

Studies on Synergistic Effect of Curcumin, Piperine and Ellagic Acid on Antibacterial Properties of Biocompatible Nanofibers Based on Polycaprolactone

Mahsa Ouni¹, Azam Ghadami^{1*}, Mojgan Zandi²

1. Department of Chemical and Polymer Engineering, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Biomaterials Department, Iran Polymer and Petrochemical Institute, P.O. Box: 14975-112, Tehran, Iran.

Received: 21 July 2021, accepted: 10 January 2022

ABSTRACT

Hypothesis: The fabrication of electrospun nanofibers for drug delivery applications has attracted a great attention in recent years. Polycaprolactone (PCL) is a polymer which has been used frequently in medical and tissue engineering applications. However, the hydrophobic nature of PCL is a drawback which could be resolved by biological materials. The synergistic effect of piperine and ellagic acid on different properties and performance of curcumin containing nanofiber mats has been investigated.

Methods: Nanofibers based on PCL with certain amounts of plant extracts were prepared and produced through electrospinning. In order to investigate the effect of each plant extract, single systems containing curcumin or piperine, dual systems containing curcumin/piperine and triple systems containing curcumin/piperine/ellagic acid were produced by electrospinning and various analyses were performed to find out whether they were effective in improving the properties of fiber prepared for medical applications.

Findings: The study on microstructure of electrospun mats showed that the diameter distribution of nanofibers was between 50-100 nm and the average fiber diameter in single, double and triple samples changed in the range of 73-87 nm. The antibacterial test revealed that piperine is also an active antibacterial agent like curcumin. In addition, the triple system had a good degree of antibacterial activity (79%). The water uptake and water vapor permeability (WVP) of triple samples were about 337% and 11.56 mg(cm².h)⁻¹, respectively. The prepared mats showed desirable tensile strength, elasticity and flexibility. Cell viability analysis on electrospun mats indicated that they are not toxic to human dermal fibroblasts (HDF). Therefore, taking into account all the results, it can be concluded that the use of two compounds, ellagic acid and piperine, is effective in increasing the bioavailability of curcumin, and the mats can be used in medical applications as wound dressings.

Keywords:

ellagic acid,
curcumin,
piperine,
polycaprolactone,
antibacterial properties

(*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: A.ghadami@iauctb.ac.ir

Please cite this article using:

Ouni M., Ghadami A. and Zandi M., Studies on Synergistic Effect of Curcumin, Piperine and Ellagic Acid on Antibacterial Properties of Biocompatible Nanofibers Based on Polycaprolactone, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (Persian)*, **34**, 457-468, 2022.

بررسی اثر هم‌افزایی کورکومین، پیپرین و الاجیک اسید بر خواص ضدباکتری نانوالیاف زیست‌سازگار بر پایه پلی‌کاپرولاکتون

مهسا عونی^۱، اعظم قدمی^{۱*}، مژگان زندی^۲

۱- گروه مهندسی شیمی و پلیمر، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
 ۲- تهران، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، پژوهشکده علوم، گروه پلیمرهای زیست‌سازگار، صندوق پستی ۱۱۲-۱۴۹۷۵

دریافت: ۱۴۰۰/۴/۳۰، پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۰

دسترس پذیر در نشانی: <http://jips.ippi.ac.ir>

مجله علوم و تکنولوژی پلیمر،

سال سی و چهارم، شماره ۵

صفحه ۴۶۸-۴۵۷، ۱۴۰۰

ISSN: 1016-3255

Online ISSN: 2008-0883

DOI: 10.22063/JIPST.2021.2705.2086

چکیده

فرضیه: تهیه نانوالیاف به‌عنوان حامل برای دارورسانی در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه بوده است. از پلی‌کاپرولاکتون اغلب در کاربردهای پزشکی و مهندسی بافت استفاده می‌شود. با وجود این، ماهیت آب‌گریز آن مانعی در این زمینه است که معمولاً با اضافه‌کردن عوامل زیستی و طبیعی این مشکل برطرف می‌شود. در این پژوهش، اثر هم‌افزایی پیپرین و الاجیک اسید بر خواص و عملکرد ساختارهای نانولیفی دارای کورکومین بر پایه پلی‌کاپرولاکتون بررسی شده است.

روش‌ها: نانوالیاف بر پایه پلی‌کاپرولاکتون دارای مقادیر مشخصی از عصاره‌های گیاهی تهیه و با روش الکتروریسی تولید شدند. برای بررسی نقش عصاره هر گیاه، سامانه‌های تک‌جزئی دارای کورکومین یا پیپرین، سامانه‌های دوجزئی دارای کورکومین-پیپرین و سامانه سه‌جزئی دارای کورکومین-پیپرین-الاجیک اسید، با الکتروریسی تولید شدند و آزمون‌های مختلف برای تعیین اثربخشی آن‌ها در بهبود خواص الیاف تهیه‌شده برای کاربردهای پزشکی انجام شد.

یافته‌ها: با مطالعه ریزساختار نمدهای الکتروریسی‌شده مشاهده شد، توزیع قطر نانوالیاف در بازه ۵۰-۱۰۰ nm دارای بیشترین فراوانی است و میانگین قطر الیاف در نمونه‌های تک‌جزئی، دوجزئی و سه‌جزئی در محدوده ۸۷-۱۷۳ nm تغییر کرده است. آزمون ضدباکتری نشان داد، افزون بر کورکومین، پیپرین نیز از فعالیت ضدباکتریایی مناسبی برخوردار است و نیز نمد الکتروریسی‌شده شامل سه ترکیب کورکومین-پیپرین-الاجیک اسید دارای فعالیت ضدباکتری مناسبی بود (۷۹٪). افزون بر این، مقدار جذب آب و تراوایی بخار آب نمونه‌های سه‌جزئی به ترتیب ۳۳٪ و ۱۱/۵۶ mg/cm².h بود. نمدهای تهیه‌شده دارای استحکام کششی، کشسانی و انعطاف‌پذیری مطلوبی بودند. با انجام آزمون سمیت یاخته‌ای مشخص شد، نمدهای الکتروریسی‌شده برای یاخته‌های فیبروبلاست انسانی (HDF) سمی نبودند. بنابراین با در نظر گرفتن تمام نتایج، می‌توان نتیجه گرفت، استفاده از دو ترکیب الاجیک اسید و پیپرین در افزایش زیست‌دسترس‌پذیری کورکومین مؤثر است و نمدهای حاصل در کاربردهای پزشکی می‌توانند به‌عنوان زخم‌پوش استفاده شوند.

واژه‌های کلیدی

الاجیک اسید،
 کورکومین،
 پیپرین،
 پلی‌کاپرولاکتون،
 خواص ضد باکتری

*مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

A.ghadami@iauctb.ac.ir

مقدمه

بشر در طول زندگی خواه یا ناخواه با حوادث و بیماری‌های زیادی مواجه می‌شود و برای درمان این آسیب‌ها از مواد داروهای شیمیایی استفاده می‌کند. امروزه با پیشرفت علوم گیاهی، سعی بر این است، از داروهای گیاهی به شیوه نوین و اثرگذارتر استفاده شود. در مهندسی بافت برای بهبود زخم‌هایی مانند سوختگی، تروما یا زمانی که پوست ترمیم‌پذیر نیست از ساختارهای نانوالیافی مختلفی استفاده می‌شود. بدین منظور، داربست‌های متخلخل، زیست‌سازگار و به‌طور ترجیح زیست‌تخریب‌پذیر دارای گیاهان دارویی با روش الکترورسی تهیه می‌شوند که بستر مناسبی برای چسبندگی و رشد یاخته‌ها هستند. برای تهیه این داربست‌ها از مواد طبیعی و سنتزی مختلفی استفاده می‌شود.

در تهیه داربست به‌عنوان زخم پوش، عواملی چون خواص مکانیکی مناسب، زیست‌سازگاری زیاد، آب‌دوستی و از همه مهم‌تر خاصیت ضدباکتری و قابلیت مهار باکتری‌ها و قارچ‌ها اهمیت ویژه‌ای دارد. پلی‌کاپرولاکتون پلیمر نیمه‌بلوری و آب‌گریز است که با توجه به دمای ذوب بسیار کم و زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری زیاد، چسبندگی مناسب به گستره‌ای از بسترها و نیز سمی نبودن محصول حاصل از تخریب آن، در کاربردهای پزشکی و مهندسی بافت بسیار استفاده می‌شود. با وجود این، آب‌گریزی ذاتی پلی‌کاپرولاکتون اشکال بزرگی برای آن در کاربردهای مهندسی بافت است [۱]. از این رو معمولاً تلاش می‌شود، با اضافه کردن عوامل زیستی و طبیعی این مشکل برطرف شود. به‌عنوان مثال، کراتین پلیمر طبیعی است که بخش عمده پوست را تشکیل می‌دهد و در برخی از داربست‌ها که به‌عنوان زخم‌پوش به‌کارگرفته می‌شوند، از این پلیمر برای رفع مشکل استفاده شده است یا می‌توان پلیمر طبیعی کیتوسان به‌دلیل زیست‌سازگاری و جذب زیاد، سمی نبودن و داشتن خاصیت ضدباکتری مناسب، در داربست‌ها استفاده کرد [۲]. دسته دیگری از مواد گیاهی طبیعی مانند کورکومین، پپیرین و الاجیک اسید نیز وجود دارند که در این پژوهش برای تهیه داربست‌های زیست‌پزشکی دارای پلی‌کاپرولاکتون به‌کار رفته‌اند.

کورکومین که عامل زردرنگی زردچوبه و از خانواده کورکومینوئیدهاست، به‌دلیل خاصیت‌های ضداکسندگی، ضدالتهابی و ضد میکروبی در زمینه پزشکی بسیار مورد توجه است. اما از معایب آن زیست‌دسترس‌پذیری کم است [۳]. یکی از روش‌ها برای افزایش زیست‌دسترس‌پذیری کورکومین، استفاده از سایر ترکیبات شیمیایی مانند پپیرین است که می‌تواند قابلیت زیستی را تا ۲۰۰٪ افزایش دهد [۴]. در واقع، پپیرین ماده مؤثر در فلفل سیاه و اصلی‌ترین ترکیب و عامل تندی آن است. این آلکالوئید به‌طور طبیعی خواص درمانی مفیدی مانند خاصیت‌های ضداکسندگی، ضدالتهابی، ضدسرطان و مؤثر در دیابت دارد. اما، کاربرد زیستی آن

به‌دلیل حل‌پذیری کم در محیط‌های آبی محدود است [۵-۷]. تاکنون برای افزایش زیست‌دسترس‌پذیری پپیرین و کورکومین از روش به‌کارگیری نانوذرات [۵،۸]، لیپوزوم‌ها [۹،۱۰] سامانه‌های دارورسانی واپاییده [۵] و روش اکستروژن مذاب [۵] استفاده شده است.

الاجیک اسید پودر زرد خاکستری و ماده مؤثر در انار و پلی‌فنول چهارحلقه‌ای است و به‌مقدار زیادی در میوه‌های قرمزرنگی مانند تمشک یافت می‌شود. الاجیک اسید نیز همانند کورکومین و پپیرین دارای خواص ضداکسندگی، ضدالتهابی، ضد میکروبی، ضدجش‌زایی و ضدسرطان است. بر اساس مطالعات متعدد مشخص شده است، الاجیک اسید در سرکوب یاخته‌های سرطانی شیمیایی بسیار مؤثر است [۱۱،۱۲]. امروزه، طراحی و اصلاح پلیمرهای هوشمند به تولید موادی با ویژگی‌های هدفمند، حساس به شرایط محیطی و افزایش سینتیک دارویی (pharmacokinetics) بسیاری از داروهای آب‌گریز منجر می‌شود. طراحی و توسعه فرمول‌بندی‌ها و اصلاح گزینشی مواد نقش مهمی در غلبه بر محدودیت‌های زیستی (نبود زیست‌دسترس‌پذیری و نیمه‌عمر زیستی کوتاه) و نیز دارویی (خواص فیزیکی و شیمیایی برای پردازش فرمول‌بندی) دارد [۱].

Jantarat و همکاران [۱۳] پژوهشی در زمینه بررسی اثر پپیرین بر مقدار نفوذپذیری کورکومین در پوست، با روش دارورسانی به‌صورت تراپوستی (transdermal) انجام دادند. با توجه به نتایج بیان شده است، پپیرین اثر خوبی بر افزایش زیست‌دسترس‌پذیری کورکومین دارد و نیز باعث افزایش نفوذپذیری کورکومین از سطح پوست می‌شود. Baspinar و همکاران [۱۴] با هدف افزایش زیست‌دسترس‌پذیری کورکومین در کنار پپیرین، داربستی از زئین-کیتوسان با روش الکترورسی تولید کردند و دریافتند، پپیرین زیست‌دسترس‌پذیری کورکومین را افزایش داده است. سعید و زندی [۱۵] داربست سه‌لایه دارای پلی‌کاپرولاکتون و ۱۶٪ کورکومین را تهیه کرده و خاصیت ضدباکتری آن را بررسی کردند بر اساس نتایج، این داربست به‌دلیل داشتن کورکومین خاصیت ضدباکتریایی زیادی نشان داده است. Alexandre و همکاران [۱۶] ضمن استخراج عصاره الاجیک اسید موجود در پوست انار، بررسی‌هایی از نظر ضداکسندگی و ضدباکتریایی انجام دادند. این پژوهشگران بیان کردند، عصاره الاجیک اسید در برابر چند عامل بیماری‌زای (pathogen) غذایی قرار گرفته و مشخص شده است، خاصیت ضدباکتری مناسب و قابل قبولی دارد. Fernandez و همکاران [۱۷] از پلی‌کاپرولاکتون به‌عنوان پلیمر و مواد ضدباکتری مختلف از جمله کورکومین و پپیرین به‌عنوان ماده ضدباکتری برای تهیه نانوالیاف الکترورسی به‌عنوان زخم‌پوش استفاده کرده‌اند. سمیت یاخته‌ای نمدهای تهیه‌شده مطالعه و مشخص

کلروفورم، به ترتیب با نسبت ۱ به ۲ آماده شد. سپس، ۱۵٪ حجم محلول، پلیمر PCL (g ۰/۴۵) به آن اضافه شد. ظرف دارای این محلول به‌طور کامل درزگیری شده و به مدت ۱ h تا ۲ h هم‌زده شد تا پلی‌کاپرولاکتون کاملاً حل شود. برای تهیه نمونه‌های دارای کورکومین، پپیرین و الاجیک اسید به نسبت ۱۰٪ پلیمر، یعنی به مقدار ۰/۴۵ g به هر ظرف اضافه شده و دوباره ظرف درزگیری شده و تا حل شدن کامل مواد هم‌زدن با همزن مغناطیسی ادامه یافت. این نمونه‌ها به‌صورت سامانه‌های تک‌جزئی دارای کورکومین و پپیرین (۱۰٪)، سامانه‌های دو جزئی دارای کورکومین-پپیرین (۱۰٪) با نسبت‌های ۳ به ۱، ۱ به ۱ و ۱ به ۳ و سامانه سه‌جزئی دارای کورکومین-پپیرین-الاجیک اسید (الاجیک اسید ۱ و ۱۰٪، با نسبت‌های مساوی از هر سه ترکیب)، تهیه شدند. دستگاه الکتروریسی دیجیتال استفاده شده ساخت شرکت ایرانی نانوآزما بود. محلول نمونه داخل سرنگ ۵ mL ریخته شده و فرایند الکتروریسی با سرعت ۱ mL/h، ولتاژ ۳۰ kV، فاصله جمع‌کننده تا پمپ ۸ cm، دور ۱۵۰ و به مدت ۳ h انجام شد. کدگذاری نمونه‌ها در جدول ۱ آمده است.

دستگاه‌ها و روش‌ها

برای بررسی شکل‌شناسی و ساختار نمد الکتروریسی، مقدار تخلخل و اندازه قطر نانوالیاف، آزمون میکروسکوپی الکترونی پویشی (SEM) انجام شد. نمدهای تهیه شده پس از اینکه سطح نمونه با لایه نازکی از طلا پوشش یافت، با دستگاه SEM مدل AIS2100 ساخت شرکت Seron Technologies کره جنوبی بررسی شدند. آزمون ضدباکتریایی سامانه‌های الکتروریسی شده در بستر پلیمری روی دو نوع باکتری

شد، یاخته‌های انسانی به‌خوبی روی این نمدها متصل شدند و رشد کردند. در این پژوهش سعی شده است، خاصیت درمانی و اثر هم‌افزایی خاصیت ضدباکتری ترکیب‌های شیمیایی گیاهی کورکومین، پپیرین و الاجیک اسید بررسی شود. از روش الکتروریسی برای تهیه نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتون به‌عنوان بستری مناسب برای این سه ترکیب گیاهی استفاده شده و چسبندگی و رشد یاخته‌های فیبروپلاستی بررسی شد تا قابلیت استفاده آن‌ها در تولید الیاف زخم‌پوش با خواص ضدباکتریایی بهبود یافته سنجیده شود. اصلی‌ترین ترکیب مدنظر در این نمدها کورکومین است که سعی شد، با روش الکتروریسی ساختارهای مناسب تهیه شده و اثر پپیرین و الاجیک اسید بر زیست‌فعالی کورکومین مطالعه شود. اگرچه پیش از این اثر پپیرین بر زیست‌فعالی کورکومین مطالعه شده بود. اما، در این پژوهش تلاش شد، اثر هم‌زمان الاجیک اسید و پپیرین بر کورکومین نیز بررسی شود و به این سوال پاسخ داده شود، آیا الاجیک اسید می‌تواند جایگزینی برای پپیرین باشد یا وجود این دو در کنار هم می‌تواند نتیجه بهتر و مؤثرتری در این زمینه ارائه دهد یا خیر. بدین منظور، نمونه‌های مختلف به‌صورت سامانه‌های تک، دو و سه‌جزئی از ترکیبات گیاهی و بر پایه پلی‌کاپرولاکتون با روش الکتروریسی تهیه و داربست‌های مناسب با اندازه‌ها و ضخامت‌های متفاوت تولید شدند. در نهایت، آزمون‌های ضدباکتریایی، خواص مکانیکی، مقدار جذب و عبورپذیری آب و سمیت یاخته‌ای روی نمدهای تهیه شده انجام شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها

برای تهیه محلول پلی‌کاپرولاکتون، ابتدا ۳ mL محلول دی‌متیل‌فراماید و

جدول ۱- کدگذاری و کسر حجمی نمونه‌های مختلف.

Table 1. Coding and volume fractions of different samples.

Sample code	Polymer concentration (v%)	Curcumin concentration (v/v %)	Piperine concentration (v/v %)	Ellagic acid concentration (v/v %)
PCL	15	0	0	0
C	15	10	0	0
P	15	0	10	0
CE	15	5	5	0
C ₅₀ P ₅₀	15	5	5	0
C ₂₅ P ₇₅	15	2.5	7.5	0
C ₇₅ P ₂₅	15	7.5	2.5	0
CPE ₁₀	15	3.3	3.3	3.3
CPE ₁	15	0.33	0.33	0.33

Δt مدت زمان تغییرات وزن (h) و A سطح نمونه‌های تهیه‌شده از نانوالیاف (m^2) است. قدرت تکثیر و زنده‌مانی یاخته‌های پوستی فیروبلست انسانی (human dermal fibroblast, HDF)، روی نمدهای ساخته‌شده با آزمون MTT به صورت زیر بررسی شد:

برای این آزمون نمدهای الکترورسی شده باید ابتدا سترون‌سازی شوند. بدین منظور، با سوراخ‌کن به شکل دایره‌ای با قطر مطابق با چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای بریده شده و هر طرف آن‌ها به مدت ۲۰ min در معرض پرتو فرابنفش قرار گرفت. برای اطمینان از نبود هر نوع آلودگی میکروبی، نمدهای سترون‌شده سه مرتبه و هر بار با $200 \mu L$ محلول PBS (phosphate buffered saline) به مدت ۵ min شست‌وشو داده شد و PBS خارج شد. سپس، محیط کشت دارای سرم جنین گاوی (fetal bovine serum, FBS)، روی نمونه‌ها ریخته شد و به مدت ۲۴ h درون انکوباتور (Memert) با دمای $37^\circ C$ ، جو گاز ۵٪ CO_2 و ۹۰٪ رطوبت قرار داده شدند تا مقدار آلودگی میکروبی احتمالی مشخص شود. روز بعد در صورت شفاف بودن محیط، یاخته‌ها روی داربست کشت داده شدند. تعداد ۵ هزار یاخته به ازای هر خانه از پلیت ۹۶ خانه‌ای روی داربست‌ها و خانه‌های بدون داربست (به عنوان گروه کنترل) کشت داده شدند. پس از ۲۴ h محیط کشت یاخته‌ها دور ریخته شده، نمونه‌ها از چاهک خارج شدند و به آن‌ها MTT، اضافه شد و به مدت ۳ h درون انکوباتور قرار گرفتند. پس از آن به هر چاهک $100 \mu L$ از DMSO سترون‌نشده اضافه شد. در نهایت، درصد زنده‌مانی یاخته‌ها با دستگاه خوانش ELISA مدل BioTec ELx 800 با طول موج ۵۷۰ nm تعیین شد. رنگ MTT، با $0.005 g$ از MTT در ۱ mL از PBS سترون‌نشده، زیر هود به دور از نور حل شد.

نتایج و بحث

بررسی ریزساختار

از میکروسکوپی الکترونی پویشی برای بررسی ریزساختار و اندازه نمدهای نانوالیافی بر پایه پلی‌کاپرولاکتون الکترورسی شده به صورت سامانه‌های تک‌جزئی دارای کورکومین یا پیپرین (۱۰٪)، سامانه‌های دوجزئی دارای کورکومین-پیپرین (۱۰٪) با نسبت‌های ۳ به ۱، ۱ به ۱ و ۱ به ۳) و سامانه‌های سه‌جزئی دارای کورکومین-پیپرین-الایک اسید (۱٪ و ۱۰٪، با نسبت‌های مساوی از هر سه ترکیب) استفاده شده است. ابتدا ریزساختار و قطر الیاف نمدهای نانوالیافی بر پایه پلی‌کاپرولاکتون الکترورسی شده به صورت سامانه‌های تک، دو و

گرم مثبت و گرم منفی به ترتیب با نام‌های استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) با کد شناسه ATCC25923 و انتروکوک فکالیس (*Enterococcus faecalis*) با کد شناسه ATCC29212، با روش آب‌گریز مطابق استاندارد E2180-07 به شرح زیر انجام شد:

- افزودن باکتری به محیط کشت آگار اسلاری و تهیه تعلیق باکتری با غلظت 1.06×10^6 cfu/mL؛
- افزودن $250 \mu I$ تعلیق باکتری روی نمونه با ابعاد 1×1 cm و گرم‌خانه‌گذاری (incubation) در دمای $37^\circ C$ به مدت ۲۴ h به منظور تشکیل زیست‌لایه باکتری روی سطح نمونه،
- جداکردن زیست‌لایه باکتری از سطح نمونه، تهیه و کشت تعلیق از باکتری‌های مجاورشده با نمونه و
- شمارش تعداد کلنی‌های باکتری.

خواص مکانیکی با آزمون کشش به کمک دستگاه مدل STM ساخت شرکت سنتام ایران بررسی شد. نمدهای موجود با ابعاد 1×4 cm جدا شده و تحت نیروی کششی تک‌بعدی تا نقطه شکست قرار گرفتند. برای بررسی مقدار تورم نمونه‌های نهایی، نمونه‌ها پیش از قرارگیری در آب مقطر با ابعاد 1×1 cm بریده و وزن شدند (W_1). سپس، نمونه‌ها به مدت ۶ h در دمای محیط، درون شیشه‌های آزمایشگاهی دارای آب مقطر روی دستگاه تکاننده قرار گرفتند و پس از حذف آب اضافی دوباره وزن شدند (W_2) و وزن‌های ثانویه یادداشت شد. این آزمون برای هر نمونه پنج مرتبه تکرار شد و در نهایت درصد جذب آب نمونه‌ها از معادله (۱) به دست آمد [۱۶]:

$$(1) \quad \text{درصد جذب آب} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100$$

برای آزمون تراوایی بخار آب، از نمدهای کورکومین-پیپرین-الایک اسید و نیز از نمدهای کنترل دارای پلی‌کاپرولاکتون، با استفاده از سوراخ‌کن (punch) دایره‌هایی با قطر ۱ cm جدا شد. سپس، این نمونه‌ها درون شیشه‌های آزمایشگاهی قرار گرفتند و با ۳ mL آب مقطر پر شدند. شیشه‌ها پس از وزن‌شدن به مدت شش روز داخل دستگاه Germinator مدل 512 قرار گرفتند. این آزمون برای هر نمونه پنج مرتبه تکرار شد و هر روز در زمانی مشخص تا روز ششم وزن ثانویه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه مقدار تراوایی بخار آب، وزن‌های حاصل در معادله (۲) قرار داده شد [۱۵]:

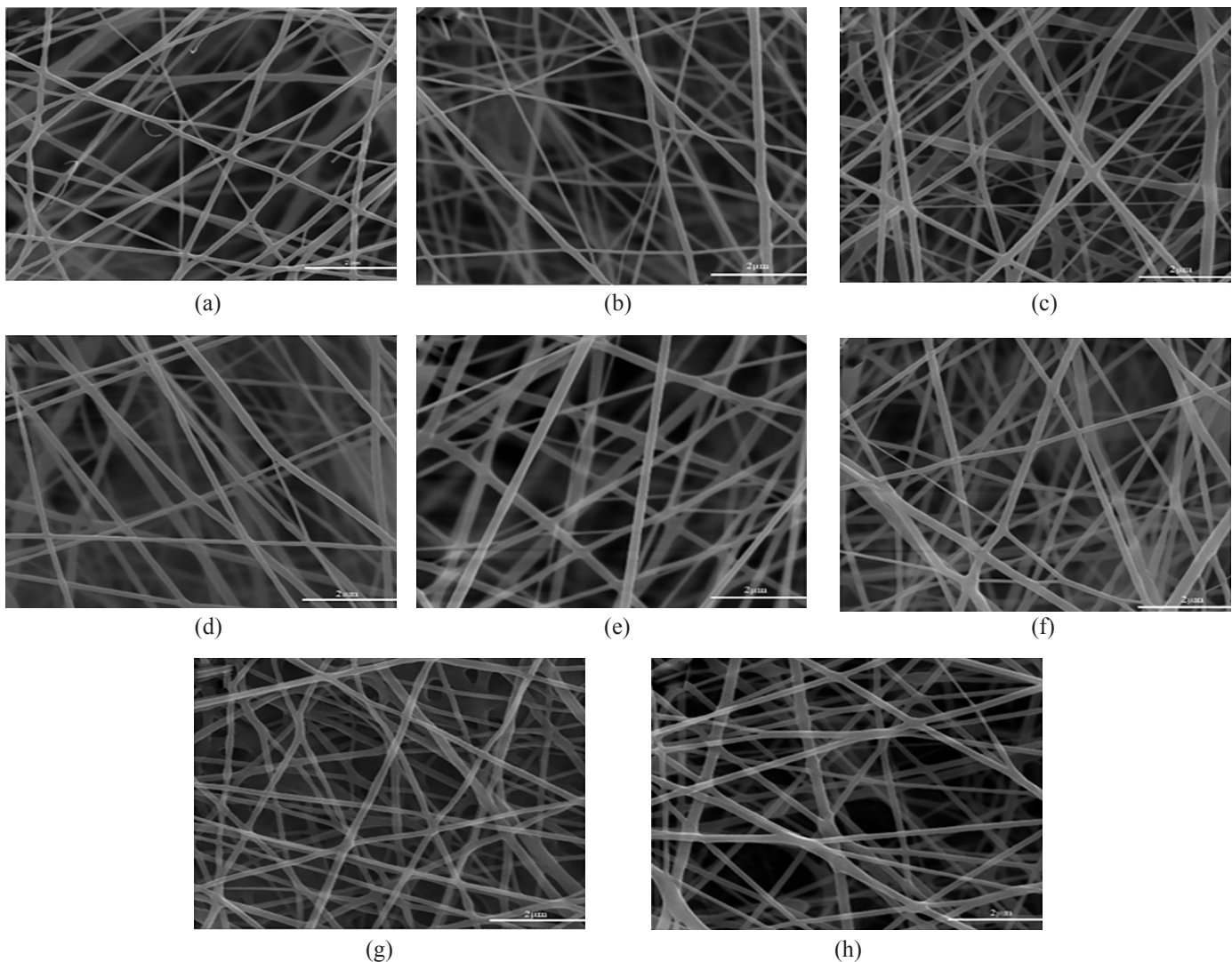
$$(2) \quad WVP = \frac{-\Delta W}{A \times \Delta t}$$

در این معادله، WVP تراوایی بخار آب، ΔW تغییر وزن آب (g)،

محلول PCL نه تنها اثر مخربی بر فرایند الکتروریسی نداشته بلکه موجب بهبود فرایند نیز شده است. این موضوع با مقایسه قطر الیاف قابل درک است. زیرا، قطر الیاف در اثر وجود کورکومین و پپیرین به ترتیب به 103 ± 3 nm و 106 ± 4 nm کاهش یافته است. همچنین، الیاف تولیدشده منظم‌تر هستند. بر اساس نتایج مطالعات انجام‌شده، اضافه کردن کورکومین به PCL به تولید الیاف گرد، گسسته، صاف و با اندازه قطر کمتر نسبت به PCL خالص منجر می‌شود [۱۸، ۱۹].

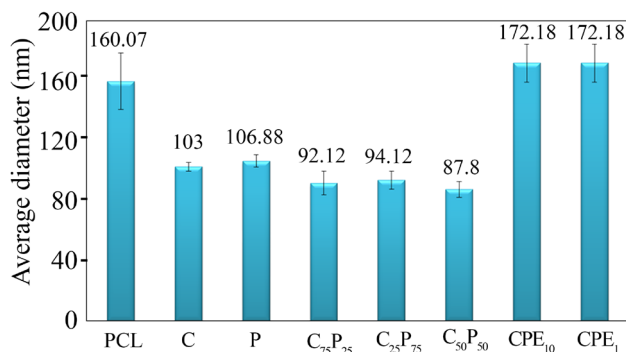
بررسی ریزساختار سامانه‌های دوجزئی با ترکیب درصدی

سه‌جزئی و نیز پلی‌کاپرولاکتون خالص به‌عنوان نمونه کنترل بررسی شد که عکس‌های SEM نمونه‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. در شکل ۱ (a) دیده می‌شود، فرایند الکتروریسی برای محلول‌های پلی‌کاپرولاکتون مناسب است و الیاف تشکیل‌شده با قطر مناسب $160 \pm 18/9$ nm بدون دانه (bead) و ناخالصی‌هایی مانند ذرات حل‌نشده یا قطره‌های حاصل از پاشش هنگام الکتروریسی هستند. در عکس‌های شکل ۱ (b) و (c) نیز مشخص است، الکتروریسی هر دو محلول C و P به‌خوبی انجام شده است. بنابراین، اضافه کردن این ترکیبات به



شکل ۱- ریزنگارهای SEM نمدهای الکتروریسی‌شده دارای: (a) پلی‌کاپرولاکتون (PCL)، (b) کورکومین (C)، (c) پپیرین (P)، (d) کورکومین-پپیرین-الاجیک اسید ۱٪ (CPE₁)، (e) کورکومین-پپیرین-الاجیک اسید ۱۰٪ (CPE₁₀)، (f) کورکومین ۷۵٪-پپیرین ۲۵٪ (C₇₅P₂₅)، (g) کورکومین ۵۰٪-پپیرین ۵۰٪ (C₅₀P₅₀) و (h) کورکومین ۲۵٪-پپیرین ۷۵٪ (C₂₅P₇₅).

Fig. 1. SEM micrographs of electrospun mats containing (a) polycaprolactone (PCL), (b) curcumin (C), (c) piperine (P), (d) curcumin/piperin/ellagic acid 1% (CPE₁), (e) curcumin/piperin/ellagic acid 10% (CPE₁₀), (f) curcumin 75%/piperine 25% (C₇₅P₂₅), (g) curcumin 50%/piperine 50% (C₅₀P₅₀) and (h) curcumin 25%/piperine 75% (C₂₅P₇₅).



شکل ۲- نمودار میانگین قطر نانوالیاف الکترورسی شده در نمدهای مختلف.

Fig. 2. The average diameter of electrospun nanofibers in different mats.

۱۰٪ برای تعیین مقدار خاصیت ضدباکتری بررسی و مشخص شد، نمونه سه‌جزئی با ۱۰٪ الاجیک اسید (CPE₁₀) دارای خاصیت ضدباکتری بیشتری است و بنابراین در ادامه از این نمونه استفاده شد. در آزمون ضدباکتری از نمدهای PCL به‌عنوان کنترل استفاده شد و مقدار خاصیت ضدباکتری سایر نمونه‌ها برحسب آن مقایسه شده است. نمونه PCL خالص خاصیت ضدباکتری ندارد، زیرا باکتری موجود در محیط کشت بدون هیچ مانعی به راحتی رشد کرده است (شکل ۳ (a)). در شکل ۳ (b) محیط کشت نمونه C نشان داده شده است و دیده می‌شود، با اضافه شدن کورکومین به پلی‌کاپرولاکتون نمونه حاصل خاصیت ضدباکتری زیادی دارد و باکتری‌ها نتوانسته‌اند رشد کنند. در نمونه C₅₀P₅₀ در شکل ۳ (c) دیده می‌شود، پیپرین نیز کاملاً خاصیت ضدباکتری دارد. در مقایسه عکس‌ها با یکدیگر و نیز در نظر گرفتن نتایج شکل ۴، مشخص می‌شود، خاصیت ضدباکتری نانوالیاف دارای پیپرین به‌طور جزئی بیشتر از نانوالیاف دارای کورکومین است. خواص ضدباکتری کورکومین و پیپرین پیش از این توسط پژوهشگران دیگری نیز تأیید شده بود [۱۵،۲۰،۲۱]. با توجه به محیط کشت نمدهای C₅₀P₅₀ مشخص است، ترکیب دو ماده کورکومین و پیپرین خاصیت ضدباکتری بسیار مناسبی ایجاد می‌کند (شکل ۳ (d)). همچنین، با مشاهده محیط کشت نمدهای کورکومین-الاجیک اسید در شکل ۳ (e) و نتایج حاصل از آزمون ضدباکتریایی می‌توان نتیجه گرفت، با اضافه کردن الاجیک اسید به کورکومین، نمدهای حاصل خاصیت ضدباکتری مناسبی نشان می‌دهد. پیش از این در چند پژوهش دیگر نیز به خاصیت ضدباکتری و ضدقارچی الاجیک اسید اشاره شده بود [۱۶،۲۲،۲۳]. در نهایت، مقدار فعالیت ضدباکتری سامانه سه‌تایی CPE₁₀ روی

مختلف نشان داده شده در شکل‌های ۱ (d)، (e) و (f) تأیید می‌کند، قطر الیاف نمدهای این سامانه‌ها نیز کاهش می‌یابد. به طوری که قطر الیاف در نمونه کورکومین ۷۵٪-پیپرین ۲۵٪، به 94 ± 8 nm و در نمونه دارای کورکومین ۲۵٪-پیپرین ۷۵٪ به 94 ± 6 nm رسیده است. در حالی که قطر الیاف نمدهای کورکومین ۵۰٪-پیپرین ۵۰٪، $87.8 \pm 5/4$ nm است. این تغییر ایجاد شده در قطر الیاف به دلیل اثر تغییر غلظت کورکومین در محلول پلیمری است، زیرا اضافه کردن کورکومین به کاهش غلظت محلول پلیمری منجر می‌شود که این موضوع میانگین قطر نانوالیاف را کاهش می‌دهد. بنابراین به نظر می‌رسد، برای دستیابی به الیافی با قطر کمتر، بهتر است، در فرایند الکترورسی از محلول دارای نسبت‌های مساوی پیپرین و کورکومین استفاده شود. نتایج الکترورسی نمدهای دارای الاجیک اسید (۱ و ۱۰٪) نشان می‌دهد، اضافه کردن این ماده به محلول پلیمری قطر الیاف الکترورسی شده را افزایش داده است (شکل‌های ۱ (h) و (g)). نکته جالب توجه اینکه هر دو ترکیب درصد به مقدار یکسان افزایش قطر را ایجاد می‌کنند و قطر الیاف دارای الاجیک اسید به $172.18 \pm 12/0.8$ nm می‌رسد. این تغییر یکسان اندازه قطر نمدهای نانوالکترورسی شده، می‌تواند بیانگر نبود تغییر در استحکام کششی الیاف دارای مقادیر متفاوت الاجیک اسید باشد که در فرایند الکترورسی گران‌روی محلول پلیمری را تحت تأثیر محیط، دما و جریان اندکی تغییر داده است. قطر الیاف در تمام نمونه‌ها به صورت نمودار ستونی در شکل ۲ نیز نشان داده شده است. از آنجا که تغییر اندازه قطر الیاف بر مقدار خاصیت دارویی نمدهای الکترورسی اثری ندارد و فقط به دلیل افزایش نسبت سطح به حجم باعث کاهش رهائش دارو می‌شود [۱۹]. بنابراین، افزایش قطر الیاف دارای الاجیک اسید نمی‌تواند به‌عنوان مانعی برای فرایند الکترورسی باشد و برای انتخاب ترکیب درصد مناسب الاجیک اسید نتایج آزمون ضدباکتری نیز باید بررسی شود.

آزمون کمی ضدباکتری

مقدار رشد باکتری‌ها بسیار به مقدار خاصیت ضدباکتری نمونه‌های الکترورسی شده و قابلیت رهائش دارو از سطح الیاف الکترورسی در محیط کشت وابسته است. عکس‌های صفحه‌های دارای نمدهای الکترورسی شده و مقدار رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و انتروکوک فکالیس در شکل ۳ نشان داده شده است. همچنین، عملکرد ضدباکتری نمونه‌ها در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به صورت نموداری در شکل ۴ نشان داده شده است. ابتدا، نمدهای الکترورسی شده سه‌جزئی دارای الاجیک اسید ۱ و

بسیار مهم و حیاتی است. برای تعیین این عامل از آزمون‌های مقدار جذب آب و آزمون تراوایی بخار آب (water vapor permeability, WVP) طی مدت زمان ترمیم زخم در شرایط برون‌تنی (in vitro) استفاده می‌شود. حفظ مایعات زخم عملکرد زخم‌پوش را در شرایط بسیار شدید در محیط داخل بدن تعیین می‌کند. در این پژوهش، برای بررسی مقدار آب‌دوستی، دو آزمون اندازه‌گیری مقدار تراوایی بخار آب و درصد جذب آب‌کار گرفته شده و نتایج آزمون تراوایی بخار آب در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است، مقدار تراوایی بخار آب برای سامانه پلی‌کاپرولاکتون بارگذاری شده با مواد سه‌جزئی کورکومین-پیپرین-لاجیک اسید بیشتر از پلی‌کاپرولاکتون خالص است. گفتنی است، در این نمونه‌ها پس از ۷۲ h تراوایی بخار آب به حالت ثابت و اشباع رسید. افزایش سرعت نفوذ بخار آب در نمونه‌های CPE₁₀ در مقایسه با پلی‌کاپرولاکتون خالص را می‌توان به وجود گروه‌های آب‌دوست لاجیک اسید و بخشی از ساختار شیمیایی کورکومین روی سطح نانوالیاف نسبت داد. گروه‌های لاجیک اسید به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه بنزنی می‌توانند با بخار آب برهم‌کنش خوبی برقرار کنند و موجب افزایش نفوذ بخار آب شوند. همچنین، اکسیژن موجود روی ساختار شیمیایی کورکومین نیز می‌تواند با توجه به خاصیت پروتون‌دهندگی خود به افزایش مقدار تراوایی بخار آب منجر شود. معمولاً برای یک پوست در حالت عادی، مقدار تراوایی بخار آب حدود ۰/۸۵ mg/cm².h است و برای یک پوست زخمی شده این مقدار به ۲۱/۴۱-۱/۱۶ mg/cm².h می‌رسد. زخم‌پوش مناسب برای جلوگیری از آب‌زدایی و ترشحات اضافی باید دارای مقادیر مناسبی باشد. طبق منابع معتبر، مقدار تراوایی بخار آب مناسب برای زخم‌پوشی استاندارد حدود ۸/۳۳-۴۲/۱۰ mg/cm².h است [۱۵]. زخم‌پوش تولیدشده در این پژوهش دارای مقدار تراوایی بخار آب در محدوده ۱۱ mg/cm².h بود که در محدوده مجاز زخم‌پوش ایمن است.

جذب آب نمونه‌های الکترورسی شده

همان‌طور که گفته شد، مقدار آب‌دوستی مواد استفاده‌شده در زمینه‌های زیست‌پزشکی اهمیت زیادی دارد. به‌عنوان مثال در زخم‌پوش‌ها، نگهداری مقدار مناسبی از رطوبت در بین زخم‌پوش و زخم عامل ضروری است که باعث ترمیم به‌موقع و سریع‌تر زخم می‌شود. نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتون الکترورسی‌شده زمانی که برای شناسایی ماتریس‌های برون‌یاخته‌ای در بافت‌های زنده به‌کار می‌روند، به دلیل خواص آب‌دوستی ضعیف، نقص‌هایی در عملکرد طبیعی یاخته ایجاد می‌کنند. بنابراین ارزیابی مقدار آب‌دوستی نانوالیاف

استحکام کششی و افزایش طول تا پارگی برای دو نمونه نانوالیاف تهیه‌شده با پلی‌کاپرولاکتون خالص و پلی‌کاپرولاکتون بارگذاری‌شده با سه ترکیب (کورکومین-پیپرین-لاجیک اسید) در جدول ۲ آمده است.

همان‌طور که در این جدول دیده می‌شود، هر سه خاصیت مکانیکی پس از اضافه‌شدن (کورکومین-پیپرین-لاجیک اسید) کاهش یافته است. قطر الیاف یکی از عوامل مهمی است که بر خواص مکانیکی نانوداربست‌ها اثر می‌گذارد. گرانروی محلول پلیمری می‌تواند اثر مهمی بر قطر نانوالیاف داشته باشد که با افزایش گرانروی، قطر نانوالیاف افزایش می‌یابد و توزیع قطر میانگین نانوداربست‌ها باریک‌تر می‌شود [۲۵]. دلیل اصلی کاهش خواص مکانیکی نانوالیاف دارای (کورکومین-پیپرین-لاجیک اسید) نسبت به پلی‌کاپرولاکتون خالص را می‌توان به کاهش قطر نانوالیاف نسبت داد. همان‌طور که در عکس‌های SEM نشان داده شد، با اضافه‌شدن کورکومین و پیپرین قطر نانوالیاف کاهش می‌یابد. با افزودن سه نوع ماده (کورکومین-پیپرین-لاجیک اسید) به داخل محلول پلیمری، از غلظت پلی‌کاپرولاکتون کم شده که به کاهش قطر میانگین نانوالیاف منجر می‌شود. هر چقدر قطر نانوالیاف کمتر شود، خواص مکانیکی آن ضعیف‌تر شده و در اثر اعمال تنش زودتر شکسته می‌شود و افزایش طول تا پارگی نیز کمتر می‌شود [۲۴]. نتایج پژوهش Mutlu و همکاران [۲۶] نشان داد، با بارگذاری کورکومین در نسبت‌های مختلف ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ وزنی-حجمی در پلیمر پلی (۳-هیدروکسی بوتیریک اسید-CO-هیدروکسی والریک اسید)، میانگین قطر نانوالیاف از ۵۱۹ nm به ترتیب به ۳۰۴، ۲۱۵ و ۲۰۷ nm کاهش می‌یابد. همچنین، استحکام مکانیکی نانوداربست‌های پلیمری با افزایش بارگذاری کورکومین کم می‌شود [۲۶].

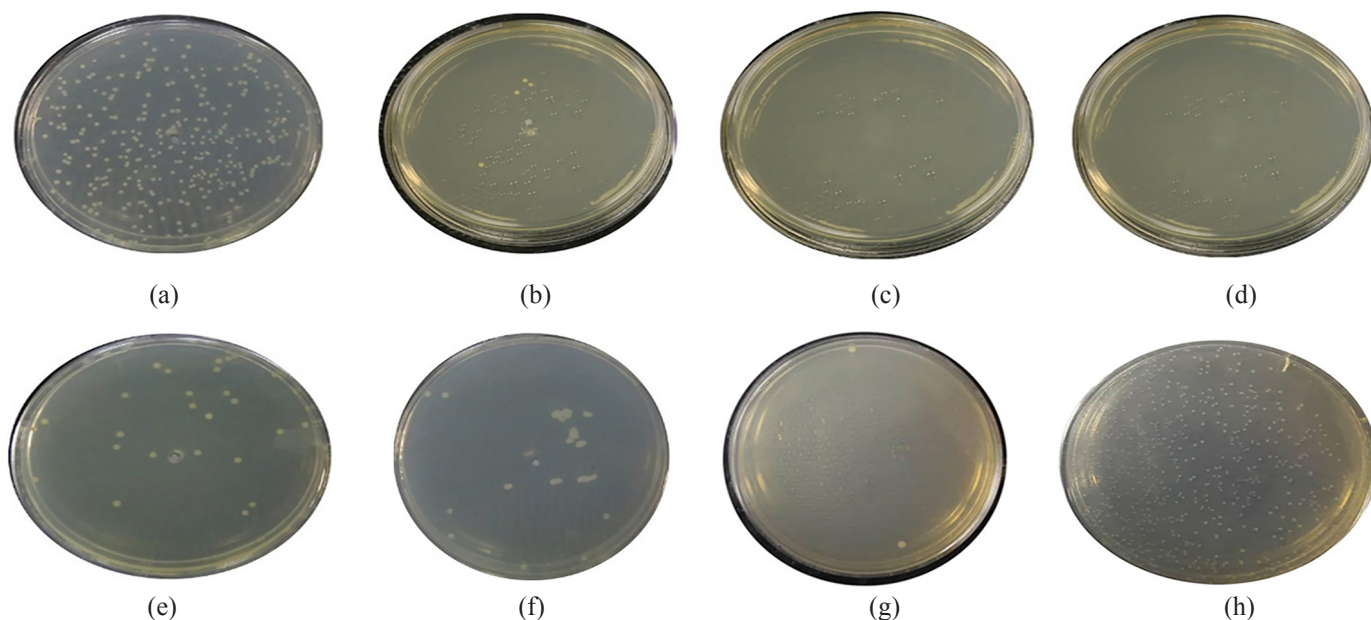
تراوایی بخار آب

به دلیل اهمیت زیاد کنترل کاهش آب در زخم باز یا مرطوب، کنترل نفوذ رطوبت در طراحی مواد مصرفی برای پانسمان‌های زخم‌پوش

جدول ۲- خواص مکانیکی نمونه‌های پلی‌کاپرولاکتون و سامانه سه‌تایی CPE₁₀.

Table 2. The mechanical properties of neat PCL and CPE10 samples.

Mechanical properties	PCL	CPE ₁₀
Strength module (MPa)	1.033	0.924
Tensile strength (MPa)	0.406	0.205
Elongation at break (%)	38.171	20.282



شکل ۳- فعالیت ضدباکتریایی در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس برای سامانه‌های دارای: (a) پلی‌کاپرولاکتون (PCL)، (b) کورکومین (C)، (c) پپیرین (P)، (d) کورکومین ۵۰٪-پپیرین ۵۰٪ (C₅₀P₅₀)، (e) کورکومین-الاجیک اسید (CE)، (f) کورکومین-پپیرین-الاجیک اسید ۱۰٪ (CPE₁₀) و فعالیت ضدباکتری در برابر باکتری انتروکوک فکالیس برای سامانه‌های دارای (g) کورکومین (C) و (h) کورکومین-پپیرین-الاجیک اسید ۱۰٪ (CPE₁₀).

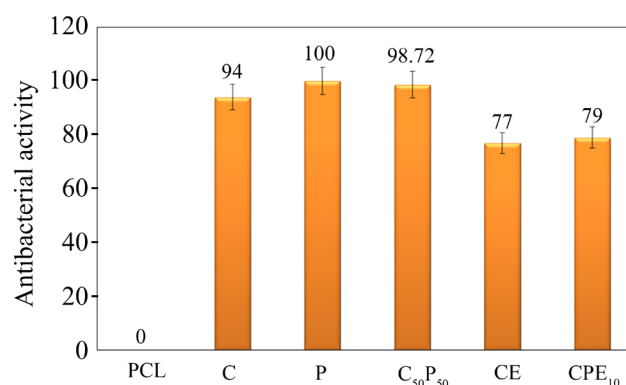
Fig. 3. Antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* bacterium for: (a) polycaprolactone (PCL), (b) curcumin (C), (c) piperine (P), (d) curcumin 50% /piperine 50%(C₅₀P₅₀), (e) curcumin/ellagic acid (CE), (f) curcumin/piperin/ellagic acid 10% (CPE₁₀), and the antibacterial activity against *Enterococcus faecalis* bacterium for (g) curcumin (C), and (h) curcumin/piperin/ellagic acid 10% (CPE₁₀).

نظر فعالیت ضدباکتری در برابر استافیلوکوکوس اورئوس ۷۹٪ و در محدوده مناسب و قابل قبول است (شکل ۳ (f)). نمونه C در برابر باکتری انتروکوک فکالیس، هیچ فعالیت ضدباکتری نشان نداد (شکل ۳ (g)). در حالی که خاصیت ضدباکتری CPE₁₀ در برابر این باکتری ۹۹/۵۴٪ و بسیار شایان توجه بوده که در شکل ۳ (h) کاملاً مشخص است. بنابراین سامانه سه‌تایی تهیه‌شده در برابر هر دو نوع باکتری گرم مثبت و منفی فعالیت ضدباکتری قابل قبولی نشان داد. از این‌رو، برای کاربردهای پزشکی مناسب است.

خواص مکانیکی

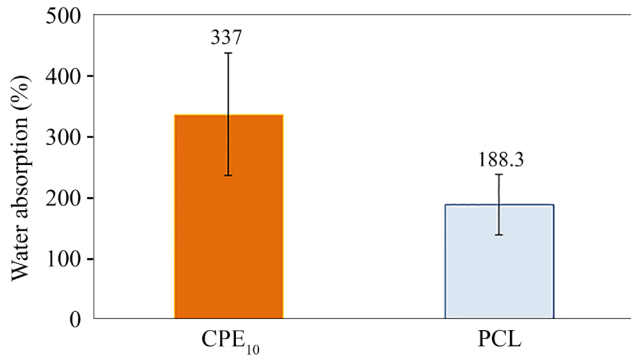
نمدهای استفاده‌شده در مهندسی بافت باید استحکام کششی کافی، کشسانی مناسب و انعطاف‌پذیری قابل قبول داشته باشند، زیرا تحمل بار اعمال‌شده ناشی از حرکت‌های بدن عامل مهم و ضروری است و از ایجاد نقص در ساختار نانوالیاف جلوگیری می‌کند [۲۴]. در این پژوهش، کشسانی سامانه سه‌جزئی CPE₁₀ بررسی شد. مدول و

دو نوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و انتروکوک فکالیس مطالعه شد. با توجه به نتایج می‌توان دریافت، سامانه سه‌تایی CPE₁₀ نیز از



شکل ۴- فعالیت ضدباکتریایی نمونه‌های مختلف در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس.

Fig. 4. Antibacterial activity of different samples against *Staphylococcus aureus* bacterium.



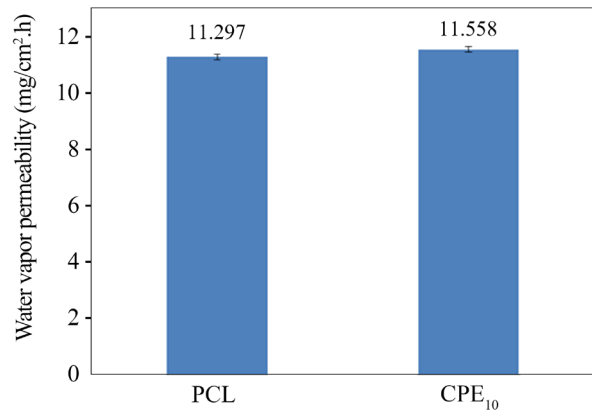
شکل ۶- جذب آب نمونه‌های پلی‌کاپرولاکتون خالص و سامانه سه‌تایی CPE₁₀.

Fig. 6. The water uptake of neat PCL and CPE₁₀ samples.

سطح به حجم بیشتر می‌شود و نانوالیاف سطح تماس مؤثر بیشتری با آب پیدا می‌کنند و می‌توانند درصد بیشتری از آب را جذب کنند که با توجه به نتایج اندازه‌گیری قطر الیاف، در این پژوهش کاهش قطر مشاهده نشد و نمی‌تواند در افزایش جذب آب مؤثر واقع شود. از طرفی، در ساختار شیمیایی مولکول لاجیک اسید دو گروه عاملی آب‌دوست استری و چهار گروه عاملی کاتکولی (دو گروه هیدروکسیل متصل به حلقه بنزنی) وجود دارند که می‌توانند با مولکول‌های آب پیوند هیدروژنی برقرار کنند و به جذب آب روی سطح نانوالیاف منجر شوند و از این طریق خواص جذب آب را بهبود دهند. این نتایج در پژوهش‌های مشابهی نیز تأیید شده است. در مطالعه Mutlu و همکاران [۲۶] با افزایش مقدار بارگذاری کورکومین از ۰ تا ۰/۳، ظرفیت تورم نانوالیاف پلی (۳-هیدروکسی بوتیریک اسید-*CO*-هیدروکسی والریک اسید) در آب از ۵۰٪ به ۳۲۲٪ افزایش یافت.

سمیت یاخته‌ای

در آزمون سمیت یاخته‌ای هدف تعیین مقدار زنده‌مانی یاخته‌ها در مجاورت نمدهای ساخته‌شده است. در این آزمون از یاخته‌های پوستی فیبروبلاست انسانی (human dermal fibroblast, HDF) استفاده شد. همان‌طور که در شکل ۷ دیده می‌شود، بیشترین مقدار تکثیر یاخته‌ای در نمونه پلی‌کاپرولاکتون دیده می‌شود که حاکی از نبود سمیت در نمونه و امن بودن آن برای کاربردهای زیستی است. با اضافه کردن ترکیبات کورکومین، پیپرین و لاجیک اسید در حالت‌های تک، دو و سه‌جزئی نتایج آزمون سمیت یاخته‌ای به‌طور شایان توجهی تغییر می‌کند. ترتیب مقدار درصد رشد و تکثیر یاخته‌ای برای همه نمونه‌های آماده‌سازی شده به ترتیب $P > C_{50}P_{50} > CPE_{10} > CE > C > PCL$ بود. از مقایسه این مقادیر می‌توان ادعا کرد، کمترین مقدار تکثیر



شکل ۵- تراوایی بخار آب نمونه‌های پلی‌کاپرولاکتون خالص و سامانه سه‌تایی CPE₁₀.

Fig. 5. The water vapor permeability of neat PCL and CPE₁₀ samples.

به‌کاررفته در زیست‌پزشکی لازم است. مقدار آب‌دوستی نانوالیاف استفاده‌شده در زمینه‌های دارویی و زیستی با روش‌های اندازه‌گیری مقدار جذب آب یا محاسبه زاویه تماس سنجیده می‌شود [۱۹]. افزایش وزن زخم‌پوش‌ها پس از جذب مایعات و تورم در زمانی مشخص به‌عنوان نشانه جذب آب است [۲۷]. در این پژوهش از اندازه‌گیری مقدار جذب آب برای بررسی آب‌دوستی نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتونی بارگذاری‌شده با کورکومین، پیپرین و لاجیک اسید استفاده شد که نتایج در شکل ۶ گزارش شده است. در این شکل مشخص است، مقدار جذب آب نمد دارای کورکومین-پیپرین-لاجیک اسید نسبت به نمونه کنترل دارای پلی‌کاپرولاکتون بسیار بیشتر است. درصد جذب آب در نمونه پلی‌کاپرولاکتون در مدت زمان ۶ h غوطه‌وری در آب حدود ۲۰۰٪ است که با توجه خاصیت آب‌گریزی ذاتی این پلیمر می‌تواند اصلاح شود [۱۵]. با اضافه‌کردن مخلوطی از کورکومین-پیپرین-لاجیک اسید در نمونه CPE₁₀، درصد جذب آب نسبت به پلی‌کاپرولاکتون خالص ۱۱۸۰٪ افزایش پیدا می‌کند. این نتیجه نیز در توافق با افزایش مقدار تراوایی بخار آب است. دلیل این موضوع وجود ترکیباتی مانند لاجیک اسید و کورکومین در ساختار نانوالیاف است. کورکومین با اینکه در محیط آبی نامحلول است، اما اکسیژن موجود در ساختار شیمیایی آن می‌تواند به‌عنوان دهنده پروتون عمل کند و به اتصال مولکول‌های آب بر سطح نانوالیاف منجر شود و بنابراین درصد جذب آب آن‌ها را افزایش دهد [۲۴]. البته یکی دیگر از دلایل افزایش مقدار جذب آب نانوالیاف می‌تواند به کاهش قطر نانوداربست‌ها مربوط باشد، به‌طوری که با کاهش قطر نانوالیاف نسبت

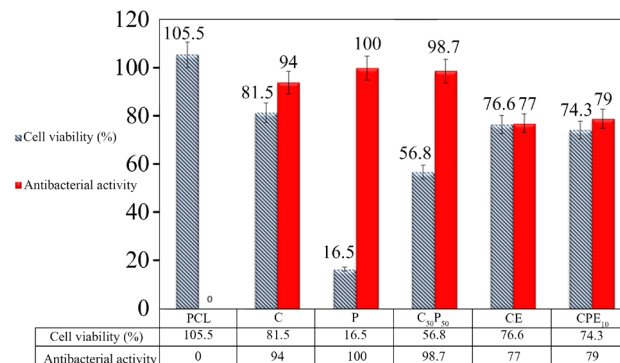
خواص سمیت یاخته‌ای و خواص ضدباکتری منجر می‌شود [۲۹].

نتیجه‌گیری

این پژوهش به منظور بررسی مقدار هم‌افزایی کورکومین، پیپرین و الایجیک اسید در نمدهای تهیه‌شده بر پایه پلی‌کاپرولاکتون برای کاربردهای پزشکی انجام شد. بیشترین درصد پراکندگی اندازه قطر نمدهای الکتروریسی‌شده در سامانه‌های تک‌جزئی PCL، C، P و دو جزئی $C_{25}P_{75}$ ، $C_{50}P_{50}$ و $C_{75}P_{25}$ سه جزئی CPE_{10} و CPE_{10} در محدوده ۵۰ nm تا ۱۰۰ nm بود. در نتیجه، فرایند الکتروریسی ترکیبات انتخاب‌شده به خوبی انجام شد و نسبت سطح به حجم مناسبی به دست آمد. نتایج آزمون ضدباکتری روی دو گونه باکتری گرم مثبت و گرم منفی نشان داد، فعالیت ضدباکتری سامانه سه جزئی CPE_{10} ، در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ۷۹٪ و در برابر باکتری *اتروکوک فکالیس* ۹۹/۵۴٪ است. از این رو، استفاده از سه ترکیب الایجیک اسید، پیپرین و کورکومین در کاربردهای پزشکی از نظر فعالیت ضدباکتری مناسب است. کاهش اندک در خواص کشسانی نمود سه جزئی CPE_{10} ، به کاهش قطر الیاف الکتروریسی‌شده نسبت داده شد. مقدار جذب آب و تراوایی بخار آب نانوالیاف تهیه‌شده نیز بررسی شد. نتایج نشان داد، نمود سه جزئی CPE_{10} دارای ۳۳۷٪ جذب آب و تراوایی بخار آب ۱۱/۵۶ mg/(cm².h) است که در محدوده مناسبی برای کاربردهای پزشکی قرار دارد. از بررسی آزمون سمیت یاخته‌ای می‌توان نتیجه گرفت، سامانه سه جزئی CPE_{10} ، با زنده‌مانی یاخته ۷۹٪ در محدود سمیت جزئی قرار دارد که برای استفاده در زمینه‌های پزشکی باید بررسی‌های بیشتری در این زمینه انجام شود.

مراجع

1. Dash T.K. and Konkimalla V.B., Polymeric Modification and Its Implication in Drug Delivery: Poly-ε-Caprolactone (PCL) as a Model Polymer, *Mol. Pharm.*, **9**, 2365-2379, 2012.
2. Zahedi E., Esmaeili A., and Eslahi N., Fabrication and Characterization of Core-Shell Electrospun Fibrous Mats Containing Medicinal Herbs for Wound Healing and Skin Tissue Engineering, *Mar. Drugs.*, **17**, 1-13, 2019.
3. Kazemi S., Pourmadadi M., Yazdian F., and Ghadami A., The Synthesis and Characterization of Targeted Delivery Curcumin Using Chitosan-Magnetite-Reduced Graphene Oxide as Nano-carrier, *Int. J. Biol. Macromol.*, **186**, 554-562, 2021.
4. Prasad S., Tyagi A.K., and Aggarwal B.B., Recent Developments in Delivery, Bioavailability, Absorption and Metabolism of Curcumin: the Golden Pigment from Golden Spice, *Cancer Res. Treat Off J. Korean Cancer Assoc.*, **46**, 2-18, 2014.
5. Gorgani L., Mohammadi M., Najafpour G.D., and Nikzad



شکل ۷- داده‌های به دست آمده از بررسی زنده‌مانی یاخته در نمونه‌های مختلف و مقایسه با خواص ضدباکتری.

Fig. 7. The obtained data from cell viability investigation of different samples and comparison with antibacterial properties.

یاخته‌ای و بیشترین سمیت ایجادشده به وجود پیپرین در مجاورت پلی‌کاپرولاکتون مربوط است. بنابراین، در حالت کلی واردشدن پیپرین به‌عنوان یکی از مواد افزودنی به سمیت شایان توجه در نمونه منجر می‌شود. بیشترین مقدار تکثیر یاخته‌ای نسبت به پلی‌کاپرولاکتون به نمونه C مربوط است. به‌طور کلی، اگر تکثیر یاخته‌ای بیش از ۹۰٪ باشد، هیچ گونه سمیتی وجود ندارد. اما، درصدهای کمتر از ۹۰٪ تا ۸۵٪ نیز نسبتاً قابل قبول هستند [۲۷]. Jain و همکاران [۲۸] نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتونی-ژلاتینی بارگذاری‌شده با پیپرین را تهیه و نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند. آن‌ها دریافتند، بارگذاری پیپرین روی نانوداربست پلی‌کاپرولاکتون ترکیب‌شده با ژلاتین به افزایش خواص ضدباکتریایی منجر می‌شود. همچنین، وجود پیپرین به کاهش رشد و مرگ یاخته‌های سرطانی منجر شده است. در کار پژوهش دیگری صدقی و همکاران [۲۹] با مطالعه بارگذاری کورکومین روی نانوالیاف کامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون-روی اکسید-گرافن اکسید، به این نتیجه رسیدند که افزایش مقدار کورکومین در این سامانه سه جزئی به بهبود

- M., Piperine-the Bioactive Compound of Black Pepper: from Isolation to Medicinal Formulations, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **16**, 124-140, 2017.
6. Scrimshaw N.S., *Handbook of Herbs and Spices*, Book Review, **3**, 249-249, 2007.
 7. Bang J.S., Choi H.M., Sur B.J., and Lim S.L., Anti-inflammatory and Antiarthritic Effects of Piperine in Human Interleukin 1 β -Stimulated Fibroblast-like Synoviocytes and in Rat Arthritis Models, *Arthritis Res. Ther.*, **11**, 1-9, 2009.
 8. Mohanraj V.J. and Chen Y., Nanoparticles-A Review, *Trop. J. Pharm. Res.*, **5**, 561-573, 2006.
 9. Maherani B., Arab-Tehrany E., and Mozafari M., Liposomes: A Review of Manufacturing Techniques and Targeting Strategies, *Curr. Nanosci.*, **7**, 436-452, 2011.
 10. Pentak D., In Vitro Spectroscopic Study of Piperine-Encapsulated Nanosize Liposomes, *Eur. Biophys. J.*, **45**, 175-186, 2016.
 11. Shaik M.M. and Kowshik M., Ellagic Acid Containing Collagen-Chitosan Scaffolds as Potential Antioxidative Biomaterials for Tissue Engineering Applications, *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.*, **68**, 208-215, 2019.
 12. Desai P., Thumma N.J., and Wagh P.R., Cancer Chemoprevention Using Nanotechnology-Based Approaches, *Front. Pharmacol.*, **11**, 1-9, 2020.
 13. Jantarat C., Sirathanarun P., and Boonmee S., Effect of Piperine on Skin Permeation of Curcumin from a Bacterially Derived Cellulose-Composite Double-Layer Membrane for Transdermal Curcumin Delivery, *Sci. Pharm.*, **86**, 1-14, 2018.
 14. Baspinar Y., Üstündas M., Bayraktar O., and Sezgin C., Curcumin and Piperine Loaded Zein-Chitosan Nanoparticles: Development and In-Vitro Characterisation, *Saudi. Pharm. J.*, **26**, 323-334, 2018.
 15. Saeed S.M., Mirzadeh H., Zandi M., and Barzin J., Designing and Fabrication of Curcumin Loaded PCL/PVA Multi-layer Nanofibrous Electrospun Structures as Active Wound Dressing, *Prog. Biomater.*, **6**, 39-48, 2017.
 16. Alexandre E.M.C., Silva S., and Santos S.A.O., Antimicrobial Activity of Pomegranate Peel Extracts Performed by High Pressure and Enzymatic Assisted Extraction, *Food Res. Int.*, **115**, 167-176, 2019.
 17. Fernández J., Ruiz-Ruiz M., and Sarasua J.R., Electrospun Fibers of Polyester, with Both Nano- and Micron Diameters, Loaded with Antioxidant for Application as Wound Dressing or Tissue Engineered Scaffolds, *ACS Appl. Polym. Mater.*, **1**, 1096-1106, 2019.
 18. Liu J., Xu L., and Liu C., Preparation and Characterization of Cationic Curcumin Nanoparticles for Improvement of Cellular Uptake, *Carbohydr. Polym.*, **90**, 16-22, 2012.
 19. Malikmammadov E., Tanir T.E., and Kiziltay A., PCL and PCL-based Materials in Biomedical Applications, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **29**, 863-893, 2018.
 20. Marković Z., Kováčová M., and Mičušík M., Structural, Mechanical, and Antibacterial Features of Curcumin/Polyurethane Nanocomposites, *J. Appl. Polym. Sc.*, **136**, 47283-47291, 2019.
 21. Gupta A., Gupta M., and Gupta S., Isolation of Piperine and Few Sesquiterpenes from the Cold Petroleum Ether Extract of Piper Nigrum (Black Pepper) and Its Antibacterial Activity, *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.*, **5**, 3-7, 2013.
 22. Jaisinghani R.N., Makhwana S., and Kanojia A., Study on Antibacterial and Flavonoid Content of Ethanolic Extract of Punica Granatum (Pomegranate) Peel, *Microbiol. Res.*, **9**, 6-9, 2018.
 23. Rosas-Burgos E.C., Burgos-Hernández A., and Noguera-Artiaga L., Antimicrobial Activity of Pomegranate Peel Extracts as Affected by Cultivar, *J. Sci. Food. Agric.*, **97**, 802-810, 2017.
 24. Ranjbar-Mohammadi M. and Bahrami S.H., Electrospun Curcumin Loaded Poly(ϵ -caprolactone)/Gum Tragacanth Nanofibers for Biomedical Application, *Int. J. Biol. Macromol.*, **84**, 448-456, 2016.
 25. Wong S.C., Bajji A., and Leng S., Effect of Fiber Diameter on Tensile Properties of Electrospun Poly(ϵ -caprolactone), *Polymer*, **49**, 4713-4722, 2008.
 26. Mutlu G., Calamak S., Ulubayram K., and Guven E., Curcumin-loaded Electrospun PHBV Nanofibers as Potential Wound-Dressing Material, *J. Drug. Deliv. Sci. Technol.*, **43**, 185-193, 2018.
 27. Zahedi P., Rezaeian I., and Ranaei-Siadat S., A Review on Wound Dressings with an Emphasis on Electrospun Nanofibrous Polymeric Bandages, *Polym. Adv. Technol.*, **21**, 77-95, 2010.
 28. Jain S., Meka S.R.K., and Chatterjee K., Engineering a Piperine Eluting Nanofibrous Patch for Cancer Treatment, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **2**, 1376-1385, 2016.
 29. Sedghi R., Sayyari N., and Shaabani A., Novel Biocompatible Zinc-Curcumin Loaded Coaxial Nanofibers for Bone Tissue Engineering Application, *Polymer*, **142**, 244-255, 2018.