مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و ششم، شماره نهم، آذر ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۱۳

تهیه و بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات کامپوزیت پلی ساکاریدی حاوی کارکامین در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم میکروبی دندان

شبنم جهانی زاده[۱]، اعظم مرجانی*[۲]، فاطمه یزدیان[۳]، میثم امیدی[۴]

مقاله پژوهشی

مقدمه: از عمده ترین دلایل پوسیدگی دندان، افزایش فعالیت میکروبی در حفره دهانی است. باکتری استرپتوکوکوس موتانس عامل اصلی ایجاد پوسیدگی است. هدف از مطالعه اخیر بارگذاری کارکامین طبیعی در فرمولاسیون بهینه نانوکامپوزیت کیتوزان-نشاسته-مونت موریلونیت و بررسی اثر ضد باکتری آن بر کاهش تشکیل بیوفیلم در مدل دندانی است.

روش بررسی: پژوهش حاصل از نوع مطالعه تجربی می باشد. نانوکامپوزیت زیستی کیتوزان- نشاسته- مونت موریلونیت بارگذاری شده با کارکامین با روش ترسیب و ژل سازی یونی تهیه شد و اثر ضدمیکروبی آن بررسی گردید. شاخص های فیزیکوشیمیایی و خصوصیات ساختاری نانوکامپوزیت از منظر بازده درون گیری، پروفایل رهایش دارو، سایز نانوکامپوزیت، پتانسیل زتا، مورفولوژی سطح و طیف FTIR تعیین گردید.

نتایج: میانگین اندازهٔ ذرات در نانوکامپوزیت بهینه شده برابر با ۳۵/۹ نانومتر، پتانسیل زتا ۳۷/۲ میلی ولت و میزان بارگذاری ٪۹۱ به دست آمد. بیشترین میزان رهایش دارو برای این نانوسامانه حدود ٪۸۰ به دست آمد که نشان دهنده کنترل رهایش دارو در حضور مونت موریلونیت در مقایسه با نانوکامپوزیت فاقد مونت موریلونیت می باشد. در بررسی های FTIR پیک جذبی مشخصه کارکامین، نشاسته، کیتوزان و مونت موریلونیت در نانوکامپوزیت مشاهده شد که نشان دهنده اختلاط مونت موریلونیت وکارکامین در نانوکامپوزیت می باشد. در نهایت، فعالیت ضدمیکروبی نانوکامپوزیت زیستی کیتوزان- نشاسته- مونت موریلونیت در برابر استرپتوکوکوس موتانس بررسی شد.

نتیجه‌گیری: نانوکامپوزیت حاوی کارکامین با برخورداری از ویژگی های مناسب فیزیکوشیمیایی، افزایش پایداری دارو و کنترل خوب رهایش، در ممانعت از تشکیل بیوفیلم در مدل دندان بسیار موثر است که دلیل آن بهبود در ثبات کارکامین کپسوله شده و افزایش حلالیت آبی آن می باشد.

واژه‌های کلیدی: استرپتوکوکوس موتانس، نانوکامپوزیت پلی ساکاریدی، کارکامین، ژل سازی یونی، پوسیدگی دندان

ارجاع: جهانی زاده شبنم، مرجانی اعظم، یزدیان فاطمه، امیدی میثم. **تهیه و بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات کامپوزیت پلی ساکاریدی حاوی کارکامین در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم میکروبی دندان.** مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۹): ۱۹-۸۰۶

۱- دانشجوی دکتری، گروه شیمی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
۲- دانشیار، گروه شیمی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
۳- استادیار، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۴- استادیار، مرکزتحقیقات پروتیئن، دانشگاه شهید بهشتی، ولنجک، تهران، ایران
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۶۳۹۹۷۶۸۸، پست الکترونیکی:a-marjani@iau-arak.ac.ir ، کد پستی : ۳۸۱۳۵۱/۵۶۷

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

مقدمه

رایج ترین بیماری دندانی که نوع بشر را تحت تاثیر قرار می دهد پوسیدگی دندان است (۱). پوسیدگی در نتیجه رشد بیش از حد گروه خاصی از میکروارگانیسم ها روی سطح دندان است که در پلاک دندانی و یا پلاک باکتریایی به وجود می آید (۲). اگر چه پاتوبیولوژی پوسیدگی دندان پیچیده است، در واقع یکی از علل مهم پوسیدگی که به طور گسترده به رسمیت شناخته شده، تشکیل پلاک بیوفیلم دندان است (۴و۳). ازعمده ترین دلایل پوسیدگی و در نهایت از دست دادن دندان ها افزایش فعالیت میکروبی در حفره دهانی و به تبع آن پایین آمدن pH دهان و خارج شدن کلسیم مینای دندان از حالت معدنی خود است (۵). استرپتوکوکوس موتانس باکتری گرم مثبت و تحمل کننده شرایط اسیدی است که عامل اصلی ایجاد کننده پوسیدگی در نظر گرفته می شود (۶). عوامل بیماری زایی اصلی موتانس در ارتباط با ایجاد پوسیدگی عبارت اند از چسبندگی، توانایی تولید اسید و تحمل شرایط اسیدی. چسبندگی به سطح دندان از طریق موتانس و تشکیل بیوفیلم، مرحله اول در توسعه پوسیدگی، و پیشگیری از این چسبندگی، یک راه حل معقول برای جلوگیری از پوسیدگی است. پروتئین های سطحی توانایی چسبندگی به مخاط دهان و سطح دندان را دارند (۶)، برخی پروتئین های سطحی از طریق آنزیم سورتاز آ به دیواره سلولی متصل شده اند (۷). بنابراین، تلاش های تحقیقاتی اخیر به کنترل پوسیدگی و راه حل های پیشگیرانه اختصاص داده شده است. یک گام عمده برای رسیدن به این هدف توسعه سیستم های ضد میکروبی است که به راحتی در سرتاسر ساختار بیوفیلم پخش شوند (۸). نانوتکنولوژی به عنوان یک حوزه علمی درحال توسعه، با استفاده از سیستم های دارورسانی به عنوان حامل بیولوژیکی، به نظر می رسد شیوه ای مطلوب در درمان و کنترل بیماری های دهان و دندان باشد (۱). از آن جایی که توانایی اتصال و تشکیل بیوفیلم عامل بیماری زایی حیاتی برای موتانس است، عفونت های موتانس را می توان با داروهایی با اثر ضداتصال بین میزبان و عامل بیماری زا کنترل کرد (۹)، درمان برپایه مواد طبیعی می تواند انتخابی طبیعی، مؤثر و سازگار در برابر درمان با استفاده از آنتی بیوتیک ها، با خطر ایجاد باکتری های مقاوم به دارو، برای پیشگیری از بیماری های دندان باشد. ترکیبات شیمیایی گیاهی به علت ماهیت غیرسمی برای اهداف کنترل بیوفیلم بررسی می شوند. یکی از این ترکیبات کارکامین است. کارکامین یک ترکیب کریستالی زرد نارنجی و ماده فعال ادویه زردچوبه است و به عنوان ماده ضد التهاب، ضد میکروبی، ضد سرطان و آنتی اکسیدان استفاده می شود (۱۰). در پژوهش های دو سال اخیر نشان داده شده کارکامین از تشکیل بیوفیلم توسط موتانس جلوگیری می کند و بنابراین امیدهای تازه ای در استفاده از آن برای کنترل بار میکروبی حفره دهانی ایجاد شده است (۷). هم چنین اخیر گزارش شده که کارکامین در برابر بسیاری از گونه های باکتری مقاوم در برابر دارو فعال است (۱۱). در تحقیقی که توسط یان و همکاران انجام گرفت، بیوفیلم های موتانس با غلظت های مختلف کارکامین درمان شدند و اثر آنتی بیوفیلم کارکامین با کلرهگزیدین مقایسه شد و مشخص شد گروه تحت درمان با کلرهگزیدین نتایج مشابهی را نشان می‌دهد. علاوه براین آنها بیان کردند، کارکامین باعث کاهش تولید پلی ساکارید خارج سلولی در کوتاه مدت می شود(۱۲).

کارکامین با مهار فعالیت آنزیم سورتازآ در موتانس، مانع از اتصال باکتری به سطح دندان و در نتیجه کاهش تشکیل بیوفیلم می شود (۱۳). با این حال، کاربرد بالینی کارکامین به دلیل نقاط ضعف عمدهٔ آن از قبیل بی ثباتی، حلالیت کم، زیست دسترس پذیری ضعیف و متابولیسم سریع به شدت محدود شده است (۱۰). کپسوله شدن کارکامین در نانوذرات یک روش مناسب و مفید برای غلبه بر محدودیت های آن است (۱۴). برای دارورسانی نانوذرات و نانوکامپوزیت های پلیمری پیشنهاد می شوند، زیرا بهترین نتیجه و کمترین سمیت را در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

انکپسولاسیون داروها از خود نشان داده اند. سمیت پائین این نانو سامانه ها سهم عمده در پیشرفت درمان های خلاقانه برای بیمارهای مرتبط با بیوفیلم ارائه شده است که این به دلیل اندازهٔ قابل تنظیم، افزایش قابلیت تعلیق و توانایی تغییرسطح آن هاست که برهمکنش ها را با سامانه زیستی در سطح مولکولی افزایش می دهند. هنگامی که این سامانه ها با اشکال دارویی رایج مقایسه شدند، فواید متمایزی نشان دادند، از جمله: زمان اقامت طولانی دارو در محل مورد استفاده، تماس نزدیک فرمولاسیون با سطح زیستی و موضعی کردن در مکانی خاص که می تواند جذب داروها را افزایش دهد، هم چنین این سامانه ها کاهش اثر جانبی دارو و توانایی تحویل چندین دارو به یک مکان هدف را از خود نشان می دهند (۱۵).

در این مطالعه، از نانوذرات کیتوزان- نشاسته برای تهیه و توسعه نانوکامپوزیت زیستی همراه با نانورس مونت موریلونیت برای کپسوله شدن و رهایش بهتر کارکامین استفاده شده است کیتوزان به دلیل زیست تخریب پذیری، زیست سازگاری، ثبات بهتر، سمیت کم، روش های آماده سازی ساده و ملایم و قابلیت ساختاری برای اصلاح مکانیکی و شیمیایی در ایجاد خواص و عملکرد نوین، ابزار ارزشمندی برای سامانه های رسانش دارو است(۱۶). نشاسته یک پلی ساکارید طبیعی ارزان، زیست سازگار، زیست تخریب پذیر، و غیرسمی است (۱۷). نانورس ها مواد منحصر به فردی هستند که به عنوان مواد افزودنی برای ساخت نانوکامپوزیت ها و بهبود قابل توجه خواص مواد پلیمری به کار می روند (۱۸). استفاده از نانورس ها به عنوان رهاکننده های دارویی مورد توجه قرار گرفته است. نانوکامپوزیت های خاک رس- پلیمر در فرمولاسیون نانوکامپوزیت جهت تحویل دارو نقش مهمی ایفا می کنند. به این دلیل که اثر قویتری در کنترل رهایش دارو در مقایسه با خاک رس به تنهایی یا پلیمر به تنهایی دارند و به علت فعالیت آنتی باکتری برای حفاظت دندان و لثه نیز مورد استفاده قرار می گیرند (۱۹).

خاک رس مونت موریلونیت خواص جذب خوب به دلیل سطح خشن و متخلخل فراهم می کند (۲۰). این نانورس قیمت پایین داشته و آبدوست است، مونت موریلونیت پرکننده نانویی دوست دار طبیعت و محیط زیست می باشد. به عنوان تقویت کننده نشاسته از آن استفاده می شود (۲۱). استفاده از نانورس می تواند حمل دارو را برای کامپوزیت بهتر کند (۲۲).

پژوهش های متعددی در زمینه به کارگیری نانوفناوری در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم استرپتوکوکوس موتانس و پلاک روی دندان ها و کنترل فعالیت میکروبی در حفره دهانی صورت گرفته است. عمده این مطالعات برروی نانوذات فلزی بوده و تعداد کمتری از آن ها از پلیمرهای طبیعی استفاده کرده اند هدف از مطالعه اخیر بارگذاری کارکامین طبیعی در فرمولاسیون بهینه نانوکامپوزیت کیتوزان- نشاسته- مونت موریلونیت و بررسی اثر ضد باکتری آن بر کاهش تشکیل بیوفیلم در مدل دندانی است.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، استرپتوکوکوس موتانس PTCC ۱۶۸۳ از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران (IROST) خریداری شد. کیتوزان (low M_W)، نشاسته، کارکامین، مونت موریلونیت، توین ۲۰، استیک اسید، اتانول ۹۶ درجه، اتانول مطلق، کلریدریک اسید، سدیم هیدروکسید و استیک اسید، کلیه مواد مصرفی در این تحقیق به صورت خالص و از شرکت مرک آلمان تهیه شده، کیتوزان و مونت موریلونیت از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شده است. دندان های سالم از طریق دانشکده دندان پزشکی دانشگاه تهران واقع در خیابان ۱۶ آذر تهیه شد و توسط دستگاه برش MECATOME مدل Presi فرانسه به اندازه های کاملاً برابر (۳میلی متر) برش داده شد. جهت تعیین خصوصیات ساختاری و مورفولوژی نانوکامپوزیت، اندازه گیری متوسط سایزذرات و PDIاز دستگاه های طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR)مدل ۱۰.۰۳.۰۶، ساخت شرکت PerkinElmer

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

Spectrum، میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل ۳۲۰۰ KYKY_EM، اسپکتروفوتومتر مدل PG Instrument ، دستگاه تفرق نور دینامیک (DLS) و زتا پتانسیل مدل Nano zetasizer ساخت شرکت Instrument Malvern، دستگاه انکوباتور مدلBinder و شیکرانکوباتور مدل IKA و دستگاه سانتریفیوژ مدل Sigma استفاده شد.

تهیه نانوذرات نشاسته و کیتوزان

محلول نانوذرات نشاسته و کیتوزان با روش ترسیب و ژله ای شدن ساخته شد. ابتدا غلظت های مختلف نشاسته و کیتوزان محلول در آب دیونیزه (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ درصد وزنی) و هم چنین غلظت های مختلف کارکامین (۰/۴-۴ mg/ml) وحجم هایی از توئین (۱/۵-۳ µl/ml) به عنوان متغیر در نظر گرفته شد و با انجام آزمایش های متعددی هر کدام بهینه گردید. در حالت بهینه محلول نشاسته با حل ۵۰mg پودر نشاسته و ۱۰µl توئین۲۰ به عنوان عامل امولسیون کننده (در۱۰ ml آب مقطر) تحت همزن مغناطیسی با سرعت ۵۰۰rpm در۵۰ C تهیه شد، هم چنین از بین غلظت های یادشده، غلظت ٪۰/۵ کیتوزان به منظور سنتز انتخاب گردید. محلول بهینه کیتوزان با حل ۵۰mg پودر کیتوزان در ۱۰ml محلول اسید استیک ۰/۵ درصد حجمی/حجمی تهیه شد، محلول یک ساعت به منظور حل شدن کامل کیتوزان روی همزن مغناطیسی با ۷۰۰rpm هم زده شد. محلول کیتوزان توسط محلول NaOH ۱مولار تا ۵pH تنظیم شد. جهت پراکندگی یکنواخت محلول، ۱۰µlتوئین۲۰ اضافه شد. مونت موریلونیت با غلظت های (۰/۰۲۵-۰/۰۰۵گرم) (۱، ۳ و ۵ درصد وزنی/حجمی) در۱۰ ml آب مدت ۱۲ ساعت متورم شد. سپس این سوسپانسیون توسط همزن مکانیکی مدت ۳۰ ساعت به شدت همزده و مدت ۳۰ دقیقه تحت سونیکیت قرار گرفت (۴۲۳). سپس نانوکامپوزیت کیتوزان نشاسته-مونت موریلونیت بارگذاری شده با کارکامین

محلول بهینه کارکامین در اتانول مطلق (غلظت ۲mg/ml) (نسبت های پلیمر/کارکامین (۱/۵، ۱/۱۰، ۱/۵۰، ۱/۱۰۰، ۱/۱۰۰) قطره قطره به سوسپانسیون مونت موریلونیت اضافه شد و ۱۵ دقیقه هم زده شد. سپس نسبت های حجمی/حجمی مختلف (۱:۱-۱:۳-۱:۵) از محلول نانوذرات کیتوزان و نشاسته به آرامی تحت سونیکیت مدت ۵۰ دقیقه اضافه شد تا واکنش بین کیتوزان، نشاسته و کارکامین به منظور بارگذاری دارو در حین سنتز صورت گیرد. پس از گذشت این زمان، سوسپانسیون نانوذرات به منظور ترسیب ذرات درشت تر در فالکون های ۱۵ml ریخته و در ۱۰۰۰ rpm مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ شد، رسوب دور ریخته شد و محلول روئی نگه داشته شد. محلول روئی در میکروتیوب های ۲ml ریخته شد و ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردید. این بار محلول روئی دور ریخته شد و رسوب با ۱ ml اتانول مطلق به منظور حذف کارکامین آزاد شستشو داده شد و اتانول سریعاً خارج گردید و رسوب باقی مانده (نانوکامپوزیت بارگذاری شده) به منظور اندازه گیری میزان بارگذاری نانوذرات به روش انجمادی خشک گردید.

تعیین مقدار دارو در نانوکامپوزیت و تعیین ظرفیت بارگذاری

جهت تعیین مقدار داروی بارگذاری شده، بعد از خشک کردن انجمادی، ۱۰mg نانوکامپوزیت حاوی کارکامین در میکروتیوب ۲ml ریخته شد، سپس ۱/۵ml اتانول مطلق به آن افزوده و ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد. میکروتیوب در۱۴۰۰۰rpm مدت۱۰دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول روئی از میکروتیوب به حجم نهایی ۲mlرسید و توسط طیف سنجی نوری در۴۱۹ nm غلظت کارکامین تعیین گردید. برای تعیین مقدار دارو و ظرفیت بارگذاری، از روابط زیر استفاده شد (۲۴).

$$\text{بارگذاری ظرفیت (\%)} = \frac{\text{وزن کل کارکامین} - \text{کارکامین آزاد}}{\text{وزن نانوسامانه}} \times 100$$

$$\text{بارگذاری (\%)} = \frac{\text{وزن کل کارکامین} - \text{کارکامین آزاد}}{\text{وزن کل کارکامین}} \times 100$$

خصوصیات نانوکامپوزیت

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

تعامل بالقوه بین ترکیبات در سیستم نانوکامپوزیتی توسط طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز در دمای اتاق انجام گرفت. طیف FT-IR از کیتوزان، نشاسته، مونت موریلونیت، کارکامین و نانوکامپوزیت کیتوزان- نشاسته- مونت موریلونیت بر روی نمونه های لیوفیلیزه با استفاده از دستگاه طیف سنج ثبت شد. یک میلی گرم از هر نمونه در یک هاون همراه با KBr پودر شد و با ضخامت ۰/۱ سانتی متر روی صفحه قرار گرفت. طیف در محدوده Cm^{-1} ۴۵۰۰-۴۰۰ مشاهده شد. ویژگی های مورفولوژی سطح نانوکامپوزیت فریزدرای شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی تعیین شد. توزیع اندازه و پتانسیل زتا ذرات نانوکامپوزیت توسط زتا سایزرتعیین شد. اندازه گیری DLS در یک زاویه پراکندگی ۹۰° بعد از سونیکیت محلول انجام شد.

اندازه گیری میزان رهایش دارو

اندازه گیری رهایش کارکامین از نانوکامپوزیت پلی ساکاریدی در دو بافر فسفات با دوpH مختلف (pHهای۷/۴ و۴/۵) به روش کیسه دیالیز در حمام آب ۳۷°C انجام شد (۲۵). ابتدا کیسه دیالیزها فرآوری شدند. به ۱mg پودر نانوکامپوزیت بارگذاری شده با کارکامین که به صورت لیوفیلیزه تهیه شده بود، ۵ml بافر فسفات اضافه شد، سپس این محلول به یک کیسه دیالیز (۱۲KDa) منتقل شد و در ۵۰ ml از بافر فسفات (pHهای۷/۴ و۴/۵) حاوی اتانول (۲۰٪ V/V) به صورت معلق قرار گرفت. بررسی رهایش دارو در ۱۱ دوره با فواصل زمانی ۰، ۲، ۴، ۶، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۶۰، ۷۲ و ۹۶ ساعت صورت گرفت. در این فواصل زمانی۱/۵ ml از نمونه ها نمونه برداری شده و با حجم معادل از محیط بافر PBS تازه جایگزین شد. مقدار کارکامین آزاد در بافر توسط طیف سنجی نوری در طول موج ۴۱۹nm تعیین گردید. مقدار رهایش کارکامین از رابطه زیر به دست می آید:

$$\text{رهایش}\% = \frac{[Curcumin]rel}{[Curcumib]load} \times 100$$

شرایط کشت باکتری در محیط مایع

چندین کلنی از رشد یک شبانه روزی باکتری موتانس روی پلیت آگار حاوی خون در ۱۵ ml از محیط BHI براث انتقال داده شد ویک شبانه روز در شیکر انکوباتور با دمای۳۷°C و rpm ۱۵۰ کشت داده شد (محیط تلقیح اولیه). جذب نوری محلول توسط دستگاه طیف سنجی نوری اندازه گیری گردید. هنگامی که جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر نزدیک به یک شد، محلول آماده تلقیح به محیط کشت ثانویه می باشد. از این کشت شبانه ۵۰۰ µl به ۲۰ml از محیط BHI تازه اضافه شد و این محیط بار دیگر به شیکر انکوباتور منتقل گردید و سلول ها تا اواسط فاز لگاریتمی$OD_{۶۰۰}$ (۰/۶-۰/۵) رشد یافتند. هم چنین منحنی رشد موتانس در محیط BHI براث مدت ۱۰ ساعت در ۶۰۰ نانومتر به دست آمد (۲۶).

تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) نانوذرات پلی ساکاریدی بارگذاری شده با کارکامین بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس

جهت تعیین حداقل غلظت مهارکننده نانوکامپوزیت بارگذاری شده با کارکامین برروی باکتری موتانس، از روش ریز رقیق سازی در میکروپلیت استفاده شد. کشت یک شبانه روزی (۱۸ساعته) باکتری درمحیط کشت BHI در دمای۳۷°C و rpm ۱۵۰ تهیه شد. پس از گذشت این زمان در زیر هود زیستی جذب نوری، $OD_{۶۰۰}$ مادهٔ تلقیح توسط BHI تازه روی ۰/۱ تنظیم گردید. برای تعیین حداقل غلظت مهارکننده نانوکامپوزیت از پلیت ۹۶ چاهکی استفاده شد، ابتدا در هر چاهک ۱۰۰ µl از مادهٔ تلقیح و حجم های ۰µl، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ از محلول نانوکامپوزیت (۱mg/ml) اضافه شد، هم چنین برای کارکامین حل شده در اتانول و نانوکامپوزیت بدون کارکامین این مراحل در همان پلیت انجام شد. سپس پلیت ۹۶ چاهکی مدت ۲۴ ساعت در۳۷°C انکوبه شد. جذب نوری توسط دستگاه الایزاریدر در طول موج ۶۰۰ نانومتر ثبت گردید. MIC نانوکامپوزیت برابر است با کمترین غلظت نانوذرات که منجر به$OD_{۶۰۰}$ کمتر یا مساوی۰/۰۵ شود (۲۷).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

تعیین اثر بازدارندگی نانوکامپوزیت روی تولید بیوفیلم باکتری استرپتوکوکوس‌موتانس در pHهای مختلف (pH ۵ و pH۷)

$$\text{تعیین اثر بازدارندگی نانوکامپوزیت روی تولید بیوفیلم} = 1 - \frac{\text{جذب نوری نمونه در } 550\ nm}{\text{جذب نوری شاهد در } 550\ nm} \times 100$$

باکتری موتانس درpH های مختلف (pH ۵ وpH ۷) کشت یک شبانه روزی (۱۸ساعته) باکتری موتانس درمحیط BHI غنی شده با ۱٪ وزنی/ حجمی سوکروز در دمای۳۷°C و دور ۱۵۰ rpm تهیه شد. پس از گذشت این زمان زیر هود زیستی جذب نوری ..۶OD مادهٔ تلقیح توسط BHI تازه روی ۰/۱ تنظیم شد. سپس ۱ml از مادهٔ تلقیح و یک قطعه از مینای دندان به هر شیشه پنی سیلین منتقل شد و در ۳۷°C و سرعت ۱۵۰ rpm مدت ۲۴ساعت انکوبه گردید. (بلانک حاوی BHI به جای مادهٔ تلقیح است)، (۱ نانوکامپوزیت + ۱ کارکامین خالص + ۱ بلانک +۱ کنترل × ۳ تکرار=۱۲ شیشه پنی سیلین) تهیه گردید. پس از گذشت ۲۴ ساعت، محیط کشت استفاده شده حذف گردید و شیشه پنی سیلین و قطعهٔ مینای دندان ۳ بار با پیپت کردن۱/۵ ml از سرم فیزیولوژی سترون شسته شد. سپس ۱ml از محلول نانوذره (۱mg/ml) در حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) در محلول بافر فسفات (pHهای ۵ و ۷) به شیشه پنی سیلین های مربوطه منتقل شد و مدت ۳۰ دقیقه در۳۷C° انکوبه گردید.

مرحلهٔ بعد محلول نانوکامپوزیت حذف شد و شیشه پنی سیلین و مینای دندان ۳ بار با پیپت کردن ۱/۵ ml سرم فیزیولوژی سترون شستشو داده شد. به منظور فیکس کردن بیوفیلم، ۱ml اتانول به هر شیشه پنی سیلین اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه اتانول حذف و شیشه پنی سیلین ها در معرض هوا خشک شدند. پس از خشک شدن مینای دندان، ۱ ml کریستال ویوله ۱ ٪ به هر شیشه اضافه شد. پس از۵ دقیقه کریستال ویوله حذف گردید و شیشه و مینای دندان ۵ بار با پیپت کردن ۱ ml سرم فیزیولوژی سترون شستشو داده شد. سپس شیشه پنی سیلین ها رها شده تا خشک گردند. در آخر ۱ ml اسید استیکv/v ۳۳% به هر شیشه پنی سیلین اضافه شد و پس از ۱۵ دقیقه جذب نوری در ۵۵۰ نانومتر قرائت گردید (۲۹و۲۸). اثر بازدارندگی باکتری از رابطه زیر محاسبه می شود:

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک تایید شده است (نامه اخلاق صادر شده است)

نتایج

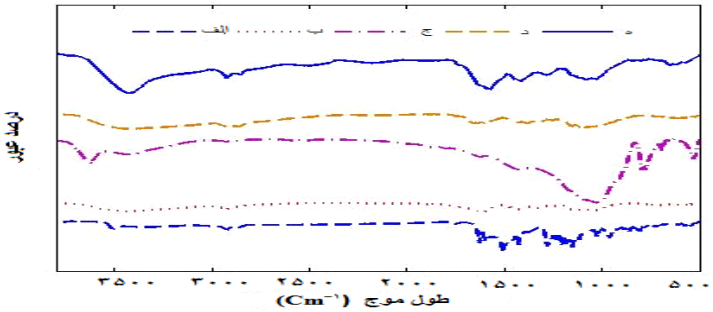
طیف سنجی مادون قرمز(FTIR)

از طیف سنجی مادون قرمز برای بررسی تعامل بین مونت-موریلونیت، کارکامین و پلی ساکارید (شکل۱) استفاده شد. در طیف FTIR نشاسته، پیک جذبی در محدوده $۳۴۴۰Cm^{-1}$-۳۰۰۰ و درنقطه$۲۹۰۰Cm^{-1}$ که به ترتیب به ارتعاشات کششی گروه O–H و ارتعاش لرزشی C–H نسبت داده شده است. پیک جذبی درنقطه $۱۴۱۵Cm^{-1}$مربوط به ارتعاش CH۲ است (۱۸). در طیف کیتوزان، پیک جذبی گسترده در محدوده$۳۵۰۰Cm^{-1}$-۳۲۰۰ مربوط به ارتعاش کششی نامتقارن $NH_۲$ و پیوند هیدروژنیOH^-، و پیک$۲۹۵۰\ Cm^{-1}$ با ارتعاش کششی OH^- مطابقت دارد (۲۴). آمید۱ و آمید۲ در$۱۶۴۰Cm^{-1}$و Cm^{-1} ۱۵۶۰ ظاهر شدند، که به ارتعاش کششی گروه کربوکسیل (آمید ۱) و ارتعاش خمشی NH (آمید۲) نسبت داده شده است (۱۸). در طیف FTIR مونت موریلونیت، پیک جذبی در$^{-1}$ ۳۶۳۰Cm مربوط به ارتعاشات کششیOH^- وپیک گسترده در محدوده $۵۸۰-۱۱۲۰Cm^{-1}$ به ارتعاشات کششی Si–O نسبت داده شده است (۳۰و۳۱). در طیف FTIR کارکامین یک باند جذبی در$۳۵۲۰Cm^{-1}$ به ارتعاش کشش گروه O–H فنلی نسبت داده شده است. علاوه براین، نوارهای جذب تیز درCm^{-1} ۱۶۰۵مربوط به ارتعاشات کششی حلقه بنزن، $۱۵۰۲\ Cm^{-1}$ ارتعاشات C–C وC–O ، $۱۴۳۵\ Cm^{-1}$ ارتعاش خمشی C–H الفین و$۱۲۸۵\ Cm^{-1}$مربوط به ارتعاش کششی C–O آروماتیک مشاهده شد (۳۰). همان طور که در شکل ۱ مشخص است،

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

شدت پیک کششی O–H در نانوکامپوزیت حاوی کارکامین کاهش یافته و به عدد موجی پایین تر نسبت به کارکامین، کیتوزان و مونت موریلونیت انتقال یافته،که تعامل بین کیتوزان، نشاسته، مونت موریلونیت و کارکامین را به خوبی نشان می دهد.

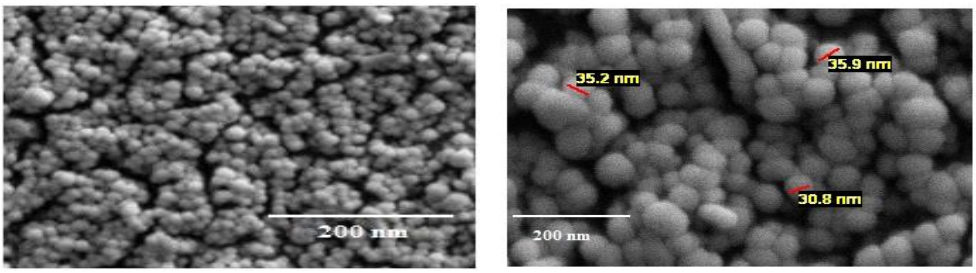


شکل۱: طیف مادون قرمز (الف) کارکامین، (ب) نشاسته (ج) مونت موریلونیت، (د) کیتوزان و (ه) نانوکامپوزیت

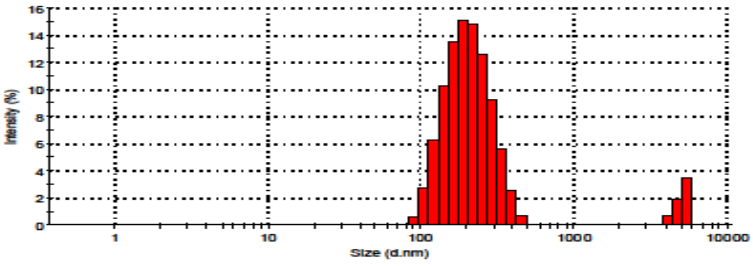
مورفولوژی نانوکامپوزیت

شکل ۲ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوکامپوزیت کیتوزان- نشاسته- مونت موریلونیت بارگذاری شده با کارکامین را نشان می دهد. با توجه به تصاویرSEM، نانوکامپوزیت حاوی کارکامین، کروی شکل بوده و دارای ساختار متراکم جامد است. سطح نانوکامپوزیت همگن به نظر می رسد، که نشان دهنده سازگاری خوب بین کیتوزان، نشاسته، مونت‌موریلونیت وکارکامین است. قطرمتوسط نانوکامپوزیت درمحدوده nm ۲۳-۳۵/۹ بود. اندازه ذرات نانوکامپوزیت با استفاده از DLS تعیین شد. مطابق شکل ۳، میانگین اندازه ذرات ۲۲۷/۴nm به دست آمد. ثبات ذرات نانوکامپوزیت را می توان با مقادیر پتانسیل زتا آنها تایید کرد. پتانسیل زتا نانوذرات بین ۳۹/۲mV- ۲۶ نشان داده شده (شکل ۴)، که ثبات خوب نانوکامپوزیت را تایید می کند.

پتانسیل زتا شاخصی از پایداری محلول های نانوذره می باشد. بار الکتریکی بیشتر بر روی سطح نانوذرات به دلیل نیروهای دافعهٔ قوی بین ذرات از تجمع آنها ممانعت می کند. به عنوان یک قاعده کلی مقادیر پتانسیل زتا بالاتر از ۳۰mV پایداری خوبی را فراهم می کند و بالاتر از ۶۰mV پایداری بسیار خوبی را سبب می شوند. مقادیر حدود۲۰mV و کمتر، پایداری لازم را فراهم می کنند، ولی مقادیری که در محدودهٔ ۵ mV- تا mV ۵+ قرار می گیرند، باعث تجمع سریع نانوذرات می شوند (۳۲). در تحقیق حاضر، نانوکامپوزیت شامل کیتوزان با پتانسیل زتا برابر۲۱+، کارکامین با پتانسیل زتا ۱۲/۳+ و نشاسته با پتانسیل زتا صفرمی باشد (اجزاء دارای بار مثبت). نانوکامپوزیت بارگذاری شده به دلیل پایداری لازم دارای پتانسیل زتای مثبت است و به دلیل استفاده از تویین ۲۰ در سنتز، پایداری فضایی آن به میزان بیشتری حفظ می گردد.

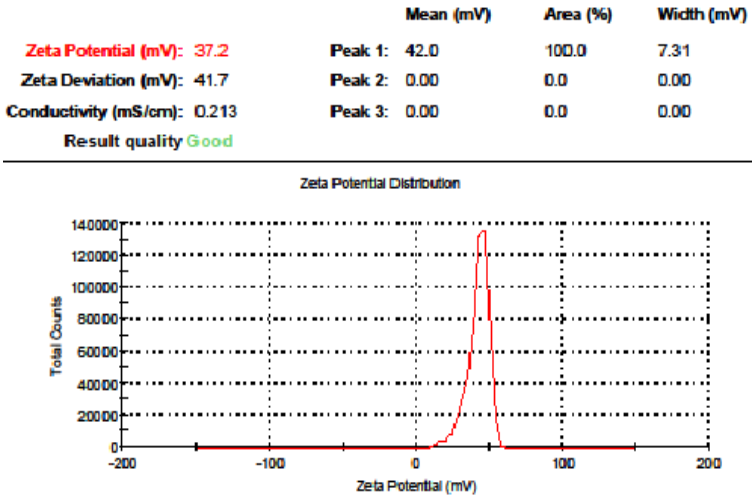


شکل۲: تصویر SEM با مورفولوژی کروی شکل و دارای ساختار متراکم جامد از نانوکامپوزیت کیتوزان- نشاسته- مونت موریلونیت بارگذاری شده



[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

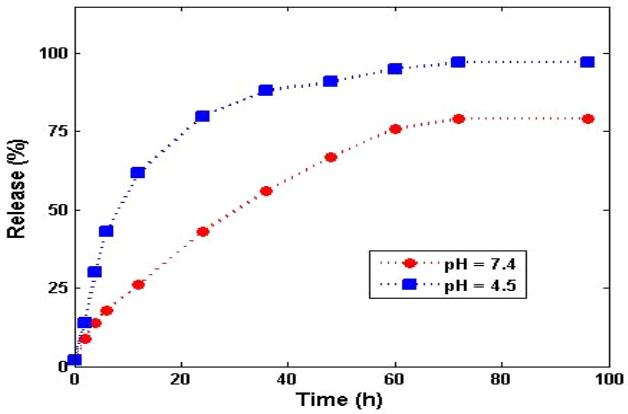
شکل ۳: نمودار DLS جهت تعیین اندازه ذرات نانوکامپوزیت کیتوزان- نشاسته- مونت موریلونیت بارگذاری شده توسط دستگاه زتاسایزر



شکل ۴: پتانسیل زتای به دست آمده از نانوکامپوزیت پلی ساکاریدی کیتوزان- نشاسته- مونت موریلونیت بارگذاری شده با کارکامین

رهایش کارکامین

سرعت رهایش کارکامین از نانوکامپوزیت به روش دیالیز در دو بافر مختلف (pH ۷/۴ و ۴/۵) در ۳۷°C طی یک دوره ۹۶ ساعت مورد بررسی قرار گرفت (شکل۴). همان طور که در نمودار مشخص است، بعد از ۲۴ ساعت، ۴۳ ٪ از کارکامین از نانوکامپوزیت در pH۷/۴ رها شد. درpH۷/۴ رهایش تدریجی از کارکامین مشاهده شد، در حالی که در pH ۴/۵ میزان رهایش کارکامین نسبت به pH ۷/۴ بالاتر شد. بعد از ۲۴ ساعت، ۸۰ ٪از کارکامین از نانوکامپوزیت رها شده است. این نتیجه حساسیت رفتار نانوکامپوزیت نسبت به pH را نشان می‌دهد.



شکل۵: نمودار رهایش کارکامین از نانوکامپوزیت در دو بافر مختلف (۷/۴ و pH۴/۵) در pH ۴/۵ میزان رهایش نسبت به pH ۷/۴ بالاتر است

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

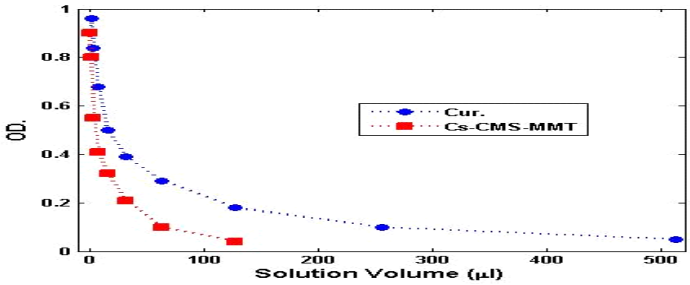
[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

بررسی خاصیت ضدمیکروبی با تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) نانوکامپوزیت پلی ساکاریدی بارگذاری شده با کارکامین بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس

MIC به عنوان کمترین غلظتی است که نانوذرات بارگذاری شده با کارکامین قادرند به طور کامل رشد باکتری مورد آزمایش را مهار کنند. نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت بازدارندگی نانوکامپوزیت پلی ساکاریدی حاوی کارکامین و کارکامین خالص در برابر باکتری بیماری زایی مولد پوسیدگی دندان، به ترتیب برابر ۰/۱۰۱mg/ml و ۰/۴۳۸، (شکل۶) به دست آمد. مشخص گردید MIC کارکامین خالص بیشتر ازMIC نانوکامپوزیت پلی ساکاریدی حاوی کارکامین بود. برای محاسبهٔ MIC از فرمول زیر استفاده شد:

حجم کل محیط/غلظت نانوکامپوزیت × وزن نانوکامپوزیت=MIC

در گزارش تحقیقی یان و همکاران، حداقل غلظت بازدارنده مهاری کارکامین بر روی بیوفیلم موتانس ۵۰۰µM بود. آنها بیان کردند کارکامین متابولیسم بیوفیلم را از ۵ دقیقه تا ۲۴ ساعت کاهش می دهد. همچنین کارکامین مقدار کمی از باکتری های زنده و کل باکتری ها را در کوتاه مدت (۵ دقیقه) و دراز مدت مهار می کند (۱۲).



شکل۶: نمودار OD_{600} کارکامین خالص و کارکامین بارگذاری شده در نانوکامپوزیت کیتوزان-نشاسته-مونت موریلونیت -MICکارکامین خالص بیشتر از **MIC**نانوکامپوزیت پلی ساکاریدی حاوی کارکامین است

تعیین میزان بازدارندگی نانوکامپوزیت پلی‌ساکاریدحاوی کارکامین روی تولید بیوفیلم باکتری استرپتوکوکوس موتانس درpHهای مختلف (pH ۵ وpH ۷)

نتایج حاصل از اثر بازدارندگی نانوکامپوزیت پلی ساکاریدی بارگذاری شده و کارکامین خالص روی میزان تولید بیوفیلم باکتری موتانس بر روی مدل دندان در جدول ۱ نشان داده شده است. آزمایش ها در سه تکرار انجام شد و جذب ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت گردید. به ازای هرpH ، یک محلول شاهد (بدون باکتری)، یک محلول کنترل (بدون نانوذره)، یک محلول نانوذره (درحداقل غلظت بازدارندگی) و محلولی از کارکامین خالص در نظر گرفته شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده مشاهده گردید که در هر دو pH ۵ و۷ اثر بازدارندگی نانوکامپوزیت بارگذاری شده نسبت به کارکامین خالص بیشتر بود. میزان جذب نانوکامپوزیت و جذب کنترل در طول موج ۵۵۰ نانومتر به روش زیر محاسبه می گردد:

جذب شاهد در۵۵۰ نانومتر - جذب نمونه در۵۵۰ نانومتر =(OD_S) جذب نانوکامپوزیت

جذب شاهد در۵۵۰ نانومتر – جذب کنترل در۵۵۰ نانومتر = (OD_S) جذب کنترل

جدول ۱: بازدارندگی نانوکامپوزیت پلی‌ساکاریدی بارگذاری شده با کارکامین و کارکامین خالص در pH های مختلف (۵ و ۷)

آزمایش	کارکامین خالص	نانوکامپوزیت پلی ساکاریدی بارگذاری شده با کارکامین
pH ۵	٪۶۷	٪۹۵/۵
pH ۷	٪۶۰	٪۹۳/۷

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

بحث

در مطالعه حاضر، نانوکامپوزیت کیتوزان- نشاسته- مونت- موریلونیت بارگذاری شده با کارکامین با میانگین اندازه ذرات ۲۳-۳۵/۹nm و مورفولوژی کروی با استفاده از روش انعقاد یونی به‌صورت بهینه تهیه شد و فعالیت ضد باکتری آن در برابر استرپتوکوکوس موتانس مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه مشابه که توسط تائبی و نصرتی درسال۱۳۹۵ انجام گرفت، مشخص شد مرزه خوزستانی قابلیت ضد باکتریایی بالایی در برابر فرم منفرد استرپتوکوکوس موتانس داشته و گاماترپینن، کارواکرول و فامسن ترکیبات موثر این گیاه در ظهور قابلیت مهار تشکیل بیوفیلم باکتری مذکور می باشند (۳۳).

در تحقیق حاضر طبق نتایج به دست آمده، درطیف مادون قرمز پیک جذبی مشخصه کارکامین، نشاسته، کیتوزان و مونت موریلونیت در نانوکامپوزیت حاوی کارکامین مشاهده شد که نشان دهنده اختلاط مونت موریلونیت وکارکامین در نانوکامپوزیت می باشد. شدت پیک کششی O–H در نانوکامپوزیت حاوی کارکامین کاهش یافته و به عدد موجی پایین تر نسبت به کارکامین، کیتوزان و مونت موریلونیت انتقال یافته، که تعامل بین کیتوزان، نشاسته، مونت موریلونیت و کارکامین را به خوبی نشان می دهد. در بررسی مورفولوژی نانوکامپوزیت تفاوت بین اندازه ذرات به دست آمده از طریق SEM و DLS ممکن است به این دلیل باشد که DLS شعاع هیدرودینامیکی در محلول سوسپانسیون را اندازه می گیرد که در حالت تعلیقی ذرات به هم متصل شده اند و سایز بزرگتر است، اما SEM اندازه قطر ذرات در حالت خشک را نشان می دهد که سایز نانوذرات کمتر است. درصد رهایش دارو در ۴/۵pH بعد از ۲۴ ساعت حدود ٪۸۰ رسید که نشان دهنده کنترل رهایش دارو در حضور مونت موریلونیت در مقایسه با نانوکامپوزیت فاقد مونت موریلونیت می باشد.

نتایج نشان داد فعالیت ضد میکروبی کارکامین کپسوله شده در نانوکامپوزیت افزایش می یابد که دلیل آن بهبود در ثبات کارکامین کپسوله شده و افزایش حلالیت آبی آن می باشد. اندازه کارکامین کپسوله شده در نانوکامپوزیت، بسیار کمتر از اندازه ذرات کارکامین خالص حل شده در اتانول به دست آمد، همین امر باعث نفوذ مؤثرتر و جذب بالاترکارکامین توسط سلول یا باکتری و در نتیجه رشد MIC کمتر است (۳۴). اثر ضد میکروبی بالاتر کامپوزیت نیز می تواند به دلیل حضور کیتوزان در ترکیب باشد. مکانیزم های مختلف از تعامل با باکتری برای کیتوزان ارائه شده است. یک مکانیسم احتمالی می تواند تعامل بین مولکول کیتوزان دارای بار مثبت در نانوکامپوزیت و بار منفی غشاء سلول باکتری باشد (۳۵). دلیل اساسی برای خاصیت بازدارندگی قویترکارکامین بارگذاری شده در نانوکامپوزیت پلی ساکاریدی حل شده در بافر فسفات با pH ۵ و۷ نسبت به کارکامین در اتانول مربوط به اندازه ذره است.

نکته مهم این است که زمانی که کارکامین به شکل نانوذره درمی آید، اندازهٔ آن به حدود ۲-۴۰nm کاهش می یابد، که خیلی کمتر از اندازهٔ ذرات کارکامین حل شده درآب یا اتانول است (۵۰۰-۸۰۰nm)؛ در نتیجه باعث نفوذ بهتر و جذب بالاتر آن توسط سلول ها می شود و متعاقباً شکستن دیواره پپتیدوگلیکان و مرگ سلول باکتریایی را در پی خواهد داشت (۷)، از طرفی در این بررسی مشخص شد اثر ضد باکتریایی نانوکامپوزیت کیتوزان- نشاسته- مونت موریلونیت در pH پائین یا ۵pH بیشتر از pH ۷ بود. به نظر می رسد به دلیل خنثی بودن گروه های آمین آزاد روی سطح نانوکامپوزیت در ۷pH نسبت به گروه های آمین دارای بار مثبت در pH ۵، میان‌کنش بین مولکول های با بار مثبت نانوکامپوزیت و غشاهای سلولی میکروبی با بار منفی در pH ۵ بیشتر بوده که منجر به تراوش ترکیبات پروتئین دار و سایر ترکیبات داخل سلولی باکتری می گردد و در نهایت منجر به مرگ سلول باکتری می شود(۷).

نتیجه گیری

یافته ها و نتایج حاصل از کشت باکتری در مدل دندانی نشان داد که نانوکامپوزیت حاوی کارکامین در ممانعت از تشکیل بیوفیلم بسیار موثر است.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه سرکار خانم شبنم جهانی زاده دانشجوی دکتری تخصصی شیمی کاربردی می باشد که در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

آزمایشگاه دانشکده علوم و فنون دانشگاه تهران انجام شده است. جای دارد از اساتید محترم سرکار خانم دکتر فاطمه یزدیان و خانم دکتر اعظم مرجانی که در این پژوهش ما را یاری کرده اند تشکر گردد. تمامی منابع مالی توسط محققین پژوهش تامین شده است.

تعارض در منافع: هیچ گونه تعارض در منافع میان نویسندگان وجود ندارد

References:

1- Ficai D, Sandulescu M, Ficai A, Andronescu E, Yetmez M, Agrali OB, Elemek E. ***Drug Delivery Systems for Dental Applications***. Current Org Chem 2017; 21(1): 64-73.

2- Kolenbrander PE1, Palmer RJ Jr, Periasamy S, Jakubovics NS. ***Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance***. Nat Rev Micro 2010; 8(7): 471-80.

3- Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub J, Ramos-Gomez F, et al. ***Dental caries, Nature Reviews Disease Primers*** 2017; 3.

4- Pereira DFA, Seneviratne CJ, Koga-Ito CY, Samaranayake LP. ***Is the oral fungal pathogen Candida albicans a cariogen?*** Oral Dis 2018; 24(4): 518-26.

5- Biswas S, and Biswas I. ***Role of HtrA in surface protein expression and biofilm formation by Streptococcus mutans***. Infect Immun 2005; 73(10): 6923-34.

6- Murata RM, Branco-de-Almeida LS, Franco EM, Yatsuda R, dos Santos MH, de Alencar SM, et al. ***Inhibition of Streptococcus mutans biofilm accumulation and development of dental caries in vivo by epiclusianone and fluoride***. Biofouling 2010; 26(7): 865-72.

7- Hu P, Huang Pi, Chen MW. ***Curcumin reduces Streptococcus mutans biofilm formation by inhibiting sortase A activity***. Arch Oral Biol 2013; 58: 1343-48.

8- Chavez de Paz LE, Resin A, Howard KA, Sutherland DS, Wejse PL. ***Antimicrobial Effect of Chitosan Nanoparticles on Streptococcus mutans Biofilms.*** Appl Environ Microbiol 2011; 77(11): 3892-95.

9- Hannig M1, Hannig C. ***Nanomaterials in preventive dentistry***. Nat Nanotechnol 2010; 5(8): 565-9.

10- Krausz AE, Adler BL, Cabral V, Navati M, D oerner J,Charafeddine R, et al. ***Curcumin-encapsulated nanoparticles as innovative antimicrobial and wound healing agent.*** J Nanomedicine 2015; 11(1): 195-206.

11- Teow SY, Liew K, Khoo ASB, Peh SC. ***Antibacterial Action of Curcumin against Staphylococcus aureus: A Brief Review***. J Tropical Med 2016; 1-10.

12- Bingchun Li, Xinlong Li, Huancai Lin, Yan Zhou. ***Curcumin as a Promising Antibacterial Agent: Effects on Metabolism and Biofilm Formation in S.*** **mutans,** BioMed Research International 2018, 1-11.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

13- Park BS, Kim JG, Kim MR, Lee SE, et al. ***Curcuma longa L. constituents inhibit sortase A and Staphylococcus aureus cell adhesion to fibronectin.*** J Agric Food Chem 2005; 53(23): 9005-9.

14- Song J, Choi B, Jin EJ, Yoon Y, Choi KH. ***Curcumin suppresses Streptococcus mutans adherence to human tooth surfaces and extracellular matrix proteins.*** Eur J Clinic Microbio Infect 2012; Dis. 31(7):1347-52.

15- Mazzarino L, Travelet Ch, Ortega-Murillo S, Otsuka I, Pignot-Paintrand I. ***Elaboration of chitosan-coated nanoparticles loaded with curcumin for mucoadhesive applications***. J Coll Interf Sci 2012; 370: 58-66.

16- Flora G, Gupta D, Tiwari A. ***Nanocurcumin: a promising therapeutic advancement over native curcumin.*** J Critic RevTherapeu Drug Carrier Sys 2013; 30(4): 331-68.

17- Le MP, Pham VP, Dang TML, La TH, Le T, Le QH. ***Preparation of curcumin-loaded pluronic F127/chitosan nanoparticles for cancer therapy***. Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol 2013; 4: 1-4.

18- Wilpiszewska K, Antosik AK, Spychaj T. ***Novel hydrophilic carboxymethyl starch/ montmorillonite nanocomposite films.*** Carbohydrat Poly 2015; 128: 82-9.

19- Hutchinson JM. ***The application of thermal analysis to the study of epoxy–clay nanocomposites.*** J Therm Anal Calorim 2016; 125(2): 617-28.

20- Marwa Fathy Abdelfattah A. ***Use of alginate/montmorillonite nanocomposites as a drug delivery system for curcumin***. Thesis, American Uni Cairo 2015; 1-93

21- Dos Santosa BR, Britti Bacalhaub F, Santos Pereira Td, Fonseca Souzab C, Faez R. ***Chitosan-Montmorillonite microspheres: A sustainable fertilizer delivery system.*** Carbohydrat Polym 2015; 127: 340-6.

22- Müller CMO, Laurindo JB, Yamashita F. ***Composites of thermoplastic starch and nano clays produced by extrusion and thermo pressing.*** Carbohydrat Poly 2012; 89(2): 504-10.

23- Saikia Ch, Hussain A, Ramteke A, Sharma HK, Maji TK. ***Carboxymethyl starch-chitosan-coated iron oxide magnetic nanoparticles for controlled delivery of isoniazid***. J Microencapsul 2015; 32(1): 29-39.

24- Anitha A, Maya S, Deepa N, Chennazhi KP, Nair SV, Tamura H. ***Efficient water soluble O-carboxymethyl chitosan nanocarrier for the delivery of curcumin to cancer cells***. Carbohydrat. Poly 2011; 83(2): 452-61.

25- Shah BR, Li Y, Jin W, An Y, He L, Li Zh, et al. ***Preparation and optimization of Pickering emulsion stabilized by chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for curcumin entrapment.*** Food Hydrocol 2016; 52: 369-77.

26- Johanna J, Leena N, Lea-Ann K, Calum J, Andrew S, Tim J. ***Identification of a Secreted Cholesterol-Dependent Cytolysin (Mitilysin) from Streptococcus mitis***. J Bacteriol 2007; 189(2): 627-32.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

27- Telma B, Louis G, Denise P, Daniel G. ***Subinhibitory Concentrations of Triclosan Promote Streptococcus mutans Biofilm Formation and Adherence to Oral Epithelial Cells***. PLoS ONE 2014; 9: 1-6.

28- StepanovicS,VukovicD, Dakic I,SavicB,Svabic-Vlahovic M. ***A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation.*** J Microbiol Methods 2000; 40(2):175-9.

29- Nosrati M, Behbahani M. ***In Vitro and in Silico Evaluation of Antibacterial Effect of Methanolic Extracts of Prangos Ferulacea on Single and Biofilm Structure of Streptococcus Mutans.*** J Shahid Sadoughi Uni. Medic. Sci, 2016. 23(11): p. 1049-1062.

30- Su X, Zang G, Xu K, Wang J, Song C, Wang P. ***The effect of MMT/Modified MMT on the structure and performance of the superabsorbent composite***. Poly Bull 2008; 60(1): 69-78.

31- Zheng J, Shan J, Fan Z, Yao K. ***Preparation and properties of gelatin-chitosan/montmorillonite drug-loaded microspheres***. Technol-Mater Sci Ed 2011; 26(4): 628-33.

32- Shah BR, Li Y, Jin W, An Y, He L, Li Zh, Xu W. ***Preparation and optimization of Pickering emulsion stabilized by chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for curcumin encapsulation.*** Food Hydrocol 2016; 52: 369-77.

33- Taebi S, Nosrati M. ***Evaluation of Anti-Bacterial Activity and Biofilm Inhibition of Satureja Khuzestanica Jamzad against Streptococcus Mutans***. Arak Med Uni J (AMUJ) 2017; 19(11): 26-38.

34- Basniwal RK, Buttar HS, Jain VK, Jain N. ***Curcumin Nanoparticles: Preparation, Characterization, and Antimicrobial Study***. J Agricultural Food Chem 2011; 59(5): 2056-61.

35-Othman AH, Noha M, Adham AT, Emad, MH, et al. ***Synthesis and antibacterial activity of novel curcumin derivatives containing heterocyclic moiety.*** Iran J Pharm Res 2013; 12: 47-56.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 26| NO 9 | Dec 2018

Received: 6 May 2018
Accepted: 4 Aug 2018

Preparation and evaluation of antibactrial effect of polysaccharide nanocomposite contains curcumin for prevention of dental bacterial biofilm formation

Shabnam Jahanizadeh[1], Azam Marjani[*2], Fatemeh Yazdian[3], Meisam Omidi[4]

Original Article

Introdution: One of the main reasons of dental caries is the increase in microbial activity in the oral cavity. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) is the main etiological agent in dental caries. The aim of this study was preparation and evaluation bio-nanocomposite Chitosan CS-St-MMT encapsulated with Curcumin fabricated by precipitation and ionic gelation method and antimicrobial effect was investigated.
Methods: The present study was an experimental one. Physiochemical characteristics and structural characterization of nanocomposite were evaluated by the from the perspective of in vitro efficiency, drug release profile, nanocomposite size, zeta potential, surface morphology and FTIR spectra.
Results: The optimal formulation nanocomposites had the average particles size of 35.9 nm and zeta potential 37.2 mV and Curcumin entrapment efficiency of 91%. The maximum release of the drug for this Nanosystem was about 80%, indicated the control of release in the presence of montmorillonite compared with the absence of montmorillonite nanocomposite. In FTIR studies, absorption peak was observed for curcumin, starch, chitosan and montmorillonite in nanocomposites, which indicated the mixing of montmorillonite and curcumin in nanocomposites. Finally, the antibacterial activity of bio nanocomposite against *Streptococcus mutans* was assessed.
Conclusion: Curcumin-loaded bio nanocomposite hindered the formation of biofilm on dental models very effectively, because of the improvement in the encapsulated curcumin stability and increased water solubility.

Keywords: Streptococcus mutans, Polysaccharide nanocomposite, Curcumin, Ionic gelation, Dental caries

Citation: Jahanizadeh SH, Marjani A, Yazdian F, Omidi M. **Preparation and evaluation of antibactrial effect of polysaccharide nanocomposite contains curcumin to prevention of dental bacterial biofilm formation.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2018; 26(9):806 -19

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i9.465]

[1]Department of chemistry, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak,Iran

[2]Department of chemistry, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak,Iran

[3]Department of Life Science Engineering, Faculty of New Science and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran

[4]Protein Research Center, Shahid Beheshti University, GC, Velenjak, Tehran, Iran

***Corresponding author: Tel:** 09163997688, **email:** a-marjani@iau-arak.ac.ir