‌اند. زخم‌پوش‌های هیدروژلی معمولاً برای زخم‌های دارای ترشحات کم تا متوسط مؤثرند ولی برای زخم‌های دارای ترشح زیاد توصیه نمی‌شوند، زیرا ممکن است به سبب نداشتن قابلیت جذب حجم زیاد ترشحات، موجب گسترش عفونت شوند. از مزیت‌های استفاده از هیدروژل‌ها به عنوان پانسمان زخم به جای محصولات سنتی مانند گاز و باند می‌توان به حفظ رطوبت و جلوگیری از خشک شدن زخم، جدا شدن راحت از زخم، شفافیت مناسب برای مشاهده روند بهبود زخم بدون بازکردن پانسمان، کاهش دما در سطح زخم به دلیل تبخیر سطحی و در نتیجه کاهش درد و افزایش سرعت بهبود سوختگی‌ها و همچنین امکان بارگذاری دارو در هیدروژل و انتقال دارو از سطح هیدروژل به زخم بدون برداشتن پانسمان اشاره کرد.

در فرآیند تهیه زخم‌پوش‌های هیدروژلی، به صورت معمول از پلیمرهای طبیعی ژل شونده با کاهش دما مانند آگار یا کارآگینان، برای تشکیل ژل فیزیکی قبل از پرتودهی استفاده می‌شود. بدین ترتیب که محلول آمیزه فیزیکی پلیمرهای شبکه‌ای شونده با پرتوهای یونیزه کننده و پلیمری مانند آگار تهیه شده و پس از ریخته



شدن در قالب به یخچال منتقل می‌گردد تا به شکل ژل فیزیکی در آید. سپس دوخت انجام شده و نمونه پرتودهی می‌شود. از مشکلات استفاده از پلیمرهای حساس به حرارت ژل شونده در دمای پایین مانند آگار، به عنوان شکل دهنده در تهیه هیدروژل‌ها، قیمت به نسبت بالا، کاهش وزن مولکولی در مواجهه با پرتو و زمان ماندگاری کمتر نسبت به پلیمرهای مصنوعی است. از طرف دیگر بیشتر این پلیمرها دارای فعالیت ضد میکروبی بالایی نیستند.

با توجه به امکان ایجاد عفونت در زخم‌ها، در صورت ایجاد اصلاحاتی در ساختار هیدروژل در جهت جلوگیری از ایجاد عفونت میکروبی، به خواص درمانی هیدروژل کمک شایانی خواهد شد. عوامل ضد میکروبی، ترکیبات طبیعی یا مصنوعی هستند، که مانع رشد میکروب‌ها می‌شوند. از عمده ترکیبات ضد میکروبی که تا کنون برای درمان زخم استفاده شده‌اند، می‌توان به نانوذرات فلزی، آنتی‌بیوتیک‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات پلی‌فنولی اشاره کرد.

تانیک اسید یک ترکیب پلی‌فنولی طبیعی و یک پلیمر متشکل از مولکول گالیک اسید و گلوکز است. فرمول شیمیایی این ماده $C_{76}H_{52}O_{46}$ ، وزن مولکولی آن $1701/22$ گرم بر مول و حلالیت آن در آب 250 گرم بر لیتر گزارش شده است. این ماده به طور گسترده در صنعت غذا و دارو استفاده می‌شود. تانیک اسید به دلیل داشتن تعداد زیادی گروه کربوکسیل و هیدروکسیل در ساختار، می‌تواند با پلیمرهایی مانند پلی‌وینیل‌الکل تشکیل پیوند هیدروژنی قوی بدهد. چن^۱ و همکاران [۲] در سال ۲۰۱۶، اثر افزودن تانیک اسید بر رفتار محلول پلی‌وینیل‌الکل را در فرآیند سرد کردن بررسی کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد با افزودن تانیک اسید به محلول پلی‌وینیل‌الکل در محدوده مناسب غلظت در دمای نزدیک به 90 درجه سانتی‌گراد، محلول آمیزه فیزیکی این دو پلیمر قابل ساخت است. با سرد کردن محلول یاد شده، به دلیل ایجاد برهمکنش‌های هیدروژنی قوی بین گروه‌های هیدروکسیلی این دو پلیمر، یک هیدروژل با استحکام مکانیکی بالا و خاصیت حافظه شکلی تشکیل می‌گردد. با افزایش غلظت تانیک اسید، حتی با سرد شدن به دمای اتاق نیز تشکیل هیدروژل با خصوصیات مناسب گزارش شده است [۲]. در پژوهش دیگری، هونگ [۳] از آمیزه فیزیکی پلی‌وینیل‌الکل و تانیک اسید، هیدروژلی را با استفاده از چرخه انجماد-ذوب ساخت و برای درمان زخم ارزیابی کرد. با توجه به نتایج این مطالعه، با این روش هیدروژل به خوبی شکل گرفته و با افزایش غلظت تانیک اسید، استحکام مکانیکی هیدروژل افزایش می‌یابد. همچنین هیدروژل ساخته شده دارای فعالیت ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی مناسب است.

در کار پژوهشی حاضر، تلاش شده است ابتدا با افزودن تانیک اسید به عنوان یک پلی‌فنول به محلول پلی‌وینیل‌الکل، با سرد کردن یک ژل فیزیکی تهیه و امکان حذف آگار از سیستم بررسی و در مرحله بعد

¹ Chen



امکان تهیه هیدروژل با استفاده از پرتودهی این آمیزه بررسی شود. در ادامه خواص هیدروژل تولید شده از جمله محتوی ژل، قدرت نگهداشت آب و خواص ضد باکتری بررسی گردیده است.

روش کار:

پلی وینیل الکل با وزن مولکولی ۱۴۵۰۰۰ از شرکت سیگما و تانیک اسید از شرکت صنایع شیمیایی شانگهای چین خریداری گردید. دیگر مواد و حلال‌ها، همگی از درجه آزمایشگاهی تهیه و بدون خالص سازی استفاده شدند.

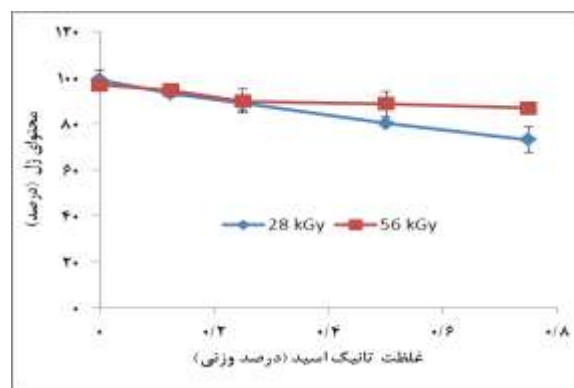
برای تهیه محلول پلی وینیل الکل، پس از گرم کردن آب به دمای ۹۰ درجه سلسیوس، مقدار معین پلی وینیل الکل به آرامی اضافه شده و اختلاط با همزن مکانیکی تا زمان انحلال کامل انجام گردید. در این مدت برای جلوگیری از تبخیر، دهانه ظرف به خوبی پوشانده شد. سپس مقدار مورد نیاز تانیک اسید، برای رسیدن به محلول با غلظت معین (در بازه ۰-۰/۱۵ گرم بر گرم پلی وینیل الکل)، در ۳ میلی لیتر آب حل و به محلول پلیمری اضافه گردید. برای جلوگیری از تشکیل کلوخه در زمان اضافه کردن تانیک اسید، محلول با دور بالا هم زده شد. سپس مقدار ۲ میلی لیتر از محلول نهایی به ویال‌های ۵ میلی لیتری پلی اتیلنی درب دار منتقل شد. تشکیل ژل فیزیکی از محلول یاد شده در فرآیند سرد کردن تا دمای یخچال ارزیابی گردید. سپس ژل فیزیکی شکل گرفته، با استفاده از دستگاه شتابدهنده الکترون ۱۰ مگا الکترون ولت واقع در مجتمع پژوهشی ایران مرکزی با دز معین، ۱۴ تا ۵۶ کیلوگری، پرتودهی شده و برای استفاده بعدی در یخچال نگهداری گردید. برای تعیین محتوای ژل، نمونه‌ها پس از خشک شدن، وزن شدند (W_{d0}) و در آب مقطر جوشان تحت رفلکس به مدت ۱۸ ساعت قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها خشک شده و وزن شدند (W_{dt}). محتوای ژل با تقسیم وزن هیدروژل خشک شده نهایی بر وزن هیدروژل خشک شده اولیه محاسبه شد. برای بررسی توان نگهداشت آب، هیدروژل‌های مرطوب، پس از توزین، در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه قرار گرفتند و در بازه‌های زمانی معین بیرون آورده شده و وزن شدند. برای ارزیابی خواص ضد میکروبی هیدروژل، از آزمون منطقه بازدارنده رشد استفاده شد. در این آزمون، اگر سویه میکروارگانیسم به نمونه حساس باشد یک منطقه بازدارنده رشد در اطراف نمونه دیده می‌شود. برای این کار، سوسپانسیون حاوی نیم مک فارلند از کشت تازه باکتری‌های مورد نظر (استافیلوکوکوس اورئوس یا اشرشیاکلی) در بافر فسفات تهیه شد. از این سوسپانسیون بر روی محیط کشت مولر هیتتون آگار با روش کشت سطحی، کشت داده شد. از هیدروژل‌های تهیه شده تحت شرایط سترون دیسک‌هایی با قطر ۵/۰ سانتی‌متر بریده شده و بر روی سطح محیط کشت‌های تلقیح شده قرار گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرماگزاری شد. سپس قطر منطقه بازدارنده رشد مشاهده و با استفاده از دوربین از نمونه‌ها عکس برداری گردید.

نتایج و بحث:



در نمونه محلول پلی وینیل الکل، با کاهش دما حتی پس از قرار گرفتن در دمای یخچال تغییر محسوسی مبنی بر انتقال از حالت محلول به ژل مشاهده نگردید. این مسئله در حالی است که در مورد نمونه‌های حاوی تانیک اسید، با سرد شدن دما، گرانروی محلول به تدریج افزایش یافته به نحوی که نمونه حاوی ۰/۲۵ درصد وزنی تانیک اسید، پس از قرار گرفتن در دمای یخچال تشکیل ژل فیزیکی داده و پس از وارونه کردن ظرف کاملاً بی حرکت بود. به همین منوال نمونه‌های حاوی غلظت‌های بالاتر تانیک اسید حتی در دمای اتاق نیز به شکل بدون حرکت در آمدند. با افزایش غلظت پلیمر تا ۱٪ وزنی، در دمای ۸۰-۹۰ درجه سلسیوس کلوخه‌های ریز در محیط مشاهده گردیده و بلافاصله پس از انتقال به تیوب یا ظرف ژل، محیط به فرم دو فازی در آمد. با توجه به وجود تعداد زیادی گروه‌های هیدروکسیل در ساختار تانیک اسید، احتمال تشکیل پیوند هیدروژنی بین گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل تانیک اسید با گروه‌های هیدروکسیل پلی وینیل الکل خیلی زیاد است و این مسئله می‌تواند موجب تشکیل هیدروژل و در غلظت‌های بالا تشکیل کلوخه گردد. پیشتر، چن و همکاران [۲] گزارش دادند که با آمیزه‌سازی فیزیکی محلول تانیک اسید و پلی وینیل الکل در دمای ۹۰ درجه سلسیوس، در محدوده غلظت بالای تانیک اسید، محیط کلوخه‌ای شکل گرفته و پس از سرد کردن محیط، هیدروژلی با استحکام مکانیکی بالا شکل می‌گیرد.

در نتیجه پرتودهی، ماکرورادیکال‌های پلیمری در ساختار پلی وینیل الکل با دو مکانیسم مستقیم و غیر مستقیم در نتیجه حمله رادیکال‌های هیدروکسیل، شکل می‌گیرد. این ماکرورادیکال‌ها موجب شبکه‌ای شدن پلیمر در کنار واکنش‌های جانبی دیگر می‌گردد [۴]. نمودار محتوای ژل نمونه‌های پرتو داده شده با دزهای مختلف در شکل ۲۷ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت تانیک اسید محتوای ژل هیدروژل کاهش یافته است. دلیل این مسئله می‌تواند به دو پدیده نسبت داده شود؛ نخست ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین پلی وینیل الکل و تانیک اسید که موجب می‌شود جایگاه‌های در دسترس برای انجام واکنش شبکه‌ای شدن با واکنش رادیکال آزاد کاهش یابد و دوم نقش آنتی‌اکسیدانی تانیک اسید که مانند یک جاذب الکترون عمل کرده و میزان رادیکال‌های آزاد در دسترس برای واکنش را کاهش می‌دهد.



شکل ۲- اثر پرتودهی بر محتوای ژل هیدروژل پلی وینیل الکل-تانیک اسید

با افزایش دز پرتودهی از ۲۸ به ۵۶ کیلوگری در نمونه بدون تانیک اسید، تغییری در محتوای ژل هیدروژل مشاهده نگردید. این مسئله با نتایج قبلی ارائه شده در مقالات همخوانی دارد. اما در حضور تانیک اسید، افزایش در دز پرتودهی، موجب افزایش محتوای ژل گردید. همچنین، هیدروژل تهیه شده با افزودن تانیک اسید توانست میزان بالاتری از کشش را بدون پاره شدن تحمل نماید و همچنین چسبندگی بالاتری به سطح پوست داشت.

نتایج آنالیز توان نگهداشت رطوبت، نشان داد با افزایش غلظت تانیک اسید از صفر تا ۰/۲۵ درصد وزنی، میزان رطوبت از دست رفته هیدروژل در زمان ۵ ساعت گرماگزاری در دمای ۳۷ درجه، از ۵۵ به ۴۶ درصد کاهش یافته است که نشان دهنده نقش مثبت پیوند هیدروژنی در میزان نگهداشت آب در هیدروژل است.

برای بررسی میزان فعالیت ضد میکروبی هیدروژل، از آزمون دیسک نفوذی استفاده شد. در این آنالیز، پس از کشت چمنی باکتری خاص بر روی محیط کشت جامد درون پتری دیش و گذشت ۲۴ ساعت، تکه‌ای از هیدروژل به شکل دیسک بر روی محیط کشت قرار می‌گیرد. در صورت داشتن خاصیت ضد میکروبی و نفوذ ماده ضد میکروبی به بیرون از هیدروژل، در هاله‌ای در اطراف دیسک، رشد باکتری‌ها متوقف می‌شود. قطر منطقه عدم رشد به عنوان نشانه‌ای از شدت فعالیت ضد باکتری هیدروژل تلقی می‌گردد.

تصاویر بدست آمده از این آنالیز در شکل ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد، هیدروژل حاوی تانیک اسید به خوبی از رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس جلوگیری کرده به صورتی که یک هاله عدم رشد با قطر قابل قیاس با نمونه دیسک حاوی بتادین ایجاد شده است. از طرف دیگر هیدروژل یاد شده فعالیت ضد میکروبی مناسبی در مقابل باکتری اشرشیاکولی نداشته است.



شکل ۳- فعالیت ضد باکتری هیدروژل حاوی تانیک اسید

نتیجه گیری:



در این پژوهش، با آمیزه سازی تانیک اسید و پلی وینیل الکل، شرایطی ایجاد گردید که بدون نیاز به آگار با سرد کردن محیط یک ژل فیزیکی شکل گرفته و در ادامه با پرتودهی، یک هیدروژل شبکه‌ای شده شیمیایی تهیه گردد. برای محلول ۱۰٪ وزنی پلی وینیل الکل، در غلظت بالای ۰/۲۵ درصد وزنی تانیک اسید، با سرد کردن به دمای یخچال یک ژل فیزیکی بدون حرکت شکل گرفت. حضور تانیک اسید موجب افزایش میزان دز مورد نیاز برای تشکیل ژل گردید. با افزایش غلظت تانیک اسید، محتوی ژل کاهش و توان حفظ رطوبت افزایش یافت. همچنین، هیدروژل یاد شده در مقابل باکتری استافیلوکوکوس اورئوس فعالیت ضد میکروبی مناسبی نشان داد. با توجه به نتایج، هیدروژل یاد شده می‌تواند به عنوان یک گزینه امیدوار کننده برای درمان زخم مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

مراجع:

1. Rosiak J.M., Rucinska-Rybus A., and Pekala W., Method of Manufacturing of Hydrogel Dressings. *US. Pat.* 4,871,490, 1989.
2. Chen Y.-N., Peng L., Liu T., Wang Y., Shi S., and Wang H., Poly(Vinyl Alcohol)-Tannic Acid Hydrogels with Excellent Mechanical Properties and Shape Memory Behaviors. *Applied Materials and Interfaces*, 2016.
3. Hong K.H., Polyvinyl Alcohol/Tannic Acid Hydrogel Prepared by a Freeze-Thawing Process for Wound Dressing Applications. *Polymer Bulletin*, 74, 2861-2872, 2017.
4. Zhao L., Mitomo H., Zhai M., Yoshii F., Nagasawa N., and Kume T., Synthesis of Antibacterial Pva/Cm-Chitosan Blend Hydrogels with Electron Beam Irradiation. *Carbohydrate Polymers*, 53, 439-446, 2003.