

(Original Research Paper)

## **Evaluation of Antibacterial Activity of Chitosan Dressing Containing Curcumin Nanomicelles, Aloe Vera Hydroalcoholic Extract, and Tetracycline Hydrochloride Using the Externally Applied Method**

Nafiseh minavi <sup>1</sup>, Elahe Sajjadi <sup>2\*</sup>, Saeedeh Askarian <sup>2</sup>

1- MS.c Student of Microbiology, Department of Biology, Pathogenic Microbes, Shandiz Institute of Higher Education of Mashhad, Mashhad, Iran.

2- Department of Biology, Pathogenic Microbes, Shandiz Institute of Higher Education of Mashhad, Mashhad, Iran.

Received:07/04/2024

Accepted:13/07/2024

DOI: [10.71810/jfst.2025.1106515](https://doi.org/10.71810/jfst.2025.1106515)

### **Abstract**

Wound treatment is one of the most challenging fields in biomedicine. Currently, most wound dressing compounds have weak antimicrobial properties, biodegradability, and poor biocompatibility. Therefore, it is important to pay attention to alternatives that do not have these problems. Therefore, according to the useful properties of chitosan and its antibacterial capabilities, the present study aims to prepare a wound dressing with the ability use appropriate and non-toxic antibacterial to accelerate wound healing. The prepared scaffolds were evaluated using SEM and FTIR method, and physical properties including porosity, was estimated. Cytotoxicity and antibacterial properties of these scaffolds were performed by MTT on L292 cell line and disk diffusion on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The results demonstrated that the highest antibacterial effect was associated with chitosan + nanocurcumin against *Escherichia coli* and chitosan + aloe vera + tetracycline for both studied bacteria. Additionally, the prepared dressings exhibited favorable physical and structural properties and were non-cytotoxic. Furthermore, the antibacterial properties of these dressings indicated an improvement in the antibacterial efficacy of chitosan when treated with curcumin and aloe vera. In conclusion, hydrogel systems utilizing these dressings hold promise for wound treatment due to their combined capabilities with natural materials and various drugs.

**Key words:** Nanomicelles, Chitosan, Curcumin, Aloe Vera, Wound Healing.

---

\* Corresponding Author: [E\\_sajadi81@yahoo.com](mailto:E_sajadi81@yahoo.com)

(مقاله پژوهشی)

## ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی داربست کیتوزان حاوی نانومیسل های کورکومین، عصاره هیدروآلکلی آلوورا و تتراسایکلین هیدروکلراید به روش برون تنی

نفیسه میناوی<sup>۱</sup>، الهه سجادی<sup>۲\*</sup>، سعیده عسکریان<sup>۲</sup><sup>۱</sup>- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، میکروب های بیماری زا، موسسه آموزش عالی شانددیز، مشهد، ایران.<sup>۲</sup>- گروه زیست شناسی، میکروب های بیماری زا، موسسه آموزش عالی شانددیز، مشهد، ایران..

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹

DOI: [10.71810/jfst.2025.1106515](https://doi.org/10.71810/jfst.2025.1106515)

### چکیده

درمان زخم ها یکی از زمینه های چالش برانگیز در زمینه ی زیست پزشکی است. در حال حاضر، بیشتر ترکیبات پانسمان زخم از خواص ضد میکروبی ضعیف، زیست تخریب پذیری و زیست سازگاری ضعیفی برخوردارند. از این رو، توجه به جایگزین هایی که این مشکلات را نداشته باشد حائز اهمیت می باشد. لذا، مطالعه ی حاضر در نظر دارد با توجه به ویژگی های مفید کیتوزان و قابلیت های ضد باکتریایی ترکیب نانومیسل کورکومین و عصاره آلوورا در کنار آنتی بیوتیک تتراسایکلین ( به منظور کاهش مصرف آنتی بیوتیک و اثرات جانبی آن) برای تهیه یک زخم پوش باقابلیت ضد باکتریایی مناسب و غیر سمی برای تسریع بهبود زخم استفاده نماید. داربست های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM و روش FTIR مورد ارزیابی قرار گرفتند و میزان تخلخل آن ها مورد بررسی قرار گرفتند. سمیت سلولی و خواص ضد باکتریایی داربست های سنتز شده با روش MTT بر روی رده سلولی L292 و انتشار از دیسک بر روی دو باکتری /استافیلوکوکوس اورئوس و/اشرشیاکلاهی انجام شد. نتایج نشان داد بالاترین اثر ضد باکتریایی مربوط به کیتوزان+ نانوکورکومین برای اشرشیاکلاهی و کیتوزان+ آلوورا + تتراسایکلین بر روی هر دو باکتری مورد مطالعه بود و همچنین داربست های تهیه شده دارای خواص فیزیکی و ساختاری مناسبی بوده و فاقد خاصیت سمیت سلولی می باشند. خواص ضد باکتریایی این داربست ها نشان از بهبود خواص ضد باکتریایی کیتوزان زمانی که داربست با کورکومین و آلوورا تیمار شده بود داشت. در نهایت می توان نتیجه گرفت که استفاده از این داربست ها به دلیل قابلیت هایی که در ترکیب با مواد طبیعی و داروهای مختلف دارند روش امیدوار کننده ای در درمان زخم هستند.

**واژه های کلیدی:** نانومیسل، کیتوزان، کورکومین، آلوورا، ترمیم زخم.

\* مسئول مکاتبات: [E\\_sajadi81@yahoo.com](mailto:E_sajadi81@yahoo.com)

## ۱- مقدمه

پوست به عنوان بزرگترین اندام بدن انسان نقش مهمی در عملکردهای مختلف از جمله محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا ایفا می‌کند (۳۳). با این حال، پوست مستعد آسیب‌دیدگی و ایجاد زخم است (۱۳). درمان و مدیریت زخم‌ها به ویژه زخم‌های مزمن و عفونی، یک چالش مهم در حوزه مراقبت‌های بهداشتی محسوب می‌شود (۴، ۳۳). بازار جهانی محصولات مراقبت از زخم رو به رشد است و پانسمان زخم در هر شرایطی ضروری است (۲۷). زخم‌های مزمن و عفونی بار زیادی بر بیماران و سیستم بهداشتی کشورها تحمیل می‌کنند (۱۲). لذا کنترل عفونت به عنوان یکی از دلایل اصلی تأخیر در بهبود زخم باید مورد توجه قرار گیرد (۱۹، ۱۵). تتراسایکلین هیدروکلراید (TH)<sup>۱</sup> یک آنتی بیوتیک وسیع الطیف آب دوست با سمیت کم است که می‌تواند پاتوژن‌های بالینی را مهار کند و باعث کنترل عفونت باکتریایی در مراحل اولیه بهبود زخم شود (۹). عفونت باکتریایی می‌تواند بهبود زخم را مختل کرده و منجر به تضعیف بافت‌ها و سیستم ایمنی شود (۲۰). چسبندگی نانوالیاف می‌تواند باعث انباشت باکتری‌ها و تشکیل بیوفیلم شود (۱۴). لذا پاسخ فوری به حضور تعداد زیاد باکتری در مراحل اولیه بسیار مهم است (۳). استفاده از داروهای ضد میکروبی موضعی در مقایسه با تجویز سیستمیک، عوارض جانبی کمتری داشته و از بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی جلوگیری می‌کند (۱۵). کیتوزان، پلیمرهای  $\beta$  (۱→۴)-گلوکوزامین و N-استیل-د-گلوکزامین (NAGA)، به عنوان تسریع کننده بهبود زخم استفاده می‌شود و یافته‌های بافت شناسی نشان داد که کیتوزان مهاجرت سلول‌های التهابی را تحریک می‌کند (۳۰). به علاوه این ترکیب دارای خواص بیولوژیکی مهمی مانند زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری و فعالیت هموستاتیک است (۴، ۲۱). همچنین قابلیت ضد باکتریایی

ذاتی را در مقابل طیف وسیعی از گونه‌های باکتری به ویژه گرم مثبت نشان می‌دهد. مزیت دیگر کیتوزان پردازش آسان آن است که امکان به دست آوردن غشاهای هیدرو ژل‌ها، داربست‌ها و الیاف را فراهم می‌کند. این تطبیق‌پذیری کاربرد آن را در بسیاری از کاربردهای زیست پزشکی از جمله مهندسی بافت، دارورسانی و پانسمان زخم افزایش می‌دهد (۲۹). محققان نشان داده‌اند که افزودن عوامل آنتی‌اکسیدان، عوامل ضد باکتری و داروها به محلول‌های پلیمری، یک روش رایج و مفید برای بهبود عملکرد آن‌ها است (۱۵). در سال‌های اخیر، عصاره‌های گیاهی به دلیل خواص ضد باکتریایی، کم عارضه بودن و هزینه پایین به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند (۶). این عصاره‌ها حاوی ترکیبات فعال زیستی مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و ترکیبات فنلی هستند (۷، ۲۸) که می‌توانند در روند بهبود زخم از طریق کنترل التهاب، تحریک تکثیر سلولی و تولید کلاژن، و خواص آنتی‌اکسیداتیو مؤثر باشند (۳۱). از جمله گیاهان مورد توجه برای پانسمان زخم، زردچوبه و آلوورا هستند. لذا، مطالعه‌ی حاضر در نظر دارد با توجه به ویژگی‌های مفید کیتوزان و قابلیت‌های ضد باکتریایی ترکیب نانومیسل کورکومین و عصاره آلوورا در کنار آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین (به منظور کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک و اثرات جانبی آن) برای تهیه یک زخم‌پوش باقابلیت ضد باکتریایی مناسب و غیر سمی برای تسریع بهبود زخم استفاده نماید که به منظور بهره‌وری در صنعت پزشکی استفاده‌ی بهینه کرد.

## ۲- مواد و روش‌ها

## ۲-۱- سنتز داربست

به منظور سنتز داربست در ابتدا اسید استیک ۱ درصد با محلول کیتوزان ۲ درصد وزنی تهیه شد و برای رسیدن به یک محلول همگن و شفاف در دمای ۵۰ درجه سلسیوس با یک همزن مغناطیسی به مدت ۴ تا ۲۴ ساعت مخلوط گردید. سپس ترکیب نانومیسل کورکومین به اندازه ۱۰

درصد وزن خشک کیتوزان و عصاره هیدروالکلی آلوورا و تتراسایکلین هیدروکلراید نیز به اندازه ۵ درصد وزن خشک کیتوزان بر اساس مقالات گذشته به محلول کیتوزان اضافه شد و به مدت ۲ ساعت دیگر این مخلوط هم زده شد (۱۵). بعد از آن مخلوط را تا ارتفاع ۳ میلی متر در پلت های ۲۴ خانه ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد. هیدرو ژل های به دست آمده به مدت ۴۸ ساعت در دمای منفی ۲۰ درجه و منفی ۸۰ درجه سلسیوس منجمد شد. سپس در ابتدا به مدت ۴ ساعت آن ها در محلول ۴ درصد سدیم

هیدروکسید در دمای یخچال قرار دادند و بعد به منظور حذف سدیم هیدروکسید دو بار با PBS شسته شد و بعد در دمای منفی ۶۰ درجه سلسیوس به وسیله دستگاه خشک کن انجمادی با فشار ۰/۵ تور تحت خلأ قرار گرفت تا ساختار متخلخل ایجاد شود. در مدل دیگر سنتز داربست بعد از تهیه داربست خام کیتوزان، نانومیسل کورکومین و عصاره هیدروالکلی آلوورا به آن اضافه شد و دوباره در دستگاه خشک کن انجمادی قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱- ترکیب داربست های مختلف در هر تیمار و اجزای آن

| نمونه | هیدروژل کیتوزان ۲٪ | نانومیسل کورکومین ۰/۲٪ | عصاره آلوورا ۰/۲٪ | آنتی بیوتیک ۰/۵٪ |
|-------|--------------------|------------------------|-------------------|------------------|
| ۱     | +                  | +                      | -                 | -                |
| ۲     | +                  | -                      | +                 | -                |
| ۳     | +                  | -                      | -                 | +                |
| ۴     | +                  | +                      | -                 | +                |
| ۵     | +                  | -                      | +                 | +                |
| ۶     | +                  | +                      | +                 | -                |
| ۷     | +                  | +                      | +                 | +                |

اتانول جذب نمونه ها شود. سپس نمونه ها از اتانول خارج شدند و تغییر حجم اتانول به عنوان W1 گزارش شد و در نهایت داربست از اتانول خارج گردیده که اتانول باقیمانده به عنوان Ww در نظر گرفته شد و در آخر تعیین تخلخل از طریق فرمول زیر تخمین زده شد:

$$Ww = (W0 - W1)$$

در این فرمول: W0 = مقدار اولیه اتانول و W1 = حجم اتانول پس از برداشتن نمونه ها می باشد (۹).

## ۲-۲- بررسی تخلخل و چگالی

برای تخمین تخلخل، کولیس و ترازوی دیجیتال مورد استفاده واقع شد که برای انجام این آزمایش قطر و ضخامت نمونه ها توسط دستگاه کولیس و وزن نمونه ها توسط ترازوی دیجیتال توزین گردید. علاوه بر این، برای تعیین تخلخل داربست از روش جانشینی مایع استفاده گردید. مایع مورد استفاده در این تست اتانول بود چرا که اتانول منجر به تخریب ساختار مورفولوژیک داربست نمی شود. ابتدا داربست در ۱۰ میلی لیتر اتانول به مدت ۵ دقیقه واقع شد تا

### ۳-۲- تعیین خاصیت ضد میکروبی هیدروژل های تهیه شده

این روش بر اساس دستورالعمل CLSI انجام شد (۲). باکتری گرم مثبت / استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 و باکتری های گرم منفی / اشریشیاکلی ATCC 25922 از بانک آزمایشگاه مرکز بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه تهیه شدند. قبل از شروع آزمایش از کشت مادر تهیه شده مقداری به محیط کشت باکتری اضافه و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در فاز مولر هینتون براث لگاریتمی با استفاده از اسپکتروفتومتر رشد باکتری بررسی شد. سپس بر روی محیط کشت ۲۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتریایی اضافه شده و به وسیله یک سوآپ کتان استریل پخش گردید. داربست های تهیه شده را به قطر ۶ میلی متر برش داده و روی سطح محیط کشت حاوی باکتری قرار داده شد. از طرفی به عنوان استاندارد از دیسک های آنتی بیوتیک آمپی سیلین (۲۵ میلی گرم) و جنتامایسین (۱۰ میلی گرم) استفاده گردید. پلت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و در نهایت قطر هاله برای رشد یا عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت.

### ۴-۲- بررسی میزان بقا سلول توسط هیدروژل های تهیه شده

به وسیله آزمون MTT میزان تکثیر و زنده ماندن سلول های L929 در زمان های ۴۸ ساعت بعد از مجاورت با زخم پوش ها انجام شد. ابتدا داربست ها در پلیت ۹۶ خانه قرار داده شد و بر روی آن ها ۵۰۰۰ سلول ریخته شد. بعد از ۴۸ ساعت محیط روی داربست خارج شده و به چاهک ها محیط کشت حاوی محلول MTT (۰/۰۵ mg/ml نمک ترازولیوم بروماید) اضافه شد و در داخل انکوباتور به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با ۵ درصد گاز CO2 قرار گرفت. زمانی که محلول اضافه گشت، MTT بلوره های نامحلول فرمازون بر روی سلول ها زنده ایجاد شد. بعد به محیط کشت ۱۰۰ میکرو لیتر محلول حاوی DMSO

جهت حل شدن کریستال ها و تغییر رنگ محیط کشت اضافه شد و سپس محلول رویی را داخل پلیت ۹۶ خانه دیگری ریخته و در طول موج ۵۷۰ نانومتر، میزان جذب نوری آن خوانده شد (۱۷).

### ۵-۲- آنالیز آماری

این آزمایش جهت صحت بیشتر با سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه آماری داده های حاصله پس از ثبت و سازمان دهی در برنامه Excel، به وسیله نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین ها به روش آزمون توکی در سطح ۵٪ انجام شد.

### ۳- نتایج و بحث

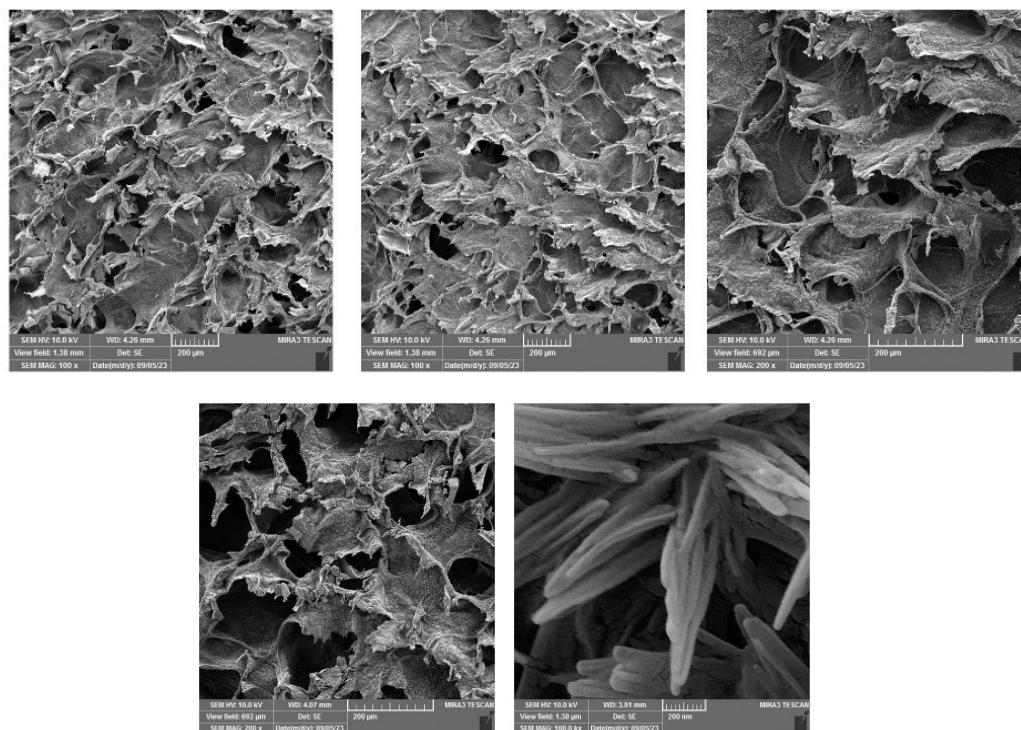
در این مطالعه، از ۷ هیدروژل در نظر گرفته شده، تنها ۵ مورد آن تشکیل شد و ۲ مورد دچار فروپاشی گردید (۶- هیدروژل کیتوزان با افزودن نانومیسل کورکومین و عصاره آلوورا ۷- هیدروژل کیتوزان با افزودن نانومیسل کورکومین و عصاره آلوورا و آنتی بیوتیک). پوشش زخم های سنتی به دلیل محدودیت های عملکردی که دارند، در مقایسه با زخم پوش های مدرن کارایی کمتری دارند. در مطالعه حاضر، ترکیبات مختلفی از جمله نانومیسل کورکومین، عصاره هیدروآلکلی آلوورا و آنتی بیوتیک تراسایکلین به داربست کیتوزان اضافه شده اند تا خواص ضد باکتریایی و زیست سازگاری آن ها بررسی شود. نتایج نشان داده است که ترکیب کیتوزان با این مواد منجر به بهبود خواص ضد باکتریایی و تسریع فرآیند بهبود زخم می شود.

### ۳-۱- بررسی مورفولوژیک توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی یا SEM

هدف از به کارگیری میکروسکوپ الکترونی، بررسی مورفولوژی سطح و ساختار متخلخل یک هیدروژل می باشد؛ زیرا اساس کار یک هیدروژل کارآمد، وجود

عنوان پانسمان زخم مناسب می‌کند؛ زیرا فضای مناسبی را برای رشد و تکثیر سلولی و مهاجرت سلولی ایجاد می‌کنند و از بهترین ویژگی‌های زخم پوش‌ها جذب ترشحات اضافی است که به دلیل وجود تخلخل این ویژگی‌های کارآمد برای این هیدروژل قابل بیان می‌باشد. بررسی مورفولوژیکی داربست‌های تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان داد که هیدروژل‌های تهیه شده دارای ساختار متخلخل و یکنواختی هستند که باعث افزایش جذب و تکثیر سلولی می‌شود. این موضوع با مطالعات دیگر که نشان داده‌اند کیتوزان دارای ساختار متخلخل و سه‌بعدی است و برای رشد و مهاجرت سلولی مناسب است، همخوانی دارد (۴).

ساختار متخلخل می‌باشد. هر چه میزان تخلخل نمونه مورد نظر بیشتر باشد، هیدروژل مد نظر ایده‌آل‌تر و مناسب‌تر خواهد بود. ویژگی اساسی پانسمان زخم ایجاد خاصیت اتصال سلولی می‌باشد که برای تکثیر و رشد سلولی بسیار دارای اهمیت می‌باشد. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌کنید، هیدروژل کیتوزان+ نانوکورکومین نیز اتصال سلولی را ایجاد می‌کند؛ زیرا این هیدروژل از دیدگاه میکروسکوپی ساختار یکنواختی روی سطح دارد و تقریباً خواص سطحی یکسانی دارد و وجود کیتوزان در این داربست باعث ایجاد ساختار متخلخل شده است. حفره‌ها از نظر اندازه و شکل تقریباً یکسان می‌باشد (اندازه حفرات در مقیاس  $200\mu\text{m}$  -  $500\mu\text{m}$ ). بیشتر حفره‌ها ساختار به هم پیوسته داشتند و این ویژگی هیدروژل را برای استفاده به



شکل ۱- عکس میکروسکوپ الکترونی از هیدروژل‌های تهیه شده.

ساختار هیدروژل‌ها به دلیل تشکیل شبکه‌ای متقاطع ایجاد شده است. بسیاری از خواص منحصر به فرد هیدروژل مربوط به این ساختارهای متخلخل است. همان‌طور که مشهود است هیدروژل کیتوزان+ نانوکورکومین تخلخل

### ۲-۳- تحلیل تست تخلخل داربست (Porosity)

بر اساس نتایج به دست آمده، هیدروژل‌ها دارای ساختار شبکه‌ای منظم هستند. منافذی در اندازه‌ی میکرومتر در

بالاتری را از خود نشان داده است. که نشان دهنده ی پتانسیل قابل توجه این هیدروژل ها برای پانسمان زخم است. به عنوان نتیجه گیری از تست تخلخل داربست حاوی نانوکورکومین می تواند گزینه ی خوبی برای ساخت داربست باشد؛ زیرا تخلخل خوبی را از خود نشان داده است (جدول ۲).

جدول ۲- میزان تخلخل نمونه های هیدروژل

| گروه                             | %تخلخل             |
|----------------------------------|--------------------|
| کیتوزان+نانوکورکومین             | ۹۶/۲۳ <sup>a</sup> |
| کیتوزان+ آلوورا                  | ۳۹/۱۳ <sup>d</sup> |
| کیتوزان+ تتراسایکلین             | ۸۲/۱۳ <sup>b</sup> |
| کیتوزان+نانوکورکومین+تتراسایکلین | ۵۸/۱۳ <sup>c</sup> |
| کیتوزان+آلوورا +تتراسایکلین      | ۴۰/۱۶ <sup>d</sup> |
| SEM                              | ۱/۲۶               |
| P VALUE                          | ۰/۰۰۰۱             |

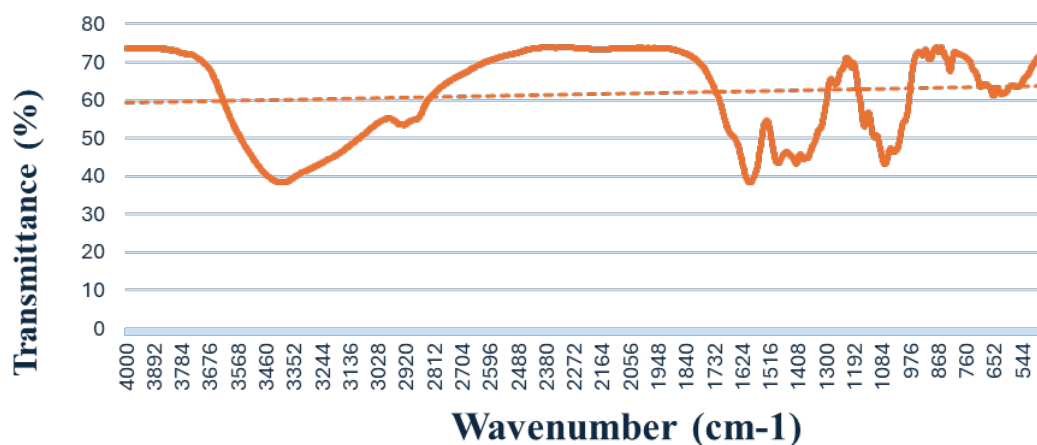
### ۳-۳- نتایج آزمایش FTIR

بر اساس نمودار حاصل شده از طیف سنجی مادون قرمز نتایج به صورت زیر گزارش شد: طبق مشاهدات شکل ۲ برای شناسایی گروه های عاملی و اثبات وجود مواد شرکت کننده در داربست کیتوزان+ کورکومین بررسی نتایج به شرح زیر بود: تجزیه و تحلیل این نمودار یک جذب را برای کیتوزان نشان می دهد که در طول موج  $1074/45 \text{ cm}^{-1}$  به ارتعاش کششی C-O گروه های عاملی OH اشاره می کند. طول موج  $1368/20 \text{ cm}^{-1}$  به وجود گروه عاملی CH اشاره دارد. طول موج  $1465/84 \text{ cm}^{-1}$  به وجود گروه الکلی موجود در کیتوزان دلالت دارد. طول موج  $1568/01 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به خمش گروه آمید N-H اشاره می کند. طول موج  $1648/52 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به گروه عاملی C=O می باشد. بین طول موج  $1648/52$  تا  $1568/01$  وجود گروه آمید کربوکسیل در کیتوزان اثبات می شود. در طول موج  $3397/84$  ارتعاش کششی O-H و N-H مشاهده می گردد.

پس در تفسیر وجود این گروه های عاملی اثبات حضور کیتوزان را در داربست بیان می کند. برای تعیین گروه های عاملی موجود در عصاره کورکومین نتایج به این صورت بررسی می گردد که در پیک های جذبی مشاهده گردید که: طول موج  $779/15$  تا  $838/49$  مربوط به گروه های عطر موجود در گروه کورکومین می باشد. در طول موج  $838/49$  یک ارتعاش کششی OH مشاهده گردید. در طول موج  $1074/45$  مربوط به ارتعاش کششی C-H می باشد. در طول موج  $1147/07$  مربوط به گروه های عاملی کربوکسیلیک اسید و استر موجود در کورکومین می باشد. در طول موج  $1568/01$  وجود گروه اتیلن در کورکومین را ثابت می کند. در طول موج  $1600/70$  ارتعاش کششی C=C و C=O نمایان می شود. در طول موج  $2851/29$  کشش نامتقارن CH<sub>2</sub> مشاهده شده است. در طول موج  $2922/56$  کشش متقارن CH<sub>2</sub> مشاهده شده است. در طول موج  $3248$  کشش ارتعاشی گروه عاملی OH را بیان

کورکومین را تأیید کرد که نشان‌دهنده ترکیب موفق این مواد در داربست‌های تهیه شده است. این نتایج با یافته‌های مشابهی که خواص فیزیکی و شیمیایی کیتوزان را بررسی کرده‌اند، مطابقت دارد (۲۱).

می‌کند. پس در نتیجه وجود این گروه‌های عاملی در پیک جذب‌ی مادون قرمز نشان‌دهنده وجود کورکومین در داربست می‌باشد. تحلیل طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) نیز حضور گروه‌های عاملی مختلف در کیتوزان و

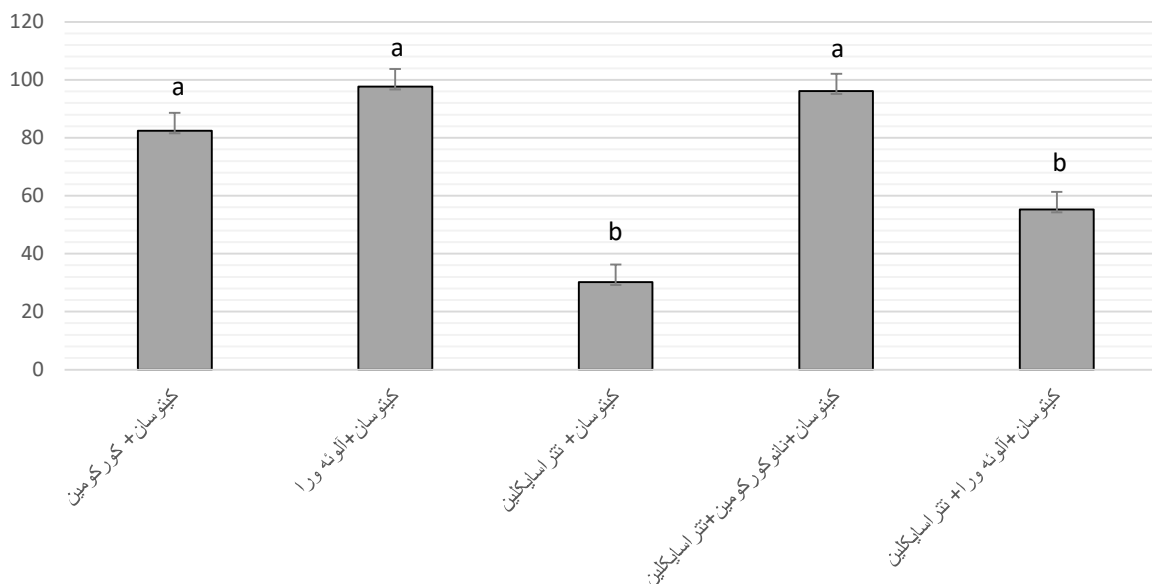


شکل ۲- گراف آزمایش FTIR

توجهی می‌باشند، بیشترین میزان بقا سلولی در تیمارهای ۱، ۲ و ۴ گزارش شد (شکل ۳). این نتایج با مطالعات دیگر که زیست سازگاری داربست‌های کیتوزان را بررسی کرده‌اند، همخوانی دارد (۱۰).

### ۳-۴- تست سمیت سلولی (MTT)

در مطالعه‌ی حاضر، نتایج بررسی بقا و زنده‌مانی سلول‌هایی که در مجاورت داربست‌ها قرار گرفته بودند نشان داد که تمامی داربست‌های سنتز شده فاقد سمیت سلولی قابل



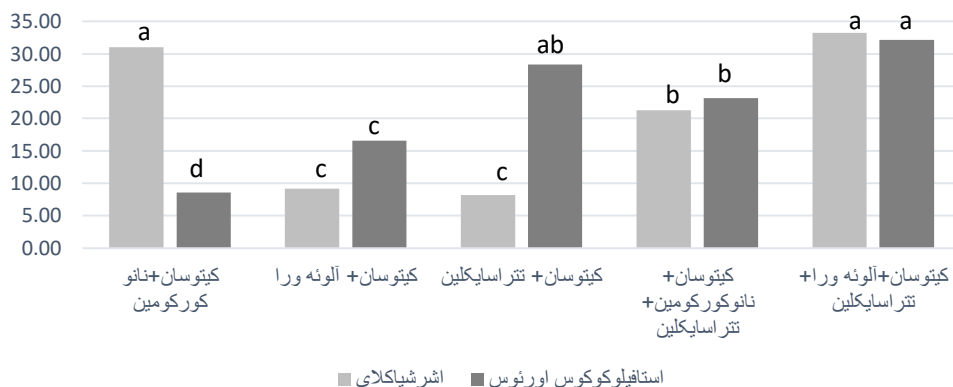
شکل ۳- نتایج بررسی آزمایش MTT روی سلول‌های فیروبلاست L929



## ۳-۵- تست انتشار از دیسک

در مطالعه ی حاضر تست انتشار از دیسک بر روی دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلا*ی نشان داد که تمام هیدروژل ها اثرات ضد باکتریایی بر روی هر دو باکتری مورد مطالعه نشان دادند. بالاترین اثر ضد باکتریایی مربوط به کیتوزان+ نانوکورکومین برای *اشرشیاکلا*ی و کیتوزان+ آلوورا+ تتراسایکلین بر روی هر دو باکتری مورد مطالعه بود که دلیل اصلی بالا بودن اثر ضد میکروبی این دو تیمار احتمالاً به دلیل اثرات سینرژسم یا اثر تقویت کنندگی بین اجزای آن ها است که در تیمار اول کیتوزان با داشتن خاصیت ضد باکتریایی قوی که دارد از طریق آسیب به

دیواره سلولی باکتری عمل کرده و نانوکورکومین نیز دارای فعالیت ضد میکروبی گسترده ای است که از طریق مکانیسم هایی مانند اختلال در غشای سلولی باکتری عمل می کند و در مورد تیمار دوم نیز آلوورا حاوی ترکیبات ضد میکروبی قوی مانند آنتراکینون ها و ترکیبات فنلی است و تتراسایکلین نیز یک آنتی بیوتیک وسیع الطیف قوی است که اثر ترکیبی و تقویت کنندگی این دو با کیتوزان با مکانیسم های متفاوت می تواند اثربخشی ضد باکتریایی را افزایش دهد (شکل ۴). این نتایج با مطالعات قبلی که خواص ضد باکتریایی کورکومین و آلوورا را بررسی کرده اند، همخوانی دارد (۱۱).



شکل ۴- نتایج قطر هاله ی عدم رشد هیدروژل های تهیه شده

علیرغم وجود آب، دارای خون و پروتئین نیز می باشند، که این ترکیبات لایه ای غیرقابل نفوذ بر روی پانسمان ایجاد کرده که از خیس شدن پانسمان توسط مایع زخم جلوگیری به عمل می آورند. نتیجه ی نهایی این موضوع خشک شدن کامل پانسمان می باشد. از طرفی، برداشتن پانسمانی که این گونه خشک شده باعث ایجاد آسیب دوباره به بافت ها و در نتیجه ایجاد حس درد شده و به تأخیر افتادن فرآیند بهبود زخم منجر می شود (۱). برای تعیین نوع زخم مناسب جهت استفاده زخم پوش های تهیه شده

در گذشته نقش پانسمان های سنتی فقط پوشش دادن به زخم ها جهت محافظت آن در برابر ذرات و آلودگی های خارجی بود. این در حالی است که در یک زخم خشک سلول های اپی تلیال به لایه های زیرین رفته و به محیط مرطوب دسترسی ندارند، که این عدم کارایی پانسمان های سنتی حتی به صورت خیس یا مرطوب را نشان می دهد. پانسمان های قدیمی و سنتی اکثراً پیش از تعویض به صورت کامل خشک می شوند و در راستای تبخیر آب، ترشحات زخم به درون پانسمان کشیده می شود. این ترشحات مایع

در این مطالعه، ابتدا باید خواص زخم پوش ارزیابی و با نیاز زخم مورد مقایسه واقع گردد. همان طور که در مطالعه‌ی حاضر اثبات شد این نوع زخم پوش‌ها خواص ضد باکتریایی بسیار خوبی را نشان دادند، پس زخم‌های عفونی یا زخم‌هایی که احتمال عفونی شدن آن‌ها بالاست یکی از اولین گزینه‌های مناسب جهت مصرف این نوع زخم پوش‌ها هستند (۱). علاوه بر این، این نوع زخم پوش‌ها دارای حداقل یک ماده تسریع دهنده ترمیم زخم می‌باشند (کورکومین و آلورا که در این مطالعه بررسی شدند). محققین نشان داده‌اند که آلورا به ترمیم زخم‌های حاصل از تشعشع تماس با مواد شیمیایی و زخم‌های دیابتی کمک می‌کند. همچنین، کورکومین باعث القای آپوپتوز سلول‌های التهابی در مرحله اولیه بهبود زخم می‌شود، همچنین، می‌تواند با کوتاه کردن مرحله التهابی، روند بهبود را تسریع کند. علاوه بر این، کورکومین ممکن است سنتز کلاژن، مهاجرت فیبروبلاست‌ها و تمایز را تسهیل کند. بنابراین این نوع زخم پوش‌ها برای تسریع درمان زخم‌هایی که شرایط خاص دارند به عنوان مثال زخم‌های دیابتی و زخم‌هایی که بافت زیادی از دست داده‌اند، مثل زخم‌های بستر، زخم‌های کهنه و زخم‌های عضو اهداکننده بافت گزینه بسیار مطلوبی جهت مصرف این زخم پوش‌ها می‌باشند (۱۷). هم‌راستا با پیشرفت‌های اخیر در حوزه‌ی درمان زخم، نسل جدید پانسمان‌های مدرن با استفاده از بهترین فناوری و دانش روز ایجاد شدند که قادر به حفظ و کنترل رطوبت زخم در شرایط مختلف می‌باشند. حفظ رطوبت زخم به بهبود سریع‌تر، افزایش تولید کلاژن و تشکیل بافت گرانول کمک می‌کند و تشکیل عروق خونی جدید با سرعت و شدت بیشتری انجام می‌شود. از طرفی دیگر، میزان عفونت در زخم‌هایی که با زخم پوش‌های قدیمی بسته شده‌اند بیش‌تر از زخم‌هایی است که با پانسمان‌های مدرن امروزی پوشانیده شده‌اند. علاوه بر این، میزان دفعات تعویض در زخم پوش‌های قدیمی بیشتر است و نیاز به صرف نیروی انسانی بیشتری است (۵).

جهت تعیین وضعیت زخم پوش مورد مطالعه با سایر زخم پوش‌های دیگر از لحاظ تراوایی بخار آب پژوهش‌های سایر محققین را باید بررسی کرد. وو و همکاران (۱۹۹۵) به ارزیابی ۱۴ نوع زخم پوش مختلف با خواص بسیار متفاوت پرداختند و این دانشمندان دریافتند که تراوایی بخار آب در این زخم پوش‌ها بسیار متفاوت بوده و از  $76 \text{ g}/(\text{m}^2 \text{d})$  برای زخم پوش‌های حاصل از فیلم که تقریباً به طور کامل زخم را پوشش می‌دهند تا  $\text{g}/(\text{m}^2 \text{d})$  ۹۳۰ برای زخم پوش‌های بسیار متخلخل کاملاً فومی شکل که راه عبور بخار آب و اکسیژن را کاملاً آزاد قرار می‌دهند را شامل می‌شود (۳۲). با این تفاسیر رویز و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند که اکثر زخم‌ها و زخم پوش‌ها در بازه تراوایی بخار آب در محدوده‌ی  $2047 \text{ g}/(\text{m}^2 \text{d})$  -  $426$  داشتند (۲۵). زخم پوش مورد بررسی دارای تراوایی حدوداً  $400 - 1200 \text{ g}/(\text{m}^2 \text{d})$  است که در بین عموم زخم پوش‌ها یک محدوده‌ی متوسط محسوب می‌شود. این نوع زخم پوش‌ها جهت بهره‌برداری برای بیشتر زخم‌ها مناسب می‌باشند؛ اما جهت استفاده در زخم‌های خیلی خشک باید زخم و زخم پوش به‌طور مداوم خیس گردند و جهت کاربرد آن در زخم‌هایی با میزان ترشحات بسیار بالا، این زخم پوش باید هر ۲-۳ روز یک‌بار مجدداً عوض گردد. البته استفاده از لایه آلژینات خشک شده انجمادی با افزایش مقدار جذب و تراوایی آب ممکن است بتواند به حل این مسئله کمک کند. با توجه به این که خاصیت عبور بخار آب برای پانسمان‌های هیدرو ژلی ضروری می‌باشد در بررسی مقدار عبور بخار آب با افزودن کورکومین نسبت به آلورا افزایش میزان عبور بخار آب مشاهده شد. به نظر می‌رسد دلیل این موضوع این است وجود نانوکورکومین که دارای ساختار متخلخل و شبکه‌ای مناسب برای عبور بخار آب می‌باشد. هم‌راستا با مطالعه‌ی حاضر ناصریه و همکاران (۲۰۲۱) مطالعه‌ای را با هدف تحویل پوستی عصاره زعفران خزر با استفاده از هیدروژل کیتوزان/آلورا انجام دادند و ادعا کردند که افزایش زعفران باعث کاهش عبور بخار آب نمی‌شود (۲۲).

با بررسی ساختار مورفولوژیک نمونه‌های هیدروژل دیده شد که کل نمونه‌ها دارای ساختار متخلخل هم ساین می‌باشند که این تخلخل برای رشد و تکثیر سلولی مناسب می‌باشد. به صورت مشابه، در تحقیقی که کاپارکار و همکاران (۲۰۲۱) انجام دادند، ادعا کردند که کیتوزان دارای ساختار متخلخل و سه‌بعدی است که برای رشد و مهاجرت سلولی گزینه‌ی بسیار مطلوبی می‌باشد (۱۶). با این حال، به‌طور کلی، زردچوبه به دلیل ساختار فیبری و ظرفیت نگهداری آب بالاتر، دارای تخلخل بالاتری نسبت به آلورا است. مشخص شده است که کورکومین دارای تخلخل بین ۷۵ تا ۹۰ درصد است، در حالی که آلورا معمولاً دارای تخلخل بین ۲۰ تا ۷۰ درصد است که بستگی به روش پردازش و نوع داربست مورد استفاده دارد، از این رو می‌توان میزان عبور بخار آب بیشتر داربست حاوی کورکومین را نسبت به آلورا به این موضوع نسبت داد. نتایج بررسی بقا و زنده‌مانی سلول‌هایی که در مجاورت زخم پوش حاصله قرار گرفتند اثبات کرد که تمامی داربست‌های سنتز شده فاقد سمیت سلولی می‌باشند که این موضوع هم‌راستا با سایر مطالعات انجام شده می‌باشد (۱، ۴). گارسیا و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی داربست نانوالیاف PLGA غنی‌شده با عصاره آلورا فرموله شده با نانو ذرات لیپیدی پرداختند. این مطالعات سمیت سلولی آزمایشگاهی با استفاده از روش MTT بررسی کردند و نشان دادند که بیش از ۷۰ درصد سلول‌های کراتینوسیت‌ها و فیبروبلاست‌ها هنگام انکوبه شدن نشان دادند که نشان‌دهنده زیست سازگاری خوب این داربست است (۱۰).

همچنین، سایار و همکاران (۲۰۲۳) سنجش MTT برای بررسی سمیت سلولی در شرایط آزمایشگاهی هیدروژل کیتوزان+ کورکومین و سیکروفلاکسین انجام دادند، که نشان‌دهنده عدم سمیت سلولی قابل‌توجهی در برابر سلول‌های L929 بود (۲۶).

آلورا و کورکومین هر دو خواص ضد باکتریایی را در مطالعات مختلف نشان داده‌اند. با این حال، میزان و اثربخشی

خواص ضد باکتریایی آن‌ها ممکن است بسته به باکتری خاص مورد هدف و همچنین غلظت و نحوه عصاره‌گیری متفاوت باشد. نشان داده شده است که آلورا دارای اثرات ضد باکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* است. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که آلورا ممکن است با مختل کردن غشای سلولی باکتری‌ها یا مهار تقسیم سلولی باکتری‌ها عمل کند (۲، ۱۱، ۲۲، ۲۴). کورکومین، ترکیبی است که در زردچوبه یافت می‌شود، همچنین نشان داده شده است که اثرات ضد باکتریایی بر روی انواع باکتری‌ها از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی* و *هلیکوباکتر پیلوری* دارد. کورکومین اثرات ضد باکتریایی خود را از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند مهار رشد باکتری‌ها، مختل کردن غشای سلولی باکتریایی و کاهش تولید فاکتورهای حداث باکتریایی اعمال می‌کند.

رنجبر و همکاران (۲۰۱۶) نانوالیاف کتیرا حاوی کورکومین را جهت ایجاد زخم پوش توسعه دادند. این محققین نشان دادند که زخم پوش‌ها به ترتیب ۸۵ و ۹۹ درصد خواص ضد باکتریایی علیه باکتری‌های *MRSA*، *ESBL* با افزودن میزان ۳ wt% کورکومین داشتند (۲۳).

در مطالعه‌ی حاضر بیشترین خواص ضد باکتریایی هم بر روی *اشریشیا کلائی* و هم *استافیلوکوکوس اورئوس* مربوط به ترکیب کیتوزان با آلورا و تتراسایکلین (قطر هاله به ترتیب ۳۳ و ۳۲ میلی‌متر) بود که نشان‌دهنده اثرات هم‌زایی ترکیب آلورا با تتراسایکلین است. با توجه به فعالیت ضد باکتریایی ژل آلورا، آن را عمدتاً به ترکیبات فنلی مانند آنتراکینون‌ها نسبت می‌دهند. با این حال، همچنین، برخی از مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که چنین فعالیت ضد باکتریایی ممکن است ناشی از تعامل هم‌افزایی چندین ترکیب آن باشد (۱۱، ۲۴).

علاوه بر این، برخی از مطالعات شواهدی از برهمکنش‌های هم‌افزایی بین گیاهان دارویی و آنتی‌بیوتیک‌های رایج

2. Chacón O, Forno N, Lapierre L, Muñoz R, Fresno M, San Martín B. Effect of Aloe barbadensis Miller (Aloe vera) associated with beta-lactam antibiotics on the occurrence of resistance in strains of Staphylococcus aureus and Streptococcus uberis. *European Journal of Integrative Medicine*. 2019;32:100996. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2019.100996>

3. Chen J, Liu Z, Chen M, Zhang H, Li X. Electrospun gelatin fibers with a multiple release of antibiotics accelerate dermal regeneration in infected deep burns. *Macromolecular Bioscience*. 2016;16(9):1368-80. <https://doi.org/10.1002/mabi.201600108>

4. Dash M, Chiellini F, Ottenbrite RM, Chiellini E. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in polymer science*. 2011;36(8):981-1014. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.progpolymsci.2011.02.001>

5. Dhivya S, Padma VV, Santhini E. Wound dressings—a review. *BioMedicine*. 2015;5(4):22. <https://doi.org/10.7603/s40681-015-0022-9>

6. Dorman HD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*. 2000;88(2):308-16. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>

7. Edeoga HO, Okwu D, Mbaebie B. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*. 2005;4(7):685-8. <http://dx.doi.org/10.5897/AJB2005.000-3127>

8. Eumkeb G, Sakdarat S, Siri Wong S. Reversing  $\beta$ -lactam antibiotic resistance of Staphylococcus aureus with galangin from Alpinia officinarum Hance and synergism with ceftazidime. *Phytomedicine*. 2010;18(1):40-5. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.09.003>

9. Fan Y, Lüchow M, Zhang Y, Lin J, Fortuin L, Mohanty S, et al. Nanogel encapsulated hydrogels as advanced wound dressings for the controlled delivery of antibiotics. *Advanced Functional Materials*. 2021;31(7):2006453. <https://doi.org/10.1002/adfm.202006453>

را هنگام علیه استافیلوکوکوس اورئوس نشان می‌دهند (۸). در مورد آلورا، چاکن و همکاران (۲۰۱۹) دریافتند که عصاره این گیاه زمانی که با برخی از داروهای بتالاکتام مانند کلوزاسپلین و سفتیوفور ترکیب می‌شود، اثر هم‌افزایی یا افزایشی نشان می‌دهد (۲). این فعل و انفعالات مشاهده شده بین عصاره آلورا و داروهای ضد میکروبی منجر به حداقل غلظت مهارکنندگی کمتر (MIC) برای فرمولاسیون ترکیبی نسبت به آنتی‌بیوتیک به تنهایی علیه استافیلوکوکوس اورئوس می‌شود (۱۸).

#### ۴- نتیجه‌گیری

نتایج کلی در این مطالعه نشان داد که استفاده از داربست‌های کیتوزان حاوی نانوکورکومین، عصاره آلورا و تتراسایکلین می‌تواند به عنوان یک روش مؤثر برای بهبود زخم‌های عفونی و تسریع فرآیند بهبود زخم مورد استفاده قرار گیرد. زخم پوش کیتوزان همراه با نانوکورکومین با خصوصیات عالی گزارش شده در این مطالعه می‌تواند شرایط مساعدی را برای بهبود زخم فراهم کند. همچنین هیدروژل‌های ساخته شده در این مطالعه آزادسازی دارو و عوامل زیست فعال را در شرایط کنترل شده تسهیل می‌کنند. این هیدروژل‌ها، دارای خواص ضد باکتریایی مناسبی علیه باکتری‌هایی نظیر *اشرشیاکلا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد. تکثیر و زنده ماندن سلولی در شرایط آزمایشگاهی با روش MTT نشان‌دهنده این موضوع است که این هیدروژل‌ها حداقل سمیت را برای سلول‌های پوستی ایجاد می‌کنند. در آخر مطالعه حاضر نشان داد این داربست‌ها با دارا بودن خواص ضد باکتریایی و زیست سازگاری مناسب، پتانسیل بالایی برای استفاده در کاربردهای زیست پزشکی دارند.

#### ۴-مراجع

1. Brumberg V, Astrelina T, Malivanova T, Samoilov A. Modern wound dressings: Hydrogel dressings. *Biomedicine*. 2021;9(9):1235. <https://doi.org/10.3390/biomedicine9091235>

- acceleration of topical wound healing: In vitro and in vivo experiments. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 2023;48(1):497-514. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13369-022-07283-6>
18. Kietzmann M, Niedorf F, Gossellin J. Tissue distribution of cloxacillin after intramammary administration in the isolated perfused bovine udder. *BMC veterinary research*. 2010;6:1-5. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-6-46>
19. Lei J, Sun L, Li P, Zhu C, Lin Z, Mackey V, et al. The wound dressings and their applications in wound healing and management. *Health science journal*. 2019;13(4):1-8.
20. Li Y, Liu X, Tan L, Cui Z, Yang X, Zheng Y, et al. Rapid sterilization and accelerated wound healing using Zn<sup>2+</sup> and graphene oxide modified g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> under dual light irradiation. *Advanced Functional Materials*. 2018;28(30):1800299. <https://doi.org/10.1002/adfm.201800299>
21. Matica MA, Aachmann FL, Tøndervik A, Sletta H, Ostafe V. Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(23):5889. <https://doi.org/10.3390/ijms20235889>
22. Naseriyeh T, Alvandi H, Hossainpour H, Nowroozi G, Arkan E. Transdermal Delivery of Caspian Crocus Extract Using Chitosan/Aloe Vera Hydrogel. 2021. <https://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3995930>
23. Ranjbar-Mohammadi M, Rabbani S, Bahrami SH, Joghataei M, Moayer F. Antibacterial performance and in vivo diabetic wound healing of curcumin loaded gum tragacanth/poly (ε-caprolactone) electrospun nanofibers. *Materials Science and Engineering*. 2016;69:1183-91. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.08.032>
24. Rodríguez ER, Martín JD, Romero CD. Aloe vera as a functional ingredient in foods. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2010;50(4):305-26. <https://doi.org/10.1080/10408390802544454>
10. Garcia-Orue I, Gainza G, Garcia-Garcia P, Gutierrez FB, Aguirre JJ, Hernandez RM, et al. Composite nanofibrous membranes of PLGA/Aloe vera containing lipid nanoparticles for wound dressing applications. *International journal of pharmaceutics*. 2019;556:320-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.12.010>
11. Hamman JH. Composition and applications of Aloe vera leaf gel. *Molecules*. 2008;13(8):1599-616. <https://doi.org/10.3390%2Fmolecules13081599>
12. Han G, Ceilley R. Chronic wound healing: a review of current management and treatments. *Advances in therapy*. 2017;34:599-610. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0478-y>
13. Harper D, Young A, McNaught C-E. The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)*. 2014;32(9):445-50. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2011.06.011>
14. Huang B, Liu X, Li Z, Zheng Y, Yeung KWK, Cui Z, et al. Rapid bacteria capturing and killing by AgNPs/N-CD@ ZnO hybrids strengthened photo-responsive xerogel for rapid healing of bacteria-infected wounds. *Chemical Engineering Journal*. 2021;414:128805. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128805>
15. Kalalinia F, Taherzadeh Z, Jirofti N, Amiri N, Foroghini N, Beheshti M, et al. Evaluation of wound healing efficiency of vancomycin-loaded electrospun chitosan/poly ethylene oxide nanofibers in full thickness wound model of rat. *International journal of biological macromolecules*. 2021;177:100-10. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.209>
16. Kaparekar PS, Poddar N, Anandasadagopan SK. Fabrication and characterization of Chrysin—a plant polyphenol loaded alginate-chitosan composite for wound healing application. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2021;206:111922. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111922>
17. Kenawy E-RS, Kamoun EA, Ghaly ZS, Shokr A-bM, El-Meligy MA, Mahmoud YA-G. Novel physically cross-linked curcumin-loaded PVA/aloe vera hydrogel membranes for

*Molecular Sciences*. 2020;21(6):2070.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21062070>

30. Ueno H, Nakamura F, Murakami M, Okumura M, Kadosawa T, Fujinaga T. Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and the growth factors production by macrophages. *Biomaterials*. 2001;22(15):2125-30. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(00\)00401-4](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(00)00401-4)

31. Vitale S, Colanero S, Placidi M, Di Emidio G, Tatone C, Amicarelli F, et al. Phytochemistry and biological activity of medicinal plants in wound healing: an overview of current research. *Molecules*. 2022;27(11):3566.  
<https://doi.org/10.3390/molecules27113566>

32. Wu P, Fisher A, Foo P, Queen D, Gaylor J. In vitro assessment of water vapour transmission of synthetic wound dressings. *Biomaterials*. 1995;16(3):171-5.  
[https://doi.org/10.1016/0142-9612\(95\)92114-L](https://doi.org/10.1016/0142-9612(95)92114-L)

33. Yu R, Zhang H, Guo B. Conductive biomaterials as bioactive wound dressing for wound healing and skin tissue engineering. *Nano-micro letters*. 2022;14:1-46.  
<https://doi.org/10.1007/s40820-021-00751-y>

25. Ruiz-Cardona L, Sanzgiri YD, Benedetti L, Stella VJ, Topp EM. Application of benzyl hyaluronate membranes as potential wound dressings: evaluation of water vapour and gas permeabilities. *Biomaterials*. 1996;17(16):1639-43.  
[https://doi.org/10.1016/0142-9612\(95\)00324-x](https://doi.org/10.1016/0142-9612(95)00324-x)

26. Sayyar Z, Mahdavinia GR, Khataee A. Dual-drug (Curcumin/Ciprofloxacin) loading and release from chitosan-based hydrogels embedded with magnetic Montmorillonite/Hyaluronic acid for enhancing wound healing. *Journal of Biological Engineering*. 2023;17(1):66.  
<https://doi.org/10.1186/s13036-023-00385-1>

27. Sen CK. Human wound and its burden: updated 2020 compendium of estimates. *Advances in wound care*. 2021;10(5):281-92.  
<https://doi.org/10.1089/wound.2021.0026>

28. Sharma VK, Yngard RA, Lin Y. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in colloid and interface science*. 2009;145(1-2):83-96.  
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.09.002>

29. Silvestro I, Lopreiato M, Scotto d'Abusco A, Di Lisio V, Martinelli A, Piozzi A, et al. Hyaluronic acid reduces bacterial fouling and promotes fibroblasts' adhesion onto chitosan 2D-wound dressings. *International Journal of*