

Fabrication and Characterization of Xanthan Film Containing Spirulina Extract with Continues Release Capability for Use in Wound Healing

Afrouz Ghasemzadeh ¹, Rana Imani ^{2*}, Tahura Ebrahimi ³

¹ BSc Student, Biomedical Engineering Department, Amirkabir University of Technology (Tehran Polytechnic), Tehran, Iran.

² Assistant Professor, Biomedical Engineering Department, Amirkabir University of Technology (Tehran Polytechnic), Tehran, Iran.

³ PhD Student, Biomedical Engineering Department, Amirkabir University of Technology (Tehran Polytechnic), Tehran, Iran.

*Corresponding Author's Email: r.imani@aut.ac.ir (R. Imani)

Paper History:

Received: 2022-12-19

Revised: 2023-01-18

Accepted: 2023-01-29

Keywords:

Wound Dressing,
Xanthan Gum,
Spirulina Extract,
Controlled Release,
Niosome

Abstract: Today, the most common method for wound treatment is to use engineered wound dressings. In the present study, a film wound dressing based on xanthan biopolymer, containing niosomal nanocarrier, was prepared for the local release of spirulina algae extract. Niosomal nanocarriers containing the spirulina extract were prepared using thin film hydration method. Then, a film wound dressing was produced by uniformly combining xanthan, glycerol emollient, and niosomes containing spirulina. According to scanning electron microscopy, the morphology of the niosomes were spherical with an average size of about 200 nm, and the percentage of drug loading within the niosomes was 72%. Moreover, 25% of the drug was released from the structure of the film containing niosomes within 20 days. Additionally, the wound dressing containing niosomes exhibited a 35% weight loss within 20 days. Through cytotoxicity testing conducted within 24 hours, it was revealed that up to a concentration of 200 µg/ml of the spirulina drug, cell viability remained higher than 80% compared to the control sample. In summary, the results of this study indicate that the niosomal carrier within the xanthan film structure could serve as an effective local drug delivery system for wound treatment.



<https://doi.org/10.30501/jamt.2023.364845.1272>

URL: https://www.jamt.ir/article_186031.html

1. INTRODUCTION

The skin plays a pivotal role as the primary barrier, defending the body against infections. Therefore, swift wound repair becomes imperative following a deep skin injury to prevent the infiltration of pathogenic microorganisms into the body. Currently, the predominant approach to wound treatment revolves around the application of engineered wound dressings. These dressings are meticulously crafted to expedite the healing process by facilitating the local, targeted, and sustained release of potent therapeutic compounds at the wound site (Behyari et al., 2021).

In this research, a wound dressing film has been innovatively developed using xanthan biopolymer embedded with niosomal nanocarriers for the precise release of spirulina algae extract. The methodology involved the extraction of spirulina, formulation of niosomal nanocarriers containing the extract through the thin film hydration method, and the fabrication of a film dressing by seamlessly blending xanthan, glycerin, and spirulina-loaded niosomes.

1. MATERIALS AND METHODS

Xanthan powder and Spirulina powder were procured from Kimia Pasha (Tabriz, Iran) and Spirulife (Tehran, Iran), respectively. Sorbitan monostearate (Span 60) and cholesterol were acquired from Sigma (Germany) while ethanol was supplied by Merck (Germany). PBS and glycerin were purchased from Temadkala (Tehran,

Iran). Fibroblast cells were sourced from Pasteur Cell Bank (Tehran, Iran), and the culture medium, trypsin, tetrazolium bromide salt, and dimethyl sulfoxide were obtained from Merck (Germany).

The aqueous extraction of Spirulina followed the protocol established by Choi et al. (Choi et al., 2017). Niosomes were synthesized using the thin film hydration method (Pando et al., 2015), and the drug loading in the niosomal nanocarriers was quantified. The wound dressing films were prepared in three states: without nanocarrier and drug, containing free drug, and with niosomal nanocarrier as well. Characterization was conducted using a scanning electron microscope, and the size of nanoparticles was determined. Various tests, including the amount of drug released from the niosomal carrier, water absorption and biodegradability levels, release of the drug from the film in in-vitro, and cytotoxicity, were performed.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The morphological analysis of niosomes revealed that the size range of nanoparticles falls between 173-231 nm, and the drug encapsulation within the niosomal nanocarriers system was 72%. The results from the drug-release test revealed that after 20 days, only 50% of the loaded drug had been released, exhibiting a continuous behavior with a constant concentration



profile. Moreover, the water absorption capacity of the xanthan film was found to be 24 times its initial weight, with a degradation rate of 47% observed until the 20th day, indicating its effectiveness in managing wound exudate. The drug delivery release analysis indicated that the presence of xanthan led to a slower release of the drug. Additionally, the double encapsulation of the drug in both the niosome and the xanthan hydrogel

resulted in a significant decrease in the drug release rate and an extension of the release interval. The cell viability test using MTT revealed a concentration-dependent effect of spirulina on cell viability. The survival rate exceeded 80% with the concentration of up to 200 µg/ml. Beyond this concentration, a decrease in cell viability was observed, which is likely attributed to the disturbance of the cell culture medium (Figure 1).

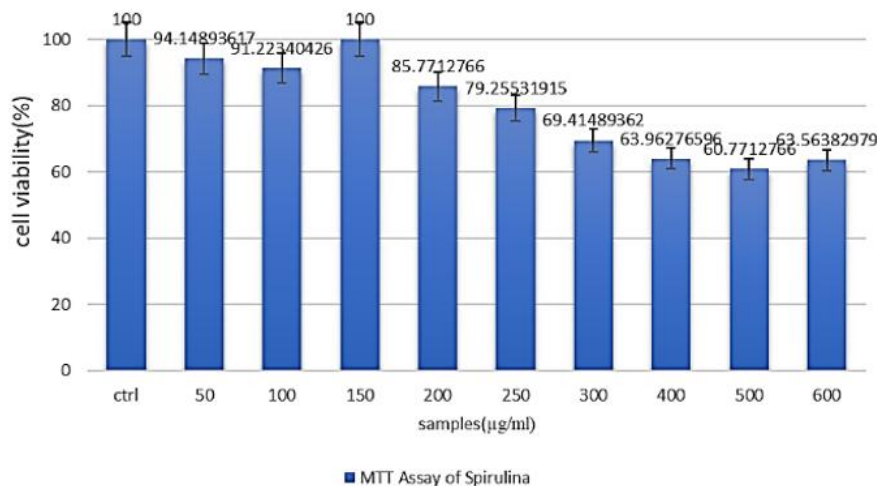


Figure1. Cell viability percentage of different drug concentrations after 24 hours

4. CONCLUSION

In this study, a xanthan film incorporating niosomal nanocarriers loaded with spirulina was synthesized with the aim of promoting wound healing through controlled release. In vivo tests were conducted to assess its characteristics. The test results confirmed that the samples exhibited promising elasticity and flexibility. Notably, the swelling rate of the xanthan film surpassed those of both the xanthan film with the drug and the niosomal system. In contrast, the degradability percentage was lower than that of the other two samples. Importantly, no burst release was observed from the niosome system. Furthermore, up to the concentration of 200 µg/ml, the spirulina extract showed no toxic effects. These findings indicate the potential of the synthesized xanthan film with niosomal nanocarriers loaded with spirulina for wound healing applications, showcasing its controlled release properties and biocompatibility in in-vivo conditions.

5. ACKNOWLEDGEMENT

The authors extend their sincere appreciation to the laboratory authorities of Amirkabir University of Technology for generously providing access to the laboratory facilities and equipment, crucial for the successful execution of this research.

REFERENCES

- Behyari, M., Imani, R., & Keshvari, H. (2021). Evaluation of Silk Fibroin Nanofibrous Dressing Incorporating Niosomal Propolis, for Potential Use in Wound Healing. *Fibers and Polymers*, 22(8), 2090–2101. <https://doi.org/10.1007/S12221-021-0973-2/METRICS>
- Choi, J. Il, Kim, M. S., Chun, G. Y., & Shin, H. S. (2017). Spirulina extract-impregnated alginate-PCL nanofiber wound dressing for skin regeneration. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 22(6), 679–685. <https://doi.org/10.1007/S12257-017-0329-3/METRICS>
- Pando, D., Matos, M., Gutiérrez, G., & Pazos, C. (2015). Formulation of resveratrol entrapped niosomes for topical use. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 128, 398–404. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2015.02.037>



مقاله کامل پژوهشی

ساخت و مشخصه یابی فیلم زانتان حاوی عصاره اسپیرولینا با قابلیت رهایش پیوسته به منظور کاربرد در ترمیم زخم

افروز قاسم زاده^۱، رعنا ایمانی^{۲*}، طهورا ابراهیمی^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر (پلی تکنیک تهران)، تهران، ایران.

^۲ استادیار، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر (پلی تکنیک تهران)، تهران، ایران.

^۳ دانشجوی دکتری، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر (پلی تکنیک تهران)، تهران، ایران.

تاریخچه مقاله:

ثبت اولیه: ۱۴۰۲/۰۱/۲۰

بازنگری: ۱۴۰۲/۰۴/۲۴

پذیرش قطعی: ۱۴۰۲/۱۰/۲۵

کلیدواژه ها:

زخم پوش،

صمغ زانتان،

عصاره اسپیرولینا،

رهایش کنترل شده،

نیوزوم

چکیده پوست مانعی برای ورود آلودگی ها به بدن است. بنابراین، در صورت ایجاد زخم، لازم است به ترمیم سریع آن پرداخته شود. امروزه، متداول ترین روش برای درمان زخم استفاده از زخم پوش های مهندسی شده است. این زخم پوش ها باید، با ارائه هدفمند و پیوسته ترکیبات مؤثر، باعث تسریع فرایند بهبود شوند. در پژوهش پیش رو، زخم پوش فیلمی بر مبنای پلیمر زیستی زانتان حاوی نانوحامل نیوزومی برای رهایش موضعی عصاره جلبک اسپیرولینا تهیه شد. نانوحامل های نیوزومی حاوی عصاره اسپیرولینا با روش هیدراسیون فیلم نازک تهیه شدند. سپس، زخم پوش فیلمی، با ترکیب کردن یکنواخت زانتان، ماده نرم کننده گلیسرین و نیوزوم های حاوی اسپیرولینا به دست آمد. برای بررسی ویژگی زخم پوش تهیه شده، آزمون های ارزیابی متفاوتی انجام شد. با توجه به بررسی های میکروسکوپ الکترونی روبشی، ریخت شناسی نیوزوم های کروی با میانگین اندازه حدود ۲۰۰ نانومتر بود و درصد بارگذاری دارو درون نیوزوم ها ۷۲ درصد به دست آمد. همچنین، ۲۵ درصد دارو از ساختار فیلم حاوی نیوزوم طی ۲۰ روز رهایش می یابد. به علاوه، زخم پوش حاوی نیوزوم طی ۲۰ روز کاهش وزن ۳۵ درصد را نشان می دهد. با انجام آزمون سمیت سلولی طی ۲۴ ساعت مشخص شد که تا غلظت ۲۰۰ میکروگرم/میلی لیتر از عصاره اسپیرولینا زنده ماندنی سلول ها در مقایسه با نمونه کنترل بالای ۸۰ درصد است. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان می دهد که حامل نیوزومی در ساختار فیلم زانتان می تواند به عنوان سامانه دارورسان موضعی مناسب برای درمان زخم استفاده شود.



<https://doi.org/10.30501/jamt.2023.364845.1272>

URL: https://www.jamt.ir/article_186031.html

۱- مقدمه

۲/۵ میلیارد دلار تخمین زده می شود (Frykberg & Banks, 2015). همچنین، حدوداً ۴۰۰۰۰ نفر قربانی سوختگی هر ساله بستری می شوند و ۱۰ درصد از آسیب دیده ها جان خود را از دست می دهند (Richmond et al., 2013). یکی از روش های درمان زخم استفاده از زخم پوش ها است که از روش های نوین در درمان زخم محسوب می شود (Mitragotri, 2005). زخم پوش ها محیطی را به منظور تبادل گازی فراهم می کنند که به جذب ترشحات زخم، ایجاد محیط استریل و عدم رشد میکروب

پوست سدی حفاظت کننده از اندام های داخلی بدن در مقابل خطرات احتمالی زیست محیطی است (Saghazadeh et al., 2018). پوست در برابر وقایع فیزیولوژیکی مانند جراحی یا بریدگی تاحدودی قابلیت بازسازی و خودترمیمی دارد. اما در جراحات های عمیق و وسیع یا در زخم های مزمن مانند زخم های دیابتی که ناشی از مختل شدن ترمیم طبیعی است، ویژگی بازسازی تضعیف می شود و زخم به درستی و در زمان مشخص درمان نمی شود. هزینه درمان این گونه زخم ها سالانه بیش از

عهده دار مکاتبات: رعنا ایمانی

نشانی: ایران، تهران، خیابان حافظ، روبری خیابان سمیه، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی پزشکی، تلفن: ۰۲۱-۶۴۵۴۵۶۷۶

پیام نگار: r.imani@aut.ac.ir

مختلف ویتامین به‌ویژه ب ۱۲ و پروویتامین آ (بتا کاروتن) است (Choi et al., 2017). اسپیرولینا حاوی مواد زیست‌فعال درگیر در بازسازی پوست است. در دهه‌های اخیر، تعداد بسیاری از مطالعات درون‌تنی و برون‌تنی منتشر شده است که تأثیر سودمند اسپیرولینا در سلامت انسان را نشان می‌دهد. براساس این مطالعات، مشخص شده است که مزایای بهداشتی اسپیرولینا عمدتاً به دلیل اثر آنتی‌اکسیدانی آن است (Patias et al., 2018).

صمغ زانتان پلی‌ساکاریدی طبیعی و بیوپلیمر صنعتی مهم است (Nishinari et al., 2000). عمده توجه به زانتان به دلیل خواصی مانند عدم سمیت، زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب پذیری این ماده است. زانتان در تولید محصولات آرایشی استفاده می‌شود و، به دلیل داشتن ویژگی‌های منحصربه‌فرد ذکر شده در بالا، در حوزه زیست‌پزشکی و مهندسی بافت مورد توجه قرار گرفته است. پلیمر زانتان در این صنایع به‌عنوان غلظت‌دهنده، جاذب آب، عامل ژل‌کننده و تثبیت‌کننده امولسیون یا سوسپانسیون استفاده می‌شود (Brunchi et al., 2016; García-Ochoa et al., 2000).

نانوحامل‌های نیوزومی از واکنش سورفکتانت‌های تک زنجیره‌ای غیریونی با کلسترول یا سایر ترکیبات به‌عنوان تثبیت کننده در محیط آبی به دست می‌آیند. نیوزوم‌ها زمان گردش داروی وارد شده را افزایش می‌دهند و وظیفه پایداری متابولیسم را بر عهده دارند و، به علت مقاومت در برابر اکسیداسیون، هزینه پایین، زیست‌سازگاری، زیست‌تخریبی و رهایش کنترل شده و هدفمند جزء نانوذرات پرکارآمد هستند (Desmet et al., 2017; Pando et al., 2015). نانو حامل‌های نیوزومی ساختاری دولایه همراه با یک سر آب‌دوست و یک سر آب‌گریز هستند که سر آب‌دوست در جهت مخالف با محلول‌های آبی و بخش آب‌گریز در جهت مخالف با محلول‌های آلی قرار می‌گیرد و همین ساختار سبب به دام انداختن دارو می‌شود. با توجه به اندازه نانومتری نیوزوم‌ها، مقدار داروی بارگذاری شده در ذرات مقدار بسیار بالایی نیست که این امر از جمله معایب نانو حامل‌های نیوزوم به شمار می‌آید (Ge et al., 2019).

ترکیب اسپیرولینا و پلیمرهای دیگر در مطالعات گوناگون بررسی شده است. در ادامه، به تعدادی از مطالعات در این حوزه اشاره می‌شود. برونچی و همکاران (2016) نانوالیاف پلی کاپرولاکتون و اسپیرولینا را به‌منظور ترمیم لایه فیبروبلاست

ها منجر می‌شود. در صورت عفونت، زخم‌پوش‌های بدون دارو ممکن است مفید نباشند؛ زیرا موجودات زنده عفونت‌زا زیر زخم پوش‌ها قرار می‌گیرند و باعث تشدید عفونت می‌شوند. در این صورت، طول مدت زمان درمان زخم افزایش می‌یابد و بهبودی با تأخیر حاصل می‌شود (Sehgal et al., 2019). زخم‌پوش‌های سنتی شامل گاز، گچ، باند (طبیعی یا مصنوعی) و پشم پنبه هستند و برای پوشاندن زخم به‌منظور جلوگیری از آلودگی استفاده می‌شوند. این نوع از زخم‌پوش‌ها به تعویض مکرر برای حفاظت از بافت سالم نیاز دارند. معمولاً پانسمان‌های سنتی برای زخم‌های تمیز و خشک با سطوح تراویدگی خفیف یا به‌عنوان مواد افزودنی دوم استفاده می‌شوند. از آنجایی که پانسمان‌های سنتی قادر به ایجاد محیط مرطوب برای زخم نیستند، زخم‌پوش‌های جدید همراه با ترکیبات پیشرفته به تدریج جای آن‌ها را می‌گیرند (Zannis et al., 2009). زخم‌پوش‌های جدید شامل پوشش‌های هیدروژلی، کلوئیدی، فیلم‌های پوششی نیمه‌تراوا و پوشش‌های فومی نیمه‌تراوا هستند که این نوع زخم‌پوش‌ها، ویژگی‌های زخم پوش ایدئال شامل حفظ رطوبت محیط، اجازه تبادل گاز بین زخم و محیط بیرونی، عدم چسبندگی به زخم و افزایش مهاجرت اپیدرمی دارند (Dhivya et al., 2015; White, 2005).

فیلم‌های پوششی از پلیمرهای شفاف‌ی تهیه می‌شوند که امکان انتقال بخار آب، اکسیژن و کربن دی‌اکسید را از زخم فراهم می‌کنند. این پوشش‌ها بسیار الاستیک و انعطاف‌پذیر هستند و، به دلیل شفاف بودن فیلم، بررسی زخم بدون حذف زخم‌پوش امکان‌پذیر است. از این رو، استفاده از این پوشش‌ها برای اپیتلیالیزاسیون زخم سطحی و کم‌عمق با تراویدگی کم توصیه می‌شود (White, 2005).

در کنار استفاده از پوشش زخم، استفاده از ترکیبات مؤثر در ترمیم زخم و استعمال آن در محل سبب تسریع فرایند ترمیم زخم می‌شود. از منابع طبیعی ترکیبات مؤثر در ترمیم زخم می‌توان به عصاره اسپیرولینا، جلبک آبی - سبز، که در آب‌های گرم و قلیایی و آب شیرین رشد می‌کنند، اشاره کرد. این جلبک در سراسر جهان کشت می‌شود و به شکل قرص و پودر موجود است. اسپیرولینا طیف وسیعی از مزایای بهداشتی را فراهم می‌کند (Shinde et al., 2018). اسپیرولینا پروکاریوتی خوراکی و مغذی است که حاوی ۶۰-۷۰ درصد پروتئین، ۶-۱۲ درصد پلی ساکارید، اسیدهای چرب، مواد معدنی (به‌ویژه آهن) و گونه‌های

مطالعات گوناگون، از سامانه‌های دارویی متفاوت برای کنترل رهایش دارو استفاده شده است که نانوحامل‌های نیوزومی از جمله این سامانه‌ها هستند. کارایی این نانوحامل‌ها در امر دارورسانی در تحقیقات گوناگون بررسی شده است (Malektaj et al., 2021; Nour et al., 2022).

هدف از این پژوهش ساخت و مشخصه‌یابی فیلم زانتان حاوی عصاره اسپیرولینای بارگذاری شده در سامانه حامل دارو نیوزومی با قابلیت رهایش پیوسته به‌منظور کاربرد در ترمیم زخم است، به‌طوری که ترکیبات زیست‌فعال جلبک طبیعی بارگذاری شده درون سامانه دارویی نیوزوم تعبیه شده درون فیلم زانتان در بازه زمانی مطلوب در محل زخم رهایش یابد و سبب بهبود ترمیم زخم شود. با توجه به مطالعات انجام شده، تاکنون مطالعه ای مبتنی بر فیلم ترکیبی زانتان/ اسپرولینا به‌منظور استفاده در ترمیم زخم ارائه نشده است.

۲- مواد و روش تحقیق

۲-۱- مواد

پودر زانتان از شرکت کیمیاپخش (تبریز، ایران) و پودر اسپیرولینا نیز از شرکت اسپیرولایف (تهران، ایران) خریداری شد. سوربیتان مونواستات (اسپن ۶۰) و کلسترول از شرکت سیگما کشور آلمان، اتانول از شرکت مرک آلمان، بافر PBS و گلیسرین از شرکت تمادکالا (تهران، ایران) خریداری شدند. سلول‌های فیروبلست از بانک سلولی پاستور (تهران، ایران)، محیط کشت، محلول‌های تریپسین، نمک ترازولیوم بروماید و دی‌متیل سولفواکسید از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

۲-۲- عصاره‌گیری از اسپیرولینا

به‌علت ناخالص بودن پودر اسپیرولینا، در تمامی مراحل ساخت این زخم‌پوش لازم است از عصاره اسپیرولینا استفاده شود. برای تهیه عصاره اسپیرولینا ابتدا محلولی آبی با غلظت ۲۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر از پودر اسپیرولینا تهیه شد و به‌مدت ۲۴ ساعت روی همزن مغناطیسی (Alpha digital D500، ایران) قرار داده شد تا محلولی یکنواخت به دست آید. برای اطمینان از یکنواختی محلول، محلول به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد. سپس، محلول موردنظر به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ چرخش در دقیقه سانتریفیوژ (I Fuge M12P

پوستی بررسی کردند. نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتون حاوی اسپیرولینا، در مقایسه با نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتون بدون اسپیرولینا، عدم سمیت سلولی را نشان داد و حضور اسپیرولینا سبب افزایش میزان چسبندگی سلول‌های فیروبلست و عمق نفوذ سلول‌ها به داربست شد (Brunchi et al., 2016). گونس و همکاران (2017) عصاره اسپیرولینا را در کرم پوستی تعبیه کردند و در این مطالعات نشان دادند، در محیط برون‌تنی، عصاره اسپیرولینا با غلظت ۰/۱ و ۰/۰۵ درصد تأثیر معناداری در تکثیر سلول‌های فیروبلست رده L929 دارد. همچنین، فعالیت بهبود زخم روی سلول‌های رده L929 را نیز با استفاده از آزمون مهاجرت سلولی بررسی کردند و، براساس این یافته‌ها، اسپیرولینا را جزء امیدوارکننده در بهبود زخم معرفی کردند (Gunes et al., 2017). شالویری و همکاران (2010) هیدروژل زانتان - نشاسته اصلاح شده برای رهایش کنترل شده دارو را بررسی کردند. به‌منظور انجام این پژوهش، هیدروژل زانتان و ژلاتین با حضور سدیم تری‌متافسفات شبکه‌ای شدند و با موفقیت سنتز شدند. تورم این هیدروژل با افزایش مقدار سدیم تری‌متافسفات بیشتر شد و اندازه مش مشبک ژل و نفوذپذیری دارو همراه با تورم ژل افزایش یافت. سایز مش‌ها برای حمل تعداد زیادی از داروها مانند ملکول‌های کوچک، پلی‌پپتیدها و پروتئین‌ها مناسب بودند. این هیدروژل نفوذپذیری انتخابی را بسته به بار دارو نشان می‌دهد و هیدروژل زانتان - نشاسته اصلاح شده نتایج امیدبخشی برای رهایش دارو و کاربرد آن نشان می‌دهد (Shalviri et al., 2010). بهیاری و همکاران (2021) پوشش نانوالیاف فیروئین ابریشم حاوی سامانه نیوزومی پروپولیس را به‌منظور توانایی در بهبود زخم ارزیابی کردند. در این مطالعه، به‌منظور جلوگیری از رهایش انفجاری دارو، دارو درون سامانه نیوزومی کپسوله شد و سپس سامانه درون الیاف فیروئین ابریشم تعبیه شد. سامانه نیوزومی زاویه تماسی نمونه‌ها را افزایش داد و در نتیجه بستر مناسب‌تری برای اتصال و رشد سلولی فیروبلست رده L929 فراهم شد. همچنین، استحکام و مدول کششی نانوالیاف ابریشم به‌دلیل حضور سامانه نیوزومی بهینه شدند و این پوشش نتایج امیدوارکننده برای درمان زخم نشان داد (Behyari et al., 2021).

به‌منظور بهبود رهایش اسپیرولینا از صمغ زانتان نیز می‌توان از سامانه‌های کنترل رهایش مناسب بهره‌مند شد. در

و به مدت ۱۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرارداد شد تا محلول یکنواخت حاصل شود و اتانول باقی‌مانده نیز خارج شود. در نهایت، سوسپانسیون موردنظر به مدت ۴۰ دقیقه در دستگاه حمام اولتراسونیک (Digital-4820-CD ultrasonic cleaner، چین) سونیکیت شد و سامانه نیوزومی حاوی اسپیرولینا تشکیل شد (Ajji et al., 2005).

۲-۵- تعیین میزان بارگذاری دارو

همان‌طور که مشخص است، تمام داروی استفاده‌شده برای تشکیل نیوزوم درون سامانه محصور نمی‌شود و همواره مقداری دارو به‌صورت آزاد در سوسپانسیون نهایی باقی می‌ماند. از این رو، برای محاسبه میزان داروی بارگذاری‌شده، ابتدا مقداری از سوسپانسیون نیوزوم به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ چرخش در دقیقه سانتریفیوژ شد. نیوزوم تشکیل‌شده حاوی داروی کف فاکون به‌صورت جامد ته‌نشین می‌شود و مقدار داروی آزاد نیز در سوپرناتانت باقی می‌ماند. سپس، با خارج کردن سوپرناتانت و خوانش آن توسط دستگاه طیف‌سنج فرابنفش (Camspec m350، انگلیس)، مقدار جذب در طول موج بیشینه به دست می‌آید. سپس، با کمک نمودار استاندارد جذب - غلظت، مقدار داروی آزاد محاسبه می‌شود. در نهایت، با استفاده از مقدار کل داروی به‌کارگرفته‌شده و رابطه (۱)، بازده بارگذاری دارو درون نیوزوم (%E) محاسبه می‌شود (Abaee & Madadlou, 2016).

$$\%E = \frac{D_e}{D_t} \times 100 \quad (\text{معادله ۱})$$

درحالی‌که D_e و D_t به‌ترتیب مقدار داروی بارگذاری‌شده و مقدار کل دارو را نشان می‌دهند.

۲-۶- تهیه فیلم‌های زخم‌پوش

به‌منظور تهیه زخم‌پوش فیلمی، ابتدا محلول پودر زانتان و آب مقطر با ۴ درصد وزنی تهیه و به مدت یک شبانه‌روز در دمای ۴۰ درجه سلسیوس استیر شد. سپس، گلیسرین به‌عنوان نرم‌کننده و یکنواخت‌کننده محلول، با غلظت ۲۰ درصد وزنی صمغ زانتان، به محلول اضافه شد. در مرحله بعد، به‌منظور از بین

Neuation، فرانسه) شد. بعد از اتمام سانتریفیوژ، سوپرناتانت جمع‌آوری و در فریزر نگهداری شد. در نهایت، محلول منجمد به مدت ۴۸ ساعت در دستگاه خشک‌کن انجمادی (Christ، آلمان) قرار داده شد تا عصاره پودری موردنیاز در این پژوهش به دست آید (Choi et al., 2017; Jung et al., 2016).

۲-۳- نمودار استاندارد جذب - غلظت اسپیرولینا

براساس قانون بیر - لامبرت، با توجه به رابطه بین غلظت محلول و میزان جذب طیف نور توسط آن در طول موج مشخص، می‌توان غلظت مجهول محلول‌ها را به دست آورد (Swinehart, 1962). برای تهیه غلظت‌های گوناگون از دارو به صورت تجربی و با استناد بر مطالعات پیشین، ابتدا محلول آبی اسپیرولینا با غلظت ۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر تهیه شد و سپس ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌لیتر از محلول برداشته و هرکدام به‌صورت مجزا به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد و محلول‌هایی به‌ترتیب با غلظت های ۸۰۰، ۶۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر به دست آمد. سپس، جذب کلی هرکدام از محلول‌ها در طول موج ۹۰۰-۱۹۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج فرابنفش خوانده شد و میزان جذب در طول موجی که جذب بیشینه دارو در آن دیده شد معیار اندازه‌گیری برای رسم نمودار استاندارد جذب - غلظت قرار گرفت.

۲-۴- سنتز نیوزوم به روش هیدراسیون فیلم نازک

در این روش، ابتدا ۶۰۰ میلی‌گرم عصاره اسپیرولینا در ۳۰ میلی‌لیتر PBS حل شد و به مدت ۲۴ ساعت روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. سپس، ۶۰ میلی‌گرم اسپن ۶۰ به‌همراه ۴۰ میلی‌گرم کلسترو (نسبت ۳ به ۲) به ۲۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه شد و روی همزن مغناطیسی به مدت ۴ ساعت قرار داده شد تا محلول یکنواختی به دست آید. سپس، محلول کلسترو و اسپن ۶۰ به بالنی ته‌گرد منتقل شد و به کمک دستگاه روتاری اوپراتور (Heidolph Laborota 4000، ایران)، در دور ۱۵۰ چرخش در دقیقه و در دمای ۴۰ درجه سلسیوس، حلال (اتانول) خارج شد و یک لایه فیلم نازک شامل کلسترو و اسپن ۶۰ کف بالن تشکیل شد. در این زمان، محلول بافری PBS و اسپیرولینا به بالن اضافه شدند و سپس به ظرفی بدون درپوش منتقل شدند

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مشاهده شدند.

۸-۲- محاسبه اندازه نانوذرات با نرم‌افزار ImageJ

اندازه نانوذرات با نرم‌افزار ImageJ اندازه‌گیری شد، به صورتی که تصاویر SEM گرفته‌شده در بخش قبل در این نرم افزار باز شدند. با استفاده از ابزار خطکش نرم‌افزار، خط مستقیمی با دقت در امتداد نوار مقیاس عکس کشیده شد و این مقدار فاصله مشخص در نظر گرفته شد و به‌عنوان استاندارد اندازه‌گیری قرار داده شد. از نوار ابزار گزینه تنظیم اندازه انتخاب شد و فاصله مشخص و واحد اندازه‌گیری وارد شد و بر روی عکس اعمال شد. سپس، قسمت موردنظر عکس برای آنالیز از سایر عکس جدا شد و آستانه تنظیم شد. آستانه باید به‌صورتی تنظیم شود که فقط قسمت موردنظر قابل تشخیص باشد و، پس از تعیین مقدار، برای کل عکس اعمال می‌شود. سپس، با استفاده از گزینه اندازه‌گیری، قطر نانوذرات اندازه‌گیری شد و میانگین قطر آن‌ها محاسبه شد.

۹-۲- بررسی میزان داروی رهایش‌یافته از حامل نیوزومی

برای بررسی میزان رهایش دارو از سامانه نیوزومی، ابتدا حجم مناسبی از سوسپانسیون اسپیرولینا - نیوزوم، مانند بخشی قبلی، با دور ۱۵۰۰ چرخش در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سوپرناتانت خارج شد. سپس، محلول نمکی PBS به سامانه افزوده شد تا به همان مقدار حجم اولیه سوسپانسیون برسد. درنهایت، سامانه دارویی درون محیط رهایش (PBS) بر روی هیت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت و در بازه‌های زمانی مشخص محیط رهایش با روش سانتریفیوژ کردن با دور ۱۵۰۰ چرخش در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه برداشته شد و با محیط رهایش جدید جایگزین شد. بعد از خوانش جذب محیط‌های رهایش با دستگاه طیف مرئی - فرابنفش، به‌کمک نمودار استاندارد جذب - غلظت، میزان داروی رهایش‌یافته مشخص شد (Sharma et al., 2015).

۱۰-۲- بررسی میزان جذب آب

به‌منظور مشخصه‌یابی میزان متورم شدن نمونه‌ها، آزمون جذب آب به مدت ۲۰ روز بررسی شد، به‌طوری که ابتدا وزن

رفتن حباب‌های موجود، محلول به مدت ۳۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. درنهایت، برای تهیه فیلم زانتان، محلول بعد از منجمد شدن، به مدت ۲۴ ساعت تحت فرایند خشک‌کایش انجمادی قرار گرفت (Bilanovic et al., 2016). با توجه به این‌که انتظار می‌رود زخم‌پوش پایداری مناسب را داشته باشد، حضور عامل شبکه‌کننده الزامی نیست.

به‌منظور بررسی کارایی سامانه حامل دارو، اسپیرولینا به دو شکل آزاد و اسپیرولینای بارگذاری‌شده درون نانونیوزوم به زخم‌پوش فیلمی افزوده شد. در حالت داروی آزاد، وقتی محلول زانتان به روش بالا تهیه شد، به آن محلول یکنواخت اسپیرولینا با غلظت ۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر و سپس گلیسرین افزوده می‌شود. بعد از یکنواخت شدن ترکیب با همزن مغناطیسی، فیلم زخم‌پوشش تحت فرایند خشک‌کایش انجمادی تشکیل می‌شود. برای افزودن سامانه نیوزوم - اسپیرولینا به ساختار زخم‌پوش نیز، بعد از محاسبه بازده بارگذاری دارو درون نیوزوم، مقدار مناسبی از این سامانه دارویی برابر با ۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر به محلول زانتان تهیه‌شده به روش گفته‌شده افزوده می‌شود و درنهایت با گلیسرین ترکیب می‌شود و زخم‌پوش فیلمی به همان روش گفته‌شده به دست می‌آید.

۷-۲- ارزیابی ریخت‌شناسی با میکروسکوپ الکترونی

رویشی

برای مشاهده ساختار نیوزوم‌ها، ابتدا سوسپانسیون نیوزوم به‌خوبی رقیق شد، به‌طوری که ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون نیوزوم با دور ۱۵۰۰ چرخش در دقیقه سانتریفیوژ شد و، بعد از خارج کردن سوپرناتانت، ۱۰ میلی‌لیتر محلول بافر نمکی PBS به آن اضافه شد. مجدداً ۱ میلی‌لیتر از محلول جدید برداشته و به آن ۸ میلی‌لیتر محلول PBS اضافه شد. سپس، این محلول رقیق مدتی طولانی در حمام اولتراسونیک قرار گرفت تا نیوزوم‌ها به‌خوبی جدا شوند. در مرحله آخر، بعد از منجمد کردن، محلول به‌دست‌آمده در دستگاه خشک‌کن انجمادی به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و ابعاد و شکل نانونیوزوم‌های خشک‌شده با دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (ALS-2100Serron Technology، سنگاپور) مشاهده شد. برای ارزیابی ساختار زخم‌پوش نیز، ابتدا نمونه‌های زخم‌پوش با طلا پوشش داده شدند و سپس ریخت‌شناسی سطح و ریزساختارهای نمونه‌ها با

۱۲-۲- رهایش دارو از فیلم در محیط برون‌تنی

برای بررسی میزان دارو رهایش‌یافته از فیلم حاوی داروی آزاد و فیلم حاوی نیوزوم - اسپیرولینا بعد از خشک شدن فیلم هیدروژلی و جداکردن آن به قطعات با اندازه مشخص، با توجه به وزن نمونه و انجام محاسبات ساده، می‌توان مقدار داروی آزاد یا مقدار داروی موجود در نیوزوم‌ها در هر فیلم را به‌عنوان مقدار کل دارو در هر قطعه به دست آورد. سپس، این قطعه‌های مشخص از زخم‌پوش در مقدار مشخص PBS قرار می‌گیرند و در بازه‌های زمانی مشخص با سانتریفیوژ کردن در دور ۱۵۰۰ چرخش در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه محیط رهایش برداشته می‌شود و با PBS تازه جایگزین می‌شود. درنهایت، به روش توضیح داده‌شده در بخش ۲-۸، میزان داروی رهایش‌یافته از فیلم به دست می‌آید.

۱۳-۲- بررسی سمیت سلولی توسط آزمون MTT

آزمون MTT تعداد سلول‌های زنده در محیط کشت، به عبارت دیگر، میزان سمیت یا عدم‌سمیت زخم‌پوش‌های مدنظر را مشخص می‌کند. در این خصوص، بعد از وزن کردن، پودر اسپیرولینا به مدت یک ساعت برای استریل شدن زیر نور فرابنفش قرار گرفت. سپس، محلولی از اسپیرولینا با غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر در شرایط استریل تهیه شد. بعد از کشت و شمارش سلول‌های فیبروبلاست L929، این سلول‌ها در پلیتی ۹۶‌خانه‌ای با چگالی ۱۰^۶ سلول/ میلی‌لیتر به همراه محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس، محلول اسپیرولینای رقیق‌شده با محیط کشت، با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر، با حجم مساوی ۱۰۰ میکرولیتر به سلول‌ها افزوده شدند. قابل توجه است که از محیط کشت معمولی به‌عنوان نمونه کنترل منفی در این بررسی استفاده شد. برای محاسبه پایداری سلول‌ها، محلول MTT با غلظت ۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر به هر خانه اضافه شد. بعد از ۳ ساعت انکوبه شدن در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، محلول نمکی MTT با ۱۰۰ میکرولیتر دی‌متیل سولفواکسید تعویض و مقدار جذب برای هر خانه با میکروپلیت ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. درنهایت، درصد زنده‌مانی سلول‌ها (V%) براساس رابطه ۴ محاسبه شد (Nur et al., 2015).

تکه‌های کوچکی از زخم‌پوش به ابعاد ۱×۱ سانتی‌متر مربع با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد و نمونه‌ها درون ۱۵ میلی‌لیتر محلول PBS قرار داده شدند و، به‌منظور جلوگیری از ورود ذرات محیطی، سطح آن‌ها پوشانده شد. پس از گذشت یک ساعت، نمونه‌ها از محیط خارج شدند و هر دو سطح آن‌ها روی کاغذ صافی قرار داده شد تا مقدار محلول اضافی خارج شود. سپس، وزن دقیق نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و تغییرات وزن در مقایسه با حالت قبلی ثبت شد و مجدداً در محیط PBS تا ساعت بعدی قرار داده شد. این روند تا زمانی ادامه پیدا کرد که وزن نمونه‌ها به مقداری ثابت رسید و، پس از قرارگیری در محیط دیگر، تغییر وزنی پیدا نکرد. درنهایت، میزان جذب آب (SW) با استفاده از رابطه ۲ به دست آمد (Shemesh & Zilberman, 2014).

$$S_w = W_1 / W_0 \quad (\text{معادله ۲})$$

که در این رابطه W_1 وزن نمونه‌ها پس از متورم شدن و W_0 وزن نمونه خشک است.

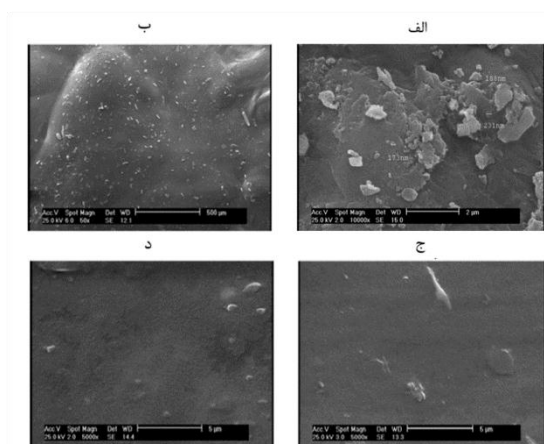
۱۱-۲- بررسی زیست‌تخریب‌پذیری

برای انجام آزمون تخریب در محیط برون‌تن، ابتدا تعدادی نمونه کوچک به ابعاد ۱×۱ سانتی‌متر مربع از هر ۳ فیلم زانتان بدون دارو، زانتان حاوی داروی آزاد و زانتان حاوی نیوزوم - اسپیرولینا جدا شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تمامی نمونه‌ها با دقت ۰/۰۰۰۱، نمونه‌ها در محیط PBS وارد شدند، به صورتی که تمام سطح نمونه‌ها پوشیده شد. سپس، نمونه‌ها در بازه‌های زمانی مشخص از محیط خارج شدند و، در هر نوبت، تحت فرایند خشک‌کایش انجمادی نمونه‌ها کاملاً خشک شدند. پس از آن، نمونه‌ها مجدداً وزن شدند تا میزان کاهش وزن نمونه‌ها بر اثر تخریب و حل شدن در محیط برون‌تن ($W_i(\%)$)، براساس افت وزنشان، توسط رابطه ۳ محاسبه شود (Vimala et al., 2011).

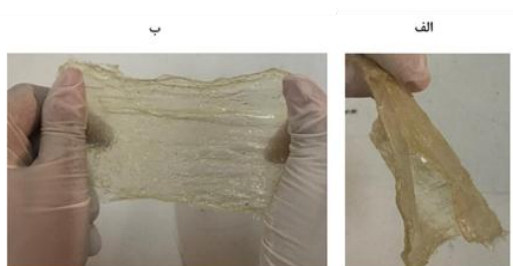
$$W_i \% = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100 \quad (\text{معادله ۳})$$

که در این رابطه W_i وزن نمونه‌های اولیه و W_f وزن نمونه‌ها پس از تخریب است.

پیشین، ریخت‌شناسی فیلم‌ها شامل پستی‌وبلندی‌هایی است که در این مطالعه این ناهمواری‌ها کاهش یافته است (Barbosa De Almeida et al., 2010; de Moraes Lima et al., 2017). فیلم زانتان سنتز شده در این پژوهش در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، فیلم زانتان شفاف است و استحکام کششی و انعطاف‌پذیری بالایی دارد. شفاف بودن زخم‌پوش به دلیل فراهم آوردن امکان دیده شدن زخم توسط درمانگر و مشاهده روند تغییرات و بهبود بدون تعویض زخم پوش حائز اهمیت است.



شکل ۱. تصاویر میکروسکوپی توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (الف) نیوزوم‌های سنتز شده و فیلم‌ها، (ب) زانتان، (ج) زانتان همراه با داروی اسپیرولینا به صورت آزاد و (د) زانتان همراه با سامانه نیوزومی



شکل ۲ الف و ب) نمونه‌های سنتز شده فیلم زانتان

۳-۲- میزان داروی محصور شده درون نیوزوم

بعد از رسوب‌دهی نیوزوم‌ها توسط ساترifiوژ و جدا کردن سوپرناتانت، مقدار جذب سوپرناتانت در طول موج ۶۷۰ نانومتر خوانده شد و از رابطه ۱ میزان داروی آزاد محاسبه شد و

$$\%V = \frac{A_c}{A_t} \times 100 \quad (\text{معادله ۴})$$

که A_c و A_t به ترتیب میزان جذب نمونه کنترل و نمونه مورد بررسی است. برای هریک از غلظت‌ها، آزمایش سه مرتبه تکرار شد و، براساس انحراف معیار و میانگین از درصد زنده ماندن سلول‌ها، نمودار رسم و تحلیل شد.

۳- نتایج و بحث

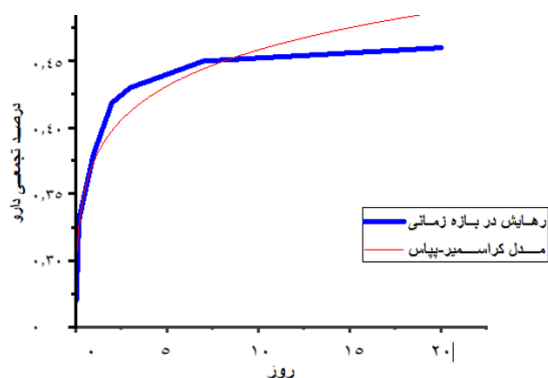
۳-۱- بررسی ریزساختار و ریخت‌شناسی نمونه‌ها

شکل (۱-الف) ریخت‌شناسی نیوزوم‌ها را نشان می‌دهد که محدوده سایز نانوذرات بین ۱۷۳-۲۳۱ نانومتر است. علت چسبیدن نانوذرات به یکدیگر نیز به فرایند خشک‌ایش آن‌ها برمی‌گردد. شکل ۱ ریخت‌شناسی سطح نمونه‌های فیلم زانتان، فیلم زانتان همراه با دارو به صورت آزاد، فیلم زانتان همراه با سامانه نیوزوم - اسپیرولینا را نیز نشان می‌دهد. نمونه فیلم زانتان دارای سطحی نسبتاً صاف همراه با پستی‌وبلندی و ذرات حل نشده زانتان است که در شکل (۱-ب) مشاهده می‌شود. سطح نمونه فیلم زانتان همراه با داروی آزاد نسبتاً صاف و همراه با اندکی پستی‌وبلندی ولی از حالت قبل کمتر است و در شکل (۱-ج) قابل رؤیت است. علت کاهش پستی‌وبلندی‌ها در این نمونه حضور مولکول اسپیرولینا است که در میان مولکول‌های زانتان قرار می‌گیرد و فاصله بین ملکول‌های زانتان را پر می‌کند و، با عملکردی همچون نرم‌کننده، سطح یکنواخت‌تری نشان می‌دهد. سطح نمونه فیلم زانتان همراه با سامانه نیوزوم - اسپیرولینا صاف همراه با مقدار بسیار کمی پستی‌وبلندی است که از دو حالت قبلی بسیار کمتر است (شکل ۱-د). نانوذرات نیوزومی و داروی آب‌دوست اسپیرولینا میان ملکول‌های زانتان قرار می‌گیرد و این حضور ناهمواری‌های هیدروژل زانتان را کاهش می‌دهد. به همین دلیل، فیلم زانتان همراه با سامانه نیوزوم - اسپیرولینا سطح نسبتاً یکنواختی دارد. تصاویر نشان‌دهنده ریخت‌شناسی سطحی نسبتاً هموار برای نمونه‌های تهیه شده از زانتان در مقایسه با مطالعات پیشین است که شامل فیلم کامپوزیتی زانتان همراه با سایر مواد مانند کیتوسان یا پروتئین زاین^۱ بودند. در مطالعات

۱. پروتئین آب‌گریز یافت‌شده در دانه‌های ذرت است که کاربرد گسترده‌ای در تهیه فیلم و پوشش دارد.

(al., 2020).

دلیل این امر این است که ساختار نیوزوم به گونه‌ای است که داروی آب‌دوست اسپیرولینا در قسمت هسته نیوزوم کپسوله و درون آن به دام می‌افتد و به‌مرور، با نفوذ محلول بافری به درون ساختار، رهایش پیدا می‌کند (Ge et al., 2019). این ساختار باعث به تأخیر انداختن و آهسته رهایش پیدا کردن دارو، محافظت از دارو و محدود کردن اثر دارو به سلول‌های هدف می‌شود (Khoee & Yaghoobian, 2017). پس از تعبیه سامانه حامل دارو درون فیلم سترشده زانتان، زخم‌پوش می‌تواند رهایش کنترل‌شده برای درمان زخم را فراهم کند. این در حالی است که رحمان و همکاران (2015) رهایش داروی ترتینوئین درون سامانه نیوزوم را در ۶ ساعت اول برابر با ۴۰ درصد گزارش داده‌اند (Rahman et al., 2015).



شکل ۳: نمودار رهایش دارو اسپیرولینا از درون نانوحامل‌های نیوزومی در طول ۲۰ روز

۳-۴- بررسی میزان جذب آب

نمودار شکل ۴ میزان تورم فیلم زانتان به‌صورت تنها و همراه با داروی آزاد را نشان می‌دهد. میزان تورم نهایی برای فیلم زانتان ۲۴ برابر وزن اولیه است و این میزان تورم طی ۲۴ ساعت به دست می‌آید و پس‌از آن، با افزودن محیط PBS، فیلم دیگر محیط را جذب نمی‌کند. این نسبت از تقسیم وزن ثانویه بر وزن اولیه در بازه زمانی گوناگون به دست آمده است. این میزان نشان می‌دهد که تورم فیلم زانتان زیاد است و برای زخم‌هایی که ترشح اگزودای حجیم دارند بسیار مناسب است. میزان تورم برای فیلم زانتان همراه با داروی آزاد برابر با ۱۴ برابر وزن اولیه فیلم است و میزان تورم فیلم زانتان از فیلم زانتان همراه با اسپیرولینای آزاد بیشتر است. به‌طور کلی، هیدروژل‌ها میزان جذب آب بالایی دارند و برای زخم‌هایی با ترشح اگزودا مناسب هستند. میزان

از مقدار کل دارو کم شد تا میزان داروی بارگذاری‌شده درون نیوزوم‌ها پیدا شود. بعد از آن، بازده محصور شدن دارو درون نیوزوم‌ها محاسبه شد که این مقدار برابر با ۷۲ درصد بود و با میزان داروی محصورشده در دیگر مطالعات همخوانی دارد. برای مثال، رحمان و همکاران (2015) داروی آب‌دوست ترتینوئین را درون سامانه نیوزومی برای درمان آکنه بارگذاری کردند که بازده محصور شدن این دارو درون سامانه برابر با ۷۶ درصد بود (Rahman et al., 2015). گروهی دیگر از پژوهشگران داروی کورکومین را با روش مشابه درون سامانه نیوزومی برای درمان زخم پوستی بارگذاری کردند و بازده محصور شدن برابر با ۶۵ درصد گزارش شده است (Shehata et al., 2021).

۳-۳- میزان داروی رهایش‌یافته از سامانه دارویی

پس از اندازه‌گیری مقدار جذب سوپرناتانت، در هر مرحله، مقدار داروی آزادشده محاسبه شد و نمودار تجمعی مقدار داروی رهایش‌یافته در مدت ۲۰ روز از نیوزوم‌ها رسم شد. شکل ۳ میزان رهایش را در بازه زمانی ۲۰ روزه نشان می‌دهد. با توجه به روند رهایش دارو، دیده می‌شود که پس از گذشت ۲۰ روز فقط ۵۰ درصد از داروی بارگذاری‌شده از سامانه رهایش یافته است و رهایش رفتاری پیوسته با غلظت ثابت را طی می‌کند. پروفایل رهایش این سامانه از مدل کراسمیر - پپاس با ضریب تعیین (R^2) معادل ۰/۹۳۵۴ پیروی می‌کند. رابطه (۵) مدل کراسمیر - پپاس را نشان می‌دهد.

$$M_t/M = kt^n \quad (\text{معادله ۵})$$

که M_t/M نسبت داروی رهانشده از سیستم در زمان t است و n ضریب نفوذ و نشان‌دهنده سازوکار رهایش دارو و k ثابت سرعت. معادله‌ای که این پژوهش از آن پیروی می‌کند برابر است با:

$$M_t/M = 0.372 \times t^{0.09} \quad (\text{معادله ۶})$$

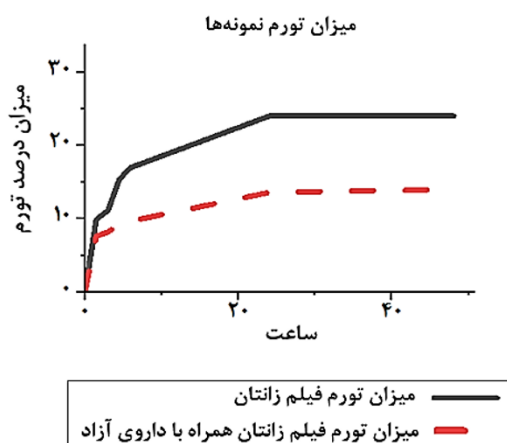
اگر مقدار n عددی بین ۰ و ۰/۵ باشد، سازوکار نفوذ و فرسایش در رهایش دارو مؤثر است و در این پژوهش n برابر با ۰/۰۹ به دست آمده است. در نتیجه، سازوکار رهایش داروی اسپیرولینا از سامانه نیوزومی براساس نفوذ و فرسایش است (Laracuate et al., 2021).

نشان می‌دهد. همان‌طور که در این شکل دیده می‌شود، میزان تخریب فیلم زانتان تا روز بیستم به میزان ۴۷ درصد است. نفوذ محلول PBS در فاصله میان مولکول‌های زانتان سبب جداسازی پیوندها و تخریب فیلم می‌شود. با این حال، پس از گذشت ۲۰ روز، میزان حضور PBS در ساختار به حد اشباع می‌رسد و دیگر تخریب چشمگیری مشاهده نمی‌شود. در واقع عمده کاهش وزن تا روز اول اتفاق می‌افتد و پس از آن تخریب با سرعت کمتری پیش می‌رود. این امر در بحث رهایش دارو از فیلم نیز خود را نشان می‌دهد که، بعد از گذشت ۲۰ روز و با کاهش میزان تخریب، میزان رهایش دارو نیز ثابت می‌شود.

مطابق نمودار، میزان تخریب نمونه‌های زانتان همراه با داروی آزاد تا روز بیستم به میزان ۵۳ درصد است. مانند شکل قبلی، عمده تخریب تا ۲۰ روز اول اتفاق می‌افتد و پس از آن تخریب با سرعت کمتری جلو می‌رود. مقایسه دو نمودار نشان می‌دهد میزان تخریب فیلم، هنگامی که اسپیرولینا وجود دارد، بیشتر از فیلم زانتان به تنهایی است. نمونه حاوی در ۲۴ ساعت اول تورم کمتری را نشان می‌دهد، اما با گذشت زمان و خارج شدن اسپیرولینا از ساختار، جای خالی دارو باعث افزایش خلل و فرج و پر شدن آن‌ها با آب می‌شود و دلیل افزایش تخریب نمونه حاوی دارو وابسته به این عامل است.

نتایج حاصل از میزان تخریب نمونه همراه با سامانه نیوزومی نشان می‌دهد، به دلیل حضور نیوزوم و فاصله محدود ذرات از یکدیگر، میزان نفوذ PBS به درون فیلم کمتر است و میزان تخریب فیلم حاوی نیوزوم از فیلم زانتان و فیلم زانتان همراه با داروی آزاد کمتر است که این نتیجه برای این پژوهش مطلوب است؛ زیرا، همان‌طور که در نتایج قسمت‌های قبلی اشاره شد، میزان رهایش دارو از نیوزوم‌ها، هنگامی که درون فیلم قرار دارد، کند است. اگر در مدتی کوتاه؛ بدون آن‌که دارو رهایش پیدا کند، نمونه تخریب شود، استفاده از نانوحامل نیوزومی بی اثر می‌شود. اما این نتایج نشان می‌دهد میزان تخریب فیلم نیوزومی، تا روز بیستم، ۳۵ درصد است و ۲۵ درصد از داروی بارگذاری شده در این نمونه رهایش می‌یابد.

تورم هیدروژل مورد استفاده در این پژوهش نیز بالا است. بنابراین، برای زخم‌های گفته شده بسیار مناسب در نظر گرفته می‌شود. میزان جذب بالای هیدروژل‌ها به دلیل وجود گروه‌های عاملی آب دوست در زانتان و اسپیرولینا است که سبب ایجاد پیوند با آب می‌شود. نرخ تورم یک هیدروژل به گروه‌های عاملی و تخلخل‌های موجود در ساختار بستگی دارد. زانتان دارای گروه‌های هیدروفیل و آنیونی است و، با افزودن داروی اسپیرولینا به ساختار در وزن ثابت زخم پوش نهایی، از میزان زانتان در زخم پوش کاسته می‌شود. بنابراین، از میزان گروه‌های عاملی هیدروفیل کاسته می‌شود. از طرفی، اسپیرولینا با قرارگیری در ساختار باعث کاهش خلل و فرج زنجیره‌ها می‌شود و، به همین دلیل، حضور آن در ساختار سبب کاهش جذب آب می‌شود و کاهش درصد وزنی زانتان در فیلم حاوی داروی اسپیرولینا باعث کاهش نرخ تورم ۴۰ درصد در مقایسه با فیلم زانتان به صورت تنها می‌شود (Bueno & Petri, 2014). میزان تورم هیدروژل زانتان در مقایسه با سایر هیدروژل‌های مورد استفاده به عنوان زخم پوش با قدرت جذب آب بالا، مانند PVA و PVP که به ترتیب ۱۵ و ۲۰ برابر گزارش شده است، بیشتر است و این پدیده نشان دهنده نتایج امیدوارکننده زانتان برای کاربردهای زیست پزشکی است (Aji et al., 2005; Kokabi et al., 2007).



شکل ۴. بررسی میزان جذب آب فیلم زانتان و فیلم زانتان به همراه داروی آزاد

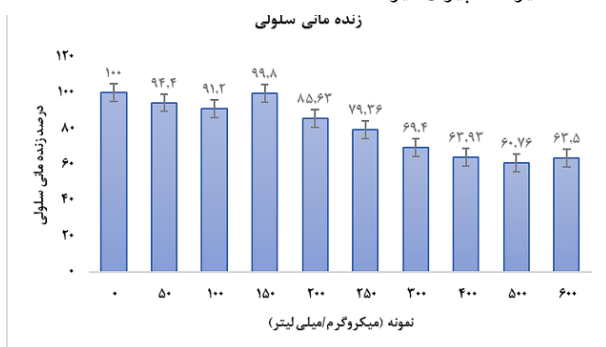
۳-۵- بررسی زیست تخریب پذیری هیدروژل‌ها

شکل ۵ میزان تخریب نمونه‌ها را در بازه زمانی ۲۰ روز

زانتان سبب کاهش قابل توجه نرخ رهایش دارو و افزایش بازه رهایش شده است.

۷-۳- MTT

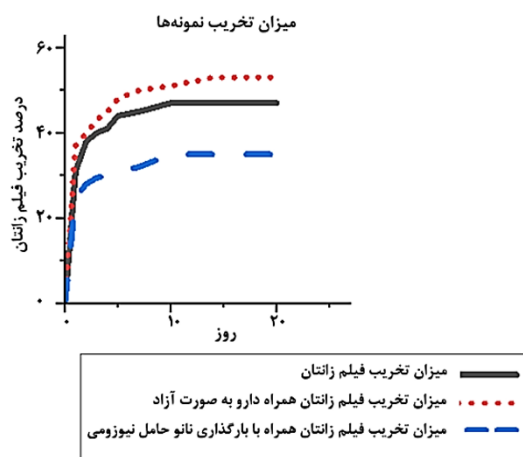
پس از آماده‌سازی شرایط کشت و انجام آزمون زنده‌مانی سلولی در حضور فیلم‌های تهیه‌شده، نتیجه به صورت نمودار شکل ۶ حاصل شد. این شکل درصد زنده ماندن سلول‌ها تحت غلظت‌های متفاوت اسپیرولینا را نشان می‌دهد. همان‌طور که از نمودار پیدا است، در غلظت‌های متفاوت از اسپیرولینا، میزان زنده ماندن نسبی سلول‌ها متفاوت است. با افزودن اسپیرولینا به سلول‌ها، تا غلظت ۲۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر، زنده‌مانی در مقایسه با کنترل بیشتر از ۸۰ درصد است که قابل قبول است. اما افزایش بیشتر غلظت این ماده سبب به هم ریختن شرایط کشت سلول ها می‌شود و درصد زنده‌مانی افت چشمگیری را نشان می‌دهد. دلیل زنده ماندن سلول‌ها و عدم مرگ آن‌ها ترکیبات زیست‌فعال حاضر در عصاره اسپیرولینا هستند. ترکیبات زیست‌فعال موجود در عصاره اسپیرولینا، مانند اسید سینامیک هیدروکسیله، مشتقات ایزومر فسفاتیدیل سرین و سولفوکینوسیل دیاسیل گلیسرول (SQDG)، تأثیر بسزایی در ترمیم زخم دارند و انتظار می‌رود، در صورت ادامه یافتن روزهای کشت سلول، روند رشد سلول‌ها در حضور غلظت مناسب دارو، در مقایسه با نمونه کنترل، رو به بهبود رود. همچنین، در سایر مقالات و براساس زنده‌مانی سلول ها اشاره شده است که اسپیرولینا، به دلیل وجود ترکیبات زیست فعال، تأثیر ضدپیری نیز دارد (Gunes et al., 2017).



شکل ۶. درصد زنده ماندن سلول‌ها با غلظت‌های متفاوت دارو پس از ۲۴ ساعت

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، فیلم پوششی زانتان همراه با بارگذاری



شکل ۵. بررسی میزان زیست‌تخریب‌پذیری فیلم زانتان، فیلم زانتان حاوی داروی اسپیرولینا به صورت آزاد و فیلم زانتان حاوی سامانه نیوزومی

۶-۳- بررسی رهایش دارو از نمونه‌ها

بررسی نمونه فیلم همراه با اسپیرولینای آزاد به همراه محاسبات انجام شده نشان داد که مقدار اسپیرولینای موجود در این فیلم ۲۰ میلی‌گرم است که از این مقدار، ۸/۸۳ میلی‌گرم دارو پس از ۲۰ روز از فیلم همراه با داروی آزاد رهایش می‌یابد در نتیجه، ۴۴ درصد از کل داروی موجود در فیلم، در مدت ۲۰ روز، از آن آزاد شده است.

از بررسی فیلم حاوی نیوزوم - اسپیرولینا این نتیجه حاصل شد که وزن فیلم مورد استفاده در این مرحله ۲۰۰ میلی گرم بود و، با توجه به میزان بارگذاری دارو درون سامانه، مقدار داروی بارگذاری شده در فیلم ۱۰/۹۱ میلی‌گرم به دست آمد. پس از ۲۰ روز از قرار گرفتن فیلم درون محیط PBS و انجام محاسبات، مقدار داروی رهایش یافته برابر با ۲/۸ میلی‌گرم برآورد شد؛ یعنی، پس از گذشت ۲۰ روز، ۲۵ درصد از دارو رهایش یافت.

از مقایسه این دو مورد و رهایش از سامانه‌های نیوزومی بدون حضور زانتان، این نتایج به دست می‌آید:

۱. حضور زانتان باعث رهایش آهسته‌تر دارو در مقایسه با رهایش دارو از سامانه نیوزومی می‌شود
۲. هنگامی که دارو به صورت آزاد در فیلم موجود باشد، از هنگامی که درون سامانه نیوزومی بارگذاری شده باشد، رهایش سریع‌تری را نشان می‌دهد. در نهایت، می‌توان نتیجه گرفت که انکپسولاسیون دوگانه دارو درون نیوزوم و سپس هیدروژل

۵- سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند از مسئولان آزمایشگاه دانشگاه صنعتی امیرکبیر به دلیل فراهم آوردن امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی برای انجام این پژوهش تشکر کنند.

مراجع

1. Abaee, A., & Madadlou, A. (2016). Niosome-loaded cold-set whey protein hydrogels. *Food Chemistry*, 196, 106–113. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.09.037>
2. Ajji, Z., Othman, I., & Rosiak, J. M. (2005). Production of hydrogel wound dressings using gamma radiation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 229(3–4), 375–380. <https://doi.org/10.1016/J.NIMB.2004.12.135>
3. Barbosa De Almeida, C., Catelam, K. T., Lopes Cornélio, M., Francisco, J., & Filho, L. (2010). Morphological and Structural Characteristics of Zein Biofilms with Added Xanthan Gum. *Food Technology and Biotechnology*, 48(1), 19–27. <https://www.researchgate.net/publication/41764895>
4. Behyari, M., Imani, R., & Keshvari, H. (2021). Evaluation of Silk Fibroin Nanofibrous Dressing Incorporating Niosomal Propolis, for Potential Use in Wound Healing. *Fibers and Polymers*, 22(8), 2090–2101. <https://doi.org/10.1007/S12221-021-0973-2/METRICS>
5. Bilanovic, D., Starosvetsky, J., & Armon, R. H. (2016). Preparation of biodegradable xanthan-glycerol hydrogel, foam, film, aerogel and xerogel at room temperature. *Carbohydrate Polymers*, 148, 243–250. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.04.058>
6. Brunchi, C. E., Bercea, M., Morariu, S., & Dascalu, M. (2016). Some properties of xanthan gum in aqueous solutions: effect of temperature and pH. *Journal of Polymer Research*, 23(7), 1–8. <https://doi.org/10.1007/S10965-016-1015-4/METRICS>
7. Bueno, V. B., & Petri, D. F. S. (2014). Xanthan hydrogel films: Molecular conformation, charge density and protein carriers. *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 897–904. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.10.039>
8. Choi, J. I., Kim, M. S., Chun, G. Y., & Shin, H. S. (2017). Spirulina extract-impregnated alginate-PCL nanofiber wound dressing for skin regeneration. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 22(6), 679–685. <https://doi.org/10.1007/S12257-017-0329-3/METRICS>
9. de Moraes Lima, M., Carneiro, L. C., Bianchini, D., Dias, A. R. G., Zavareze, E. D. R., Prentice, C., & Moreira, A. D. S. (2017). Structural, Thermal, Physical, Mechanical, and Barrier Properties of Chitosan Films with the Addition of Xanthan Gum. *Journal of Food Science*, 82(3), 698–705. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13653>
10. Desmet, E., Van Gele, M., & Lambert, J. (2017). Topically applied lipid- and surfactant-based nanoparticles in the treatment of skin disorders. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 14(1), 109–122. <https://doi.org/10.1080/17425247.2016.1206073>
11. Dhivya, S., Padma, V. V., & Santhini, E. (2015). Wound dressings-A review. *BioMedicine (Netherlands)*, 5(4), 24–28. <https://doi.org/10.7603/S40681-015-0022-9/METRICS>
12. Frykberg, R. G., & Banks, J. (2015). Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Advances in Wound Care*, 4(9), 560–582. <https://doi.org/10.1089/WOUND.2015.0635/ASSET/IMA-GES/LARGE/FIGURE4.JPEG>
13. García-Ochoa, F., Santos, V. E., Casas, J. A., & Gómez, E. (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, 18(7), 549–579. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(00\)00050-1](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00050-1)
14. Ge, X., Wei, M., He, S., & Yuan, W. E. (2019). Advances of Non-Ionic Surfactant Vesicles (Niosomes) and Their Application in Drug Delivery. *Pharmaceutics* 11(2), 55. <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS11020055>

نیوزوم - اسپیرولینا با هدف ترمیم زخم و رهایش کنترل‌شده ساخته شد و آزمون‌های برون‌تن لازم برای بررسی ویژگی‌های آن انجام شد و نتایج زیر به دست آمد:

۱- غلظت بهینه برای داشتن یک فیلم زانتان مناسب برابر با ۴ درصد وزنی است و در این غلظت، فیلم کشش و انعطاف پذیری خوبی دارد و حضور گلیسرین باعث نرم شدن فیلم می‌شود و آن را از حالت ترد بودن خارج می‌کند.

۲- بررسی میزان جذب آب و زیست‌تخریب‌پذیری نمونه‌ها نشان می‌دهد که میزان تورم فیلم زانتان از فیلم زانتان همراه با اسپیرولینای آزاد و بارگذاری نیوزوم اسپیرولینا بیشتر است و میزان تخریب فیلم زانتان همراه با بارگذاری نانونیوزوم‌ها کمتر از دو فیلم دیگر است.

۳- میزان رهایش داروی اسپیرولینا از نیوزوم آهسته اتفاق می‌افتد و رهایش انفجاری مشاهده نمی‌شود، به‌طوری که ۵۰ درصد از دارو تا روز بیستم رهایش می‌یابد و رهایش داروی بارگذاری شده در فیلم آهسته‌تر از نیوزوم تنها است و، تا روز بیستم، ۲۵ درصد از دارو رهایش می‌یابد. رهایش آهسته دارو به دلیل حضور سامانه نیوزومی است که باعث به دام انداختن دارو شده است و همچنین حضور ژل زانتان روند رهایش دارو را آهسته‌تر کرده است.

۴- انجام آزمون زنده‌مانی سلولی عدم‌سمیت عصاره اسپیرولینا را تا غلظت ۲۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر نشان می‌دهد، اگرچه با توجه به آهسته رهایش بودن سامانه برای بررسی تأثیرات مثبت حضور عصاره اسپیرولینا بر رشد، تکثیر و مهاجرت سلول‌ها نیاز به بررسی‌های سلولی در زمان‌های کشت بیشتر است که در پژوهش‌های آتی دقیق‌تر بررسی خواهد شد.

درنهایت، نتایج بررسی ساختاری، خواص فیزیکی و رفتار رهایش دارو نشان از پتانسیل مناسب زخم‌پوش تهیه‌شده در کاربردهای ترمیم زخم دارد.

15. Gunes, S., Tamburaci, S., Dalay, M. C., & Gurhan, I. D. (2017). In vitro evaluation of Spirulina platensis extract incorporated skin cream with its wound healing and antioxidant activities. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1824–1832. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1331249>
16. Jung, S. M., Min, S. K., Lee, H. C., Kwon, Y. S., Jung, M. H., & Shin, H. S. (2016). Spirulina-PCL Nanofiber Wound Dressing to Improve Cutaneous Wound Healing by Enhancing Antioxidative Mechanism. *Journal of Nanomaterials*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/6135727>
17. Khoei, S., & Yaghoobian, M. (2017). Niosomes: a novel approach in modern drug delivery systems. *Nanostructures*

- for Drug Delivery, 207–237. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46143-6.00006-3>
18. Kokabi, M., Sirousazar, M., & Hassan, Z. M. (2007). PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. *European Polymer Journal*, 43(3), 773–781. <https://doi.org/10.1016/J.EURPOLYMJ.2006.11.030>
 19. Laracuenta, M. L., Yu, M. H., & McHugh, K. J. (2020). Zero-order drug delivery: State of the art and future prospects. *Journal of Controlled Release*, 327, 834–856. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2020.09.020>
 20. Malektaj, H., Imani, R., & Siadati, M. H. (2021). Study of injectable PNIPAAm hydrogels containing niosomal angiogenetic drug delivery system for potential cardiac tissue regeneration. *Biomedical Materials*, 16(4), 045031. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ABDEF8>
 21. Mitragotri, S. (2005). Healing sound: the use of ultrasound in drug delivery and other therapeutic applications. *Nature Reviews Drug Discovery* 2005 4:3, 4(3), 255–260. <https://doi.org/10.1038/nrd1662>
 22. Nishinari, K., Yamatoya, K., Shirakawa, M., Phillips, G. O., & Williams, P. A. (2000). Handbook of hydrocolloids. *Woodhead Publ*, 247–267.
 23. Nour, S., Imani, R., & Sharifi, A. M. (2022). Angiogenic Effect of a Nanoniosomal Deferoxamine-Loaded Poly (vinyl alcohol)-Egg White Film as a Promising Wound Dressing. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 8(8), 3485–3497. https://doi.org/10.1021/ACSBIOMATERIALS.2C00046/SUPPL_FILE/AB2C00046_SI_001.PDF
 24. Nur, P., Syarina, A., Karthivashan, G., Abas, F., Arulselvan, P., & Fakurazi, S. (2015). Wound Healing Potential of Spirulina Platensis Extracts On Human Dermal Fibroblast Cells. *EXCLI Journal*, 14, 385–393. <https://doi.org/10.17179/excli2014-697>
 25. Pando, D., Matos, M., Gutiérrez, G., & Pazos, C. (2015). Formulation of resveratrol entrapped niosomes for topical use. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 128, 398–404. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2015.02.037>
 26. Patias, L. D., Maroneze, M. M., Siqueira, S. F., de Menezes, C. R., Zepka, L. Q., & Jacob-Lopes, E. (2018). Single-Cell Protein as a Source of Biologically Active Ingredients for the Formulation of Antiobesity Foods. *Alternative and Replacement Foods*, 17, 317–353. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811446-9.00011-3>
 27. Rahman, S. A., Abdelmalak, N. S., Badawi, A., Elbayoumy, T., Sabry, N., & Ramly, A. E. (2015). Formulation of tretinoin-loaded topical proniosomes for treatment of acne: in-vitro characterization, skin irritation test and comparative clinical study. *Drug Delivery*, 22(6), 731–739. <https://doi.org/10.3109/10717544.2014.896428>
 28. Richmond, N. A., Lamel, S. A., Davidson, J. M., Martins-Green, M., Sen, C. K., Tomic-Canic, M., Vivas, A. C., Braun, L. R., & Kirsner, R. S. (2013). US–National Institutes of Health-funded research for cutaneous wounds in 2012. *Wound Repair and Regeneration*, 21(6), 789–792. <https://doi.org/10.1111/WRR.12099>
 29. Saghazadeh, S., Rinoldi, C., Schot, M., Kashaf, S. S., Sharifi, F., Jalilian, E., Nuutila, K., Giatsidis, G., Mostafalu, P., Derakhshandeh, H., Yue, K., Swieszkowski, W., Memic, A., Tamayol, A., & Khademhosseini, A. (2018). Drug delivery systems and materials for wound healing applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 127, 138–166. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2018.04.008>
 30. Sehgal, P. K., Sripriya, R., Senthilkumar, M., & Rajendran, S. (2019). Drug delivery dressings. *Advanced Textiles for Wound Care*, 261–288. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102192-7.00009-6>
 31. Shalviri, A., Liu, Q., Abdekhodaie, M. J., & Wu, X. Y. (2010). Novel modified starch–xanthan gum hydrogels for controlled drug delivery: Synthesis and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 79(4), 898–907. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2009.10.016>
 32. Sharma, V., Anandhakumar, S., & Sasidharan, M. (2015). Self-degrading niosomes for encapsulation of hydrophilic and hydrophobic drugs: An efficient carrier for cancer multi-drug delivery. *Materials Science and Engineering: C*, 56, 393–400. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2015.06.049>
 33. Shehata, T. M., Ibrahim, M. M., & Elsewedy, H. S. (2021). Curcumin Niosomes Prepared from Proniosomal Gels: In Vitro Skin Permeability, Kinetic and In Vivo Studies. *Polymers*, 13(5), 791. <https://doi.org/10.3390/POLYM13050791>
 34. Shemesh, M., & Zilberman, M. (2014). Structure–property effects of novel bioresorbable hybrid structures with controlled release of analgesic drugs for wound healing applications. *Acta Biomaterialia*, 10(3), 1380–1391. <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2013.11.025>
 35. Shinde, S., Lavale, S. A., & Nagare, K. (2018). ‘Spirulina’ as an Additive for Better Nutrition. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 7(5), 143–147. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.018>
 36. Swinehart, D. F. (1962). The Beer–Lambert Law. *Journal of Chemical Education*, 39(7), 333–335. <https://doi.org/10.1021/ED039P333>
 37. Vimala, K., Mohan, Y. M., Varaprasad, K., Redd, N. N., Ravindra, S., Naidu, N. S., & Raju, K. M. (2011). Fabrication of Curcumin Encapsulated Chitosan–PVA Silver Nanocomposite Films for Improved Antimicrobial Activity. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 02(01), 55–64. <https://doi.org/10.4236/JBNB.2011.21008>
 38. White, R. (2005). Evidence for atraumatic soft silicone wound dressing use. *Wounds UK*, 1(3), 104–109. www.dressings.org/Dressings/mepitel
 39. Zannis, J., Angobaldo, J., Marks, M., Defranzo, A., David, L., Molnar, J., & Argenta, L. (2009). Comparison of fasciotomy wound closures using traditional dressing changes and the vacuum-assisted closure device. *Annals of Plastic Surgery*, 62(4), 407–409. <https://doi.org/10.1097/SAP.0B013E3181881B29>