

Fabrication and Characterization of Nanofibrous Wound Dressings Containing Gentamicin-conjugated Nanoclay

Hadi Samadian^{1*}, Mahnaz Mohammadpour², Soheila Zare³, Zhila Izadi⁴, Sajad Moradi⁵, Hashem Moradi³, Hossein Derakhshankhah^{4*}

¹ Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

² Dept of chemistry, Faculty of Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

³ Student Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

⁴ Pharmaceutical Sciences Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

⁵ Nano Drug Delivery Research Center, Health Technology Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Article Info

Article type:

Research article

Article History:

Received: Jan. 02, 2024

Revised: Feb. 06, 2024

Accepted: Mar. 04, 2024

Published Online: May. 07, 2024

* Correspondence to:

Hadi Samadian

Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Hossein Derakhshankhah

Pharmaceutical Sciences Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Email:

h30samadiyan@gmail.com

derakhshankhah.hossein@kums.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: The development of bioactive wound dressings with high healing efficacy is one of the most important domains in interdisciplinary fields. The objective of the present study was to fabricate and characterize a nanofibrous wound dressing containing gentamicin-conjugated nanoclay.

Material & Methods: First, the interaction between the structure of nanoclays and gentamicin was evaluated based on computer simulation methods and using Gaussian software. Then, the purified nanoclays were conjugated with gentamicin, and the properties of the resulting nanoparticles were analyzed. The synthesized nanocomplex was integrated into the nanofiber structure using the electrospinning method, and the nanofiber wound covering was identified. Finally, the biological properties of nanofiber wound dressing were investigated.

Results: Numerical studies indicated that there were negatively charged oxygen groups on both sides of the nanoclay plates, which could make stable interactions with the positively charged nitrogen in gentamicin, and the drug was well-loaded between pages. The characterization results demonstrated that nanofiber wound dressings had acceptable characteristics in terms of morphology, diameter, wettability, mechanical properties, swelling, and bacterial penetration barrier. These functions provide a suitable environment for wound healing. The addition of gentamicin led to beneficial biological properties for prepared wound dressings, and these nanofibers had acceptable hemocompatibility and biocompatibility.

Discussion & Conclusion: The findings of the present research can be a fundamental step for using the combination of kaolin/polyvinyl alcohol nanofibers containing gentamicin in various fields of pharmaceutical bioengineering, including the production of wound dressings.

Keywords: Nanofiber wound dressing; Gentamycin, Polyvinyl alcohol (PVA), Kaolin, Nanoclay; Gossin

How to cite this paper

Samadian H, Mohammadpour M, Zare S, Izadi Zh, Moradi S, Moradi H, Derakhshankhah H. Fabrication and Characterization of Nanofibrous Wound Dressings Containing Gentamicin-conjugated Nanoclay. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2024;32(1): 83-98.

ساخت و مشخصه‌یابی پوشش زخم نانوفیبری حاوی نانورس‌های کونژوگه‌شده با جنتامایسین

هادی صمدیان^{۱*}، مهناز محمدپور^۲، سهیلا زارع^۳، ژیلایزدی^۴، سجاد مرادی^۵، هاشم مرادی^۳، حسین درخشان‌خواه^۴

^۱ مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۲ گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۳ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

^۴ مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

^۵ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۲

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۴

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸

نویسنده مسئول:

هادی صمدیان

مرکز تحقیقات پزشکی

مولکولی، دانشگاه علوم

پزشکی همدان، همدان، ایران

حسین درخشان‌خواه

مرکز تحقیقات علوم دارویی،

پژوهشکده سلامت، دانشگاه

علوم پزشکی کرمانشاه،

کرمانشاه، ایران

Email:

h30samadiyan@gmail.com

derakhshankhah.hossein@

kums.ac.ir

مقدمه: توسعه زخم‌پوش‌های زیست‌فعال با کارایی ترمیمی بالا یکی از مهم‌ترین حیطه‌های فعالیتی بین‌رشته‌ای است. ساختارهای نانوفیبری ساخته‌شده با روش الکتروسیسی به علت نسبت سطح به حجم بالا، سازگاری زیستی بالا، تخلخل قابل کنترل، قابلیت بارگذاری طیف وسیعی از مواد درمانی، خواص مکانیکی قابل تنظیم و مشابهت به ماتریکس خارج سلولی یکی از گزینه‌های اصلی برای ساخت پوشش‌های زخم هستند؛ بنابراین، هدف از انجام این مطالعه ساخت و مشخصه‌یابی یک زخم‌پوش نانوفیبری بر پایه پلی‌وینیل الکل (PVA) حاوی نانورس (کانولین) کونژوگه (متصل) شده با جنتامایسین است.

مواد و روش‌ها: ابتدا بر پایه روش‌های شبیه‌سازی کامپیوتری و با استفاده از نرم‌افزار گوسین، برهم‌کنش میان ساختار نانورس‌ها (کانولین) و جنتامایسین ارزیابی شد و سپس مراحل آزمایشگاهی انجام گردید: نانورس‌های خالص‌سازی‌شده با جنتامایسین کونژوگه (متصل) شد و خواص نانوذره/داروی حاصل تجزیه و تحلیل گردید. غلظت‌های مختلف نانو کمپلکس سنتز شده (۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی/وزنی) با استفاده از روش الکتروسیسی در ساختار نانوفیبری PVA (۱۰ درصد وزنی/حجمی در آب) ادغام شد و پوشش زخم نانوفیبری مشخصه‌یابی گردید. در پایان، خواص زیستی پوشش زخم نانوفیبری بررسی شد.

یافته‌های پژوهش: مطالعات شبیه‌سازی نشان داد، در هر دو طرف صفحات نانورس‌ها، گروه‌های اکسیژن با بار منفی وجود دارند که قادر هستند به خوبی با نیتروژن‌های باردار مثبت موجود در جنتامایسین برهم‌کنش‌های پایدار برقرار کنند و دارو را به خوبی در میان صفحات بارگیری نمایند. نتایج مشخصه‌یابی نشان داد، زخم‌پوش‌های نانوفیبری خصوصیات قابل قبولی از نظر ریخت‌شناسی، قطر، ترشوندگی، خواص مکانیکی، تورم‌پذیری، زیست‌سازگاری و سد نفوذ باکتری دارند. این ویژگی‌ها باعث می‌شود الیاف‌ها محیط مناسبی را برای بهبود زخم فراهم کنند؛ همچنین اضافه شدن جنتامایسین ویژگی‌های زیستی برجسته‌ای در زخم-پوش‌ها ایجاد کرد.

بحث و نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش می‌تواند گامی اساسی برای استفاده از ساختار نانوفیبرهای PVA حاوی نانورس کونژوگه (متصل) شده با جنتامایسین در زمینه‌های مختلف مهندسی زیست‌مواد دارویی از جمله تولید زخم‌پوش باشد.

واژه‌های کلیدی: زخم‌پوش نانوفیبری، جنتامایسین، پلی‌وینیل الکل، کانولین، نانورس، گوسین

استناد: صمدیان هادی، محمدپور مهناز، زارع سهیلا، ایزدی ژیلای، مرادی سجاد، مرادی هاشم، درخشان‌خواه حسین. ساخت و مشخصه‌یابی پوشش زخم نانوفیبری حاوی نانورس‌های کونژوگه‌شده با جنتامایسین. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، اردیبهشت ۱۴۰۳؛ ۳۲(۱): ۸۳-۹۸



زخم‌ها بسته به حاد یا مزمن بودن، بر پایه طول زمان بهبودی طبقه‌بندی می‌شوند. زخمی که به‌طور طبیعی بهبود می‌یابد، زخم حاد است، درحالی‌که زخمی که در یک مرحله بهبود متوقف می‌شود، به‌عنوان زخم مزمن شناخته می‌گردد (۱، ۲). استفاده از زخم‌پوش مناسب یکی از عوامل مؤثر در بهبود زخم است. مواد پانسمان زخم باید نرم، زیست‌سازگار، غیرسمی و غیر حساسیت‌زا و دارای قابلیت ضدالتهابی باشد (۳، ۱). نانوالیاف‌های الکترورسی به علت داشتن سطح ویژه بزرگ و تخلخل بالا با منافذ کوچک، کارایی بالایی در فرایند ترمیم زخم ارائه می‌دهند. از افزودن عوامل درمانی و دارویی به نانوالیاف‌ها برای افزایش عملکرد پانسمان‌های الکترورسی شده به‌منظور هدف قرار دادن مؤثر انواع زخم استفاده می‌شود. در همین راستا، تحقیقات فراوانی به‌منظور توسعه نانوالیاف الکترورسی برای کمک به بهبود سریع‌تر زخم‌ها و جلوگیری از عفونت‌های باکتریایی انجام شده است (۲-۴). از محاسن این روش امکان افزودن ترکیبات مختلف آلی و معدنی از جمله شیشه‌های زیستی به محلول پلیمری و تولید داربستی ترکیبی است (۵). کائولین یا خاک رس چینی عمدتاً از کائولینیت معدنی و سیلیکات آلومینیوم تشکیل شده است (۶). یافته‌های پیشین حاکی از آن است که کائولین می‌تواند از طریق بارهای منفی روی سطح، به مقدار فراوان بر لخته شدن خون اثر بگذارد (۷)؛ همچنین بررسی رهایش داروی ضدسرطان بارگیری‌شده در کائولین نشان داد که در pH اسیدی، به علت کاهش برهم‌کنش دارو و بار سطح کائولین، سرعت آزادسازی دارو به شکل مؤثری افزایش می‌یابد (۸، ۷). پلیمر پلی‌وینیل الکل (PVA) یک پلیمر پلی‌هیدروکسی است که به علت هیدروفیلیتی بالا، قابلیت پردازش آسان، زیست‌سازگاری مناسب، امکان شکل‌دهی فیلم خوب و مقاومت شیمیایی به‌طور گسترده موردتوجه قرار گرفته است. از PVA به‌سبب نرخ زیست‌سازگاری/زیست‌تخریب‌پذیری مناسب می‌توان در زمینه‌های مختلف پزشکی بهره گرفت (۹). در میان پلیمرهای زیستی مختلفی که وجود دارد، PVA به علت امکان‌پذیری

اتصال به داروها با استفاده از تعداد فراوان گروه‌های هیدروکسیل بسیار موردتوجه قرار دارد (۱۱، ۱۰). جنتامایسین یک آمینوگلیکوزید جداشده از *Micromonospora purpurea* و یک آنتی‌بیوتیک شناخته‌شده بر ضد میکروب‌های گرم منفی است (۱۲). در این مطالعه، هدف ساخت و مشخصه‌یابی یک زخم‌پوش نانوفیبری بر پایه پلیمر PVA حاوی کائولین-جنتامایسین است. علاوه بر کونژوگه (متصل) کردن جنتامایسین با کائولین و مشخصه‌یابی دقیق این کمپلکس با استفاده از روش‌های محاسباتی/شیشه‌سازی کامپیوتری و آزمایشگاهی، ادغام این کمپلکس با ساختار نانوفیبر و استفاده از آن به‌عنوان یک زخم‌پوش است.

مواد و روش‌ها

بررسی برهم‌کنش میان کائولین و جنتامایسین: در ابتدا، ساختار مولکولی ۳ بعدی مربوط به کائولینات از پایگاه داده‌های کریستالی مولکول‌های معدنی (<https://virtual-museum.soils.wisc.edu/display/kaolinite-crystal>) به‌دست آمد و پس از جدا کردن یک تک‌لایه، کمینه‌سازی انرژی و بهینه‌سازی ساختاری آن با استفاده از نرم‌افزار آووگادرو (Avogadro) انجام شد. ساختار مولکولی مربوط به جنتامایسین نیز از پایگاه داده‌ای اطلاعات مولکولی پابکم (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) به‌دست آمد و در آووگادرو، کمینه‌سازی و بهینه‌سازی ساختاری آن انجام گردید. داکینگ مولکولی با استفاده از نرم‌افزار اتوداک ۴- اتوگرید ۴ و به تعداد ۲۰۰ ران تحت الگوریتم ژنتیک لامارکی صورت گرفت. بارهای الکتریکی گارستیگر، هیدروژن‌های قطبی، اتم تاپ‌های میدان نیروی اتوداک و نیز تعریف و تنظیم چرخش‌های پیوندی فعال با استفاده از نرم‌افزار اتوداکتولز بر مولکول‌ها اعمال شدند. با توجه به اینکه اطلاعات مربوط به اتم‌های سیلیسیوم و آلومینیوم در میدان نیروی اتوداک موجود نیستند، یک سلول واحد از کریستال کائولینات جدا گردید و با استفاده از نرم‌افزار گوسین (Gaussian vol.09W D.01)، بارهای اتمی آن به روش NBO محاسبه شد. تابع پایه و روش استفاده‌شده در این قسمت

به ترتیب ۶-۳۱۱G و روش هارتری-فاک بودند.

سنتز کائولین/جنتامایسین: ۵-۴ گرم کائولین در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت دو ساعت حل گردید تا ذرات بزرگتر آن رسوب کند و سپس سوپرناتانت کدر آن به راحتی جدا شد. محلول رویی جدا شده در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد در داخل پتری دیش خشک گردید و پودر حاصل به نسبت ۱ به ۱۰ با جنتامایسین (بر اساس مطالعات پایلوت صورت گرفته) در محیط آبی ترکیب شد. مخلوط پس از هم خوردن در دمای محیط، به مدت ۲۴ ساعت با دور rpm 12000 سانتریفیوژ گردید تا داروی آزاد محلول از داروی کونژوگه شده با کائولین جدا شود. ساختار حاصل با خشک کن سرمایشی خشک شد.

سنتز پوشش زخم نانوفیبری: برای تهیه محلول ۱۰ درصد وزنی/حجمی از PVA، مقدار مناسبی از پلیمر وزن گردید و به ۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. مخلوط حاصل روی استیرر تحت همزنی قرار گرفت تا محلول یکدستی به دست آید. به منظور سنتز محلول پیش ساز الکتروروسی، غلظت های مناسب کمپلکس Kao/Gen به محلول پلیمری اضافه گردید، به صورتی که غلظت دارو در آن ها ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد w/w نسبت به PVA باشد. مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت روی استیرر در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد هم خورد تا محلول شفاف و یکدستی به دست آید. محلول پلیمری به سرنگ ۵ میلی لیتر دارای سرسوزن ۱۸ گیج منتقل و سرنگ در دستگاه جای گیری شد. مؤلفه های دستگاهی شامل ولتاژ اعمالی ۲۰ کیلوولت، فاصله نازل تا جمع کننده ۱۰ سانتی متر و نرخ تزریق پلیمر ۰/۵ میلی لیتر بر دقیقه تنظیم گردید. نانوفیبرها روی فویل آلومینیومی جمع شد و پس از پایان الکتروروسی، از روی فویل آلومینیومی جمع آوری گردید. نانوفیبرها به مدت ۲۴ ساعت تحت بخار گلو تارالدئید کراس لینک شدند (۱۳).

مشخصه یابی نانوفیبرهای سنتز شده؛ بررسی ریخت شناسی نانوفیبرها: مورفولوژی سطح نانوفیبرهای توسط SEM تجزیه و تحلیل شد. برای بررسی مورفولوژی ساختاری نمونه ها و مطالعه ریز ساختار آن ها، از میکروسکوپ الکترونی

روشی مدل HIT-4160-02 استفاده گردید. بدین منظور، پس از الکتروروسی محلول ها، قطعه هایی از نانوالیاف های متصل به فویل آلومینیومی برش داده شدند و پس از پوشش دهی با طلا، عکس برداری از سطح نمونه ها در بزرگ نمایی های مختلف صورت گرفت. برای اندازه گیری قطر نانوفیبرها از نرم افزار Image J استفاده گردید.

پراکندگی نوری دینامیکی (DLS) و اندازه گیری پتانسیل زتا (ZETA): تجزیه و تحلیل DLS یا تفرق نور پویا روشی برای تعیین اندازه ذرات و توزیع آن ها در مایعات است. تجزیه و تحلیل DLS برای بررسی پایداری ابعادی نانوذرات و شدت کلوخه شدن آن ها روش کارآمدی است. به طور معمول، روش DLS برای اندازه گیری توزیع اندازه ذرات بین یک نانومتر تا ۴ میکرومتر استفاده می شود. DLS و پتانسیل زتای کونژوگه نانورس/جنتامایسین در محیط آبی اندازه گیری شد.

مشخصات شیمیایی به وسیله طیف سنجی FTIR: به منظور بررسی ارتعاشات کششی و خمشی، احتمال واکنش های شیمیایی از قبیل پیوندهای هیدروژنی و تأیید حضور جنتامایسین و کائولین در فیبر تهیه شده، طیف های FTIR پلی وینیل الکل، کائولین، جنتامایسین، ترکیب کائولین-جنتامایسین و فیبر تهیه شده توسط دستگاه اسپکتروسکوپی مادون قرمز (Japan Irprestige-2, Shimadzo) ثبت گردید. محدوده اسکن برابر $4000-400\text{ cm}^{-1}$ و دقت اسکن برابر 8 cm^{-1} بود.

ویژگی های آب دوستی-آب گریزی: ویژگی های آب دوستی-آب گریزی (هیدروفیل-هیدروفوب) از طریق اندازه گیری زاویه تماس آب صورت گرفت. اندازه گیری زاویه تماس معمولاً با قطره آب (با حجم ۴ تا ۱۰ میکرولیتر) توسط دستگاهی مجهز به یک دوربین CCD با قابلیت عکس برداری از قطره و دارای نرم افزار سنجش زاویه تماس قطره با سطح مدنظر انجام می شود.

میزان جذب آب: برای محاسبه ظرفیت جذب آب از معادله زیر استفاده گردید (۱۴) که ظرفیت پانسمان زخم را برای جذب ترشحات زخم نشان می دهد. W_0 وزن نمونه های

خشک و W1 وزن نمونه‌ها پس از غوطه‌وری در PBS در دمای اتاق است.

$$\text{water uptake}(\%) = \frac{W_1 - W_0}{W_0} \times 100\% \quad (1)$$

استفاده از کشت سلول‌های فیروبلاست بر روی ساختارهای تهیه‌شده، میزان زنده‌مانی سلول‌ها در ۲۴ و ۷۲ ساعت بررسی شد. داربست‌ها قبل از کشت، به مدت ۲۰ دقیقه با اشعه فوق بنفش (UV) استریل گردید؛ سپس داربست‌ها در خانه‌های یک پلیت ۹۶ خانه‌ای قرار داده شد. از سلول‌ها پس از شمارش، تعداد 5×10^3 سلول در هر خانه روی نانوفیبرهای درون پلیت کشت گردید. خانه‌های محتوی سلول بدون داربست به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد.

خون‌سازگاری: همولیز ناشی از نانوالیاف آماده‌شده به‌عنوان نشانه‌ای از خون‌سازگاری ارزیابی گردید، به این صورت که ۲ میلی‌لیتر خون تازه (انسانی) حاوی ضدانعقاد با ۲/۵ میلی‌لیتر PBS رقیق شد. نمونه‌های نانوفیبر پانچ‌شده درون میکروتیوپ قرار گرفت و با ۲۰۰ میکرولیتر خون رقیق‌شده انکوبه گردید؛ سپس نمونه‌ها سانتریفیوژ و جذب آن‌ها در ۵۴۵ نانومتر با استفاده از میکروپلیت ریدر (BioTek Synergy 2 Multi-Mode Microplate Reader) خوانده شد. درصد همولیز با استفاده از معادله شماره ۲ محاسبه گردید.

$$\text{Hemolysis}(\%) = \frac{D_t - D_{nc}}{D_{pc} - D_{nc}} \times 100\% \quad (2)$$

ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و قطر هاله ایجادشده ارزیابی گردید.

پروپوزال این مطالعه، توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه مورد تایید قرار گرفته است (کد اخلاق IR.KUMS.REC.1399.377).

یافته‌های پژوهش

مشخصات نانورس: همان‌طور که در شکل شماره ۱ نشان داده‌شده است، مقادیر بار سطحی و اندازه کاتولین پس از برهم‌کنش با جنتامایسین کمتر شده است که نشان می‌دهد، جنتامایسین در لابه‌لای کاتولین قرار گرفته و تا حدی باعث پراکندگی کاتولین شده و از قرار گرفتن آن‌ها در کنار هم جلوگیری کرده و در نتیجه، باعث کاهش اندازه ذرات شده است (۱۶، ۱۷). همان‌طور که در شکل شماره C1- نشان

خواص مکانیکی: خواص مکانیکی نانوالیاف بر اساس روش مقاومت کششی مطابق با روش‌های استاندارد به‌وسیله دستگاه تست کشش تک‌محوری (Santam, Karaj, Iran) با سرعت کشش یک میلی‌متر در دقیقه انجام شد. از هر نمونه نانوالیاف، ۳ قطعه در ابعاد 3×1 سانتی‌متر برش داده شد؛ سپس توسط دستگاه تحت کشش قرار گرفت و نتایج از طریق نرم‌افزار استخراج گردید.

رهايش دارو: نمونه‌ها (PVA/Kao/Gen 5, 10, 15%) به وزن تقریبی ۲۵ میلی‌گرم به‌صورت جداگانه در ظرف‌های حاوی بافر PBS قرار داده شدند. نمونه‌برداری در زمان‌های مختلف (۱۵، ۳۰ دقیقه و ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۱۸، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت) انجام گرفت. میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV/Vis در طول موج ۲۷۰ نانومتر سنجیده شد.

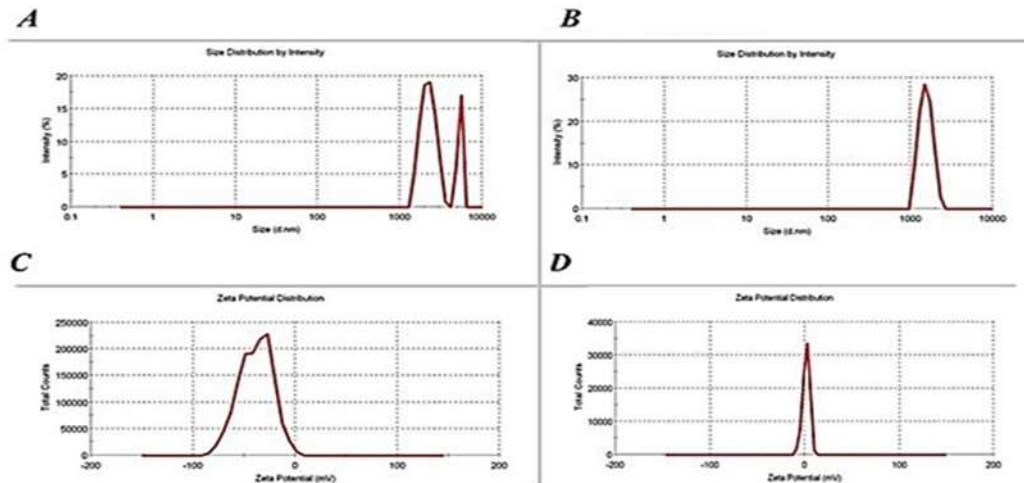
بررسی‌های زیستی؛ زیست‌سازگاری: میزان رشد سلول‌های فیروبلاست (موجود در بانک سلولی گروه) با استفاده از تست MTT ارزیابی گردید، بدین‌صورت که با

در این معادله، Dt جذب نمونه و Dnc جذب کنترل منفی (خون بررسی شده با PBS) و Dpc جذب کنترل مثبت (خون لیزشده با آب) است (۱۵).

خاصیت ضد میکروبی: خاصیت ضد میکروبی نانوفیبرها با استفاده از روش انتشار در حفره آگار انجام گرفت. در این روش، از کشت ۲۸ ساعته سویه استاندارد باکتری سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 27852) و اشرشیاکلی (ATCC 25922) در سرم فیزیولوژی استریل، سوسپانسیون معادل با کدورت ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی روی محیط کشت مولر هیتون آگار چکانیده و بر روی محیط گسترش داده شد. چاهک‌های به قطر ۱ میلی‌متر در محیط آگار ایجاد گردید. نانوفیبرهای تشکیل‌شده در چاهک‌ها قرار گرفتند؛ سپس به مدت ۲۴

کردن آن و قرار گرفتن این ماده روی کاتولین، بار سطحی آن‌ها پوشانده و بار کاتولین مثبت می‌شود.

داده شده است، بار کاتولین پیش و پس از جذب جنتامایسین تغییر کرده است، به طوری که پیش از اضافه کردن جنتامایسین، بار سطحی کاتولین منفی است؛ اما پس از اضافه



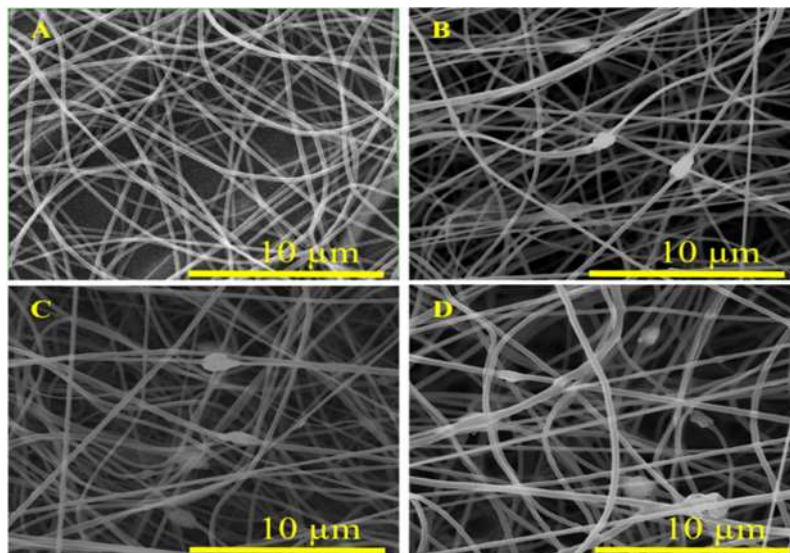
شکل شماره ۱. مشخصات نانورس پیش و پس از کونژوگاسیون با دارو. اندازه شعاع هیدرودینامیکی (A-1) پیش و (B-1) پس از کونژوگاسیون با جنتامایسین؛ اندازه پتانسیل زتا (C-1) پیش و (D-1) پس از کونژوگاسیون با جنتامایسین

علت افزودن کاتولین-جنتامایسین نسبت داد (۱۸، ۲). بر اساس نتایج میکروسکوپ الکترونی ترکیب PVA تنها بیانگر سطحی صاف و یکنواخت هستند و ساختارهای پیوسته و یکنواخت در فبر این ترکیب مشاهده می‌شود که بدون دانه هستند و قطر یکنواختی دارند. این مسئله تأیید کننده این مطلب است که غلظت‌های انتخاب شده گرانیوی کافی دارند و زنجیرهای پلیمر درگیری خوبی با یکدیگر داشته‌اند که به تشکیل نشدن دانه در فیبرها منجر شده است (۲۰، ۱۹)..

مشخصات ساختاری نانوفیبرهای سنتز شده: برای بررسی ریزساختار و اندازه گیری قطر نانوالیاف، تصاویر SEM از نمونه‌ها تهیه شد. در شکل شماره ۲، تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی فیبرهای تشکیل شده نشان داده شده است. نتایج اندازه گیری قطر نانوالیاف‌ها با نرم‌افزار Image J در جدول شماره ۱ آمده است که نشان می‌دهد، میانگین قطر نانوالیاف به ترتیب با افزایش مقدار کاتولین/جنتامایسین از ۵ درصد به ۱۵ درصد وزنی، روند افزایشی نشان می‌دهد. این افزایش قطر را می‌توان به افزایش ویسکوزیته محلول پلیمر به

جدول شماره ۱. میانگین قطر نانوالیاف‌ها (نانومتر)

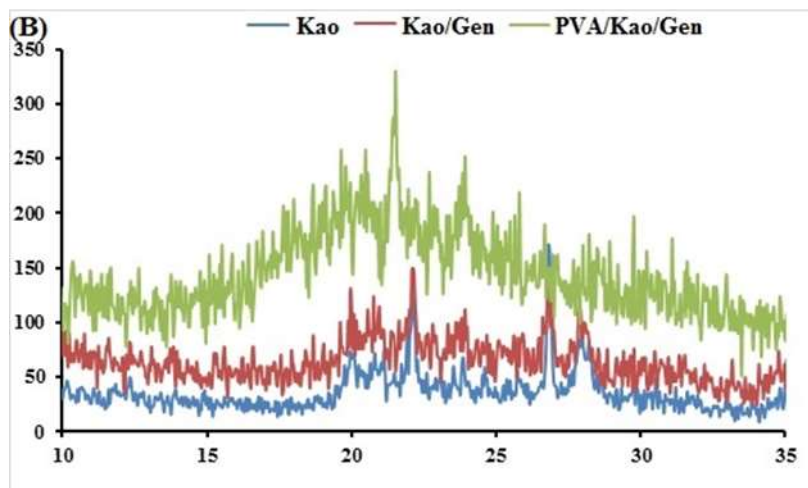
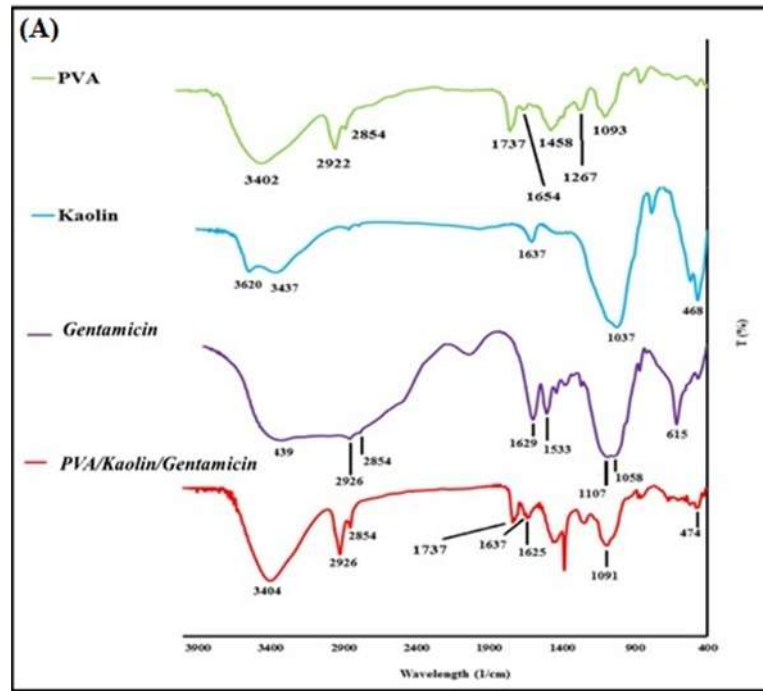
PVA	PVA/Kao/Gen 5%	PVA/Kao/Gen 10%	PVA/Kao/Gen 15%
۲۱۹/۳۰±۶۷/۴	۱۶۷/۲۹±۶۷/۶۳	۱۸۸/۶±۵۷/۶۴	۲۰۴/۴۴±۳۷/۷۳



شکل شماره ۲. تصاویر SEM فیبرهای تهیه‌شده. A. PVA؛ B. PVA/Kao-drug 5%؛ C. PVA/Kao-drug 10% و D. PVA/Kao-drug 15%

ارتعاشات خمشی گروه Si-O-Si در کائولین است. حضور پیک‌هایی در 475 cm^{-1} ، 874 ، 1637 ، 1629 ، 3404 و 2500 - 3650 (مربوط به گروه‌های Si-O-Si، C-O، Si-O، N-H و OH) در طیف نانوفیبر یکی از عوامل تأییدکننده است که PVA، کائولین و جنتامایسین واکنش شیمیایی باهم ندارند و این ترکیبات به صورت فیزیکی در نانوفیبر تهیه‌شده بارگذاری شده‌اند. ساختار کریستالی کائولین، کائولین کونژوگه‌شده با دارو و ساختار نانوفیبر توسط تکنیک XRD ارزیابی گردید و نتایج در شکل شماره ۳ ارائه شده است. همان‌طور که مشخص است، کائولین ساختار کریستالی دارد و کونژوگاسیون آن با دارو باعث جابجایی محل پیک‌ها و تغییر شدت آن‌ها شده است.

داده‌های طیف FTIR مربوط به ترکیبات PVA، کائولین و جنتامایسین خالص در مقایسه با نانوفیبر سنتز شده در شکل شماره ۳ نشان داده شده است. در طیف مربوط به فیبر همه پیک‌های ارتعاشی کششی و خمشی مربوط به ترکیبات PVA، کائولین و جنتامایسین دیده می‌شود. پیک پهن در ناحیه 2500 - 3600 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی گروه OH در PVA، کائولین و جنتامایسین است. پیک‌های شاخص ناحیه 3404 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی گروه N-H و پیک‌های شاخص ناحیه 1625 cm^{-1} ، 1540 و 1246 مربوط به ارتعاشات کششی و خمشی گروه‌های آمید نوع اول، دوم و سوم جنتامایسین است. پیک‌های 1091 cm^{-1} و 1029 مربوط به ارتعاش کششی گروه -C-O- در PVA، جنتامایسین و



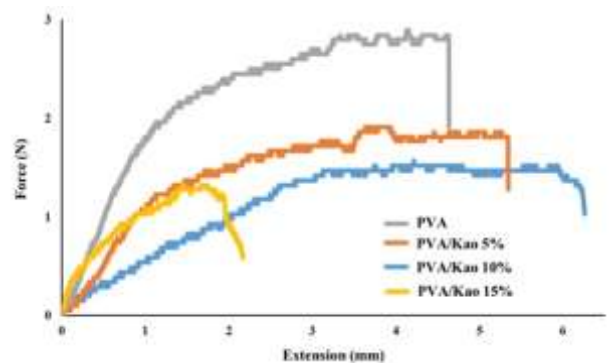
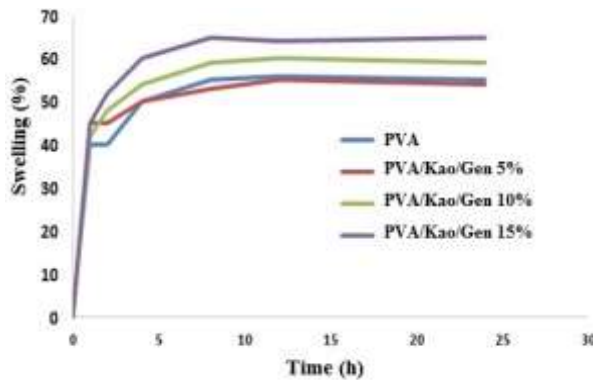
شکل شماره ۳. A. طیف FT-IR ترکیبات PVA، کائولین، جنتامایسین و PVA/Kao/Gen؛ B. نتایج XRD کائولین خالص، کائولین کونژوگه شده با دارو و ساختار نانوفیبری نهایی

افزایش غلظت کائولین/جنتامایسین باشد. با توجه به نتایج به دست آمده می توان نتیجه گرفت که پوشش های زخم آماده شده قادر به جذب ترشحات زخم هستند. به نظر می رسد، ساختار کائولین اجازه جذب آب بیشتر را فراهم ساخته است. خواص مکانیکی: خصوصیات مکانیکی نانوالیاف تهیه شده بر اساس روش مقاومت کششی ارزیابی گردید و نتایج در شکل شماره ۴. ب ارائه شده است. نتایج نشان داد که مقدار مقاومت نهایی در برابر کشش برای نانوالیاف PVA حدوداً ۳ مگاپاسکال است و با افزودن کائولین/جنتامایسین،

میزان جذب آب: جذب مواد ترشحاتی زخم یکی از مهم ترین موارد برای پوشش زخم است. میزان جذب آب نانوالیاف تهیه شده با روش بررسی تورم پذیری اندازه گیری و نتایج در شکل شماره ۴. الف ارائه شده است. میزان جذب آب نانوالیاف PVA بدون کائولین $42/28 \pm 19/87$ درصد و با افزودن کائولین با غلظت های ۵ درصد، ۱۰ درصد و ۱۵ درصد به ترتیب به $43/14 \pm 19/45$ ، $46 \pm 21/34$ و $50/14 \pm 23/36$ درصد افزایش یافت. مقادیر مشاهده شده افزایش جذب آب می تواند مربوط به افزایش میزان آب دوستی نانوالیاف با

به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد؛ همچنین مشاهده شد که کشش نانوالیاف با افزودن کائولین/جنتامایسین افزایش

می‌یابد.



الف

ب

شکل شماره ۴. الف. میزان درصد تورم‌پذیری ساختار نانوفیبری؛ ب. نتایج آزمایش استحکام کششی نانوفیبرهای سنتز شده.

درصد، ۱۰ درصد و ۱۵ درصد کائولین/جنتامایسین باعث کاهش این زاویه می‌گردد. زاویه تماس آب می‌تواند هرگونه تغییری در آب‌دوستی غشا را نشان دهد (۲۱، ۱) و هرچه مقدار آن کمتر باشد، نشان‌دهنده آب‌دوست‌تر بودن غشا است (۲۲)، (۲).

تجزیه و تحلیل ترشوندگی: در مطالعه حاضر، ترشوندگی نانوالیاف تهیه شده بر اساس روش اندازه‌گیری زاویه تماس آب ارزیابی گردید و نتایج در جدول شماره ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که زاویه تماس برای نانوالیاف PVA برابر با 65 ± 4 درجه است که اضافه شدن غلظت‌های ۵

جدول شماره ۲. نتایج ترشوندگی نانوالیاف (زاویه تماس آب)

نمونه	زاویه تماس آب ($^{\circ}$)
PVA	4 ± 65
PVA/Kao/Gen 5%	5 ± 55
PVA/Kao/Gen 10%	3 ± 40
PVA/Kao/Gen 15%	5 ± 35

درصد است. نمودار فیبر 5% PVA/Kao/Gen پس از ۲۴ ساعت، به حالت مسطح درمی‌آید. محور رهایش دارو نانوفیبر PVA/Kao/Gen 10% در هجدهمین ساعت، به حالت اشباع می‌رسد و این مرحله برای نانوفیبر 15% PVA/Kao/Gen در زمانی کمتر از ۱۸ ساعت است.

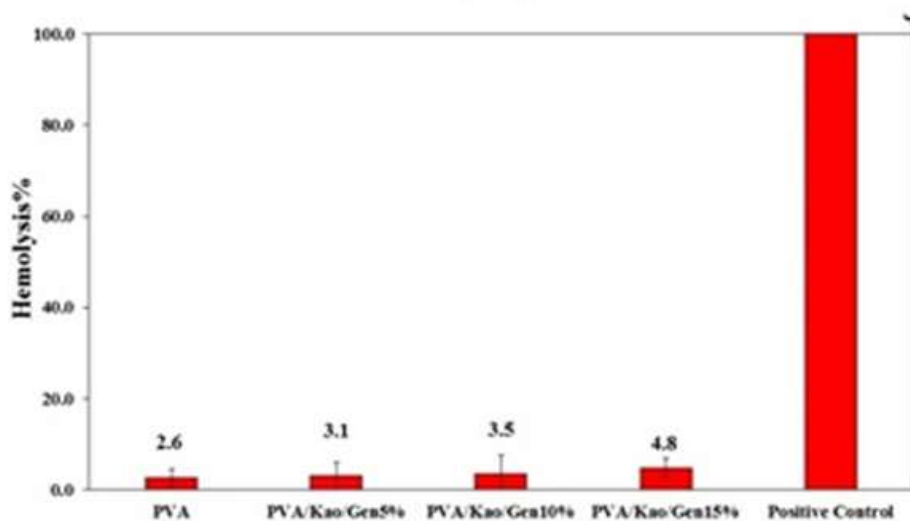
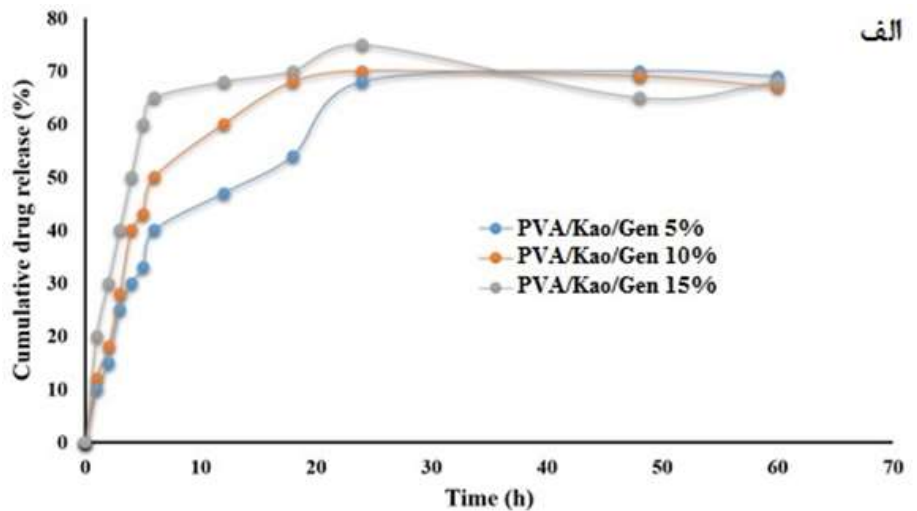
خون‌سازگاری: همولیز ناشی از نانوالیاف به‌عنوان نشانه‌ای از سازگاری خون ارزیابی گردید. همان‌طور که در شکل شماره ۵. ب نشان داده شده است، نانوالیاف باعث

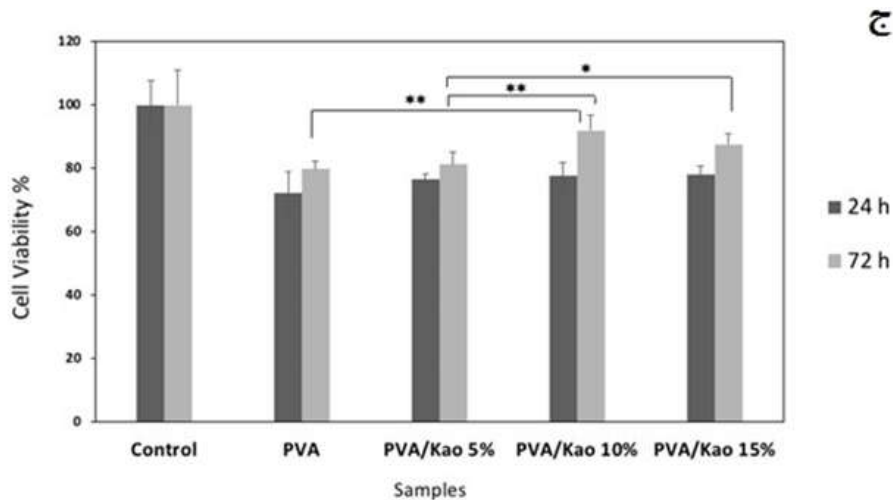
نتایج رهایش دارو: همان‌طور که در شکل شماره ۵. الف مشاهده می‌شود، با افزایش میزان کائولین/جنتامایسین، میزان رهایش دارو نیز افزایش می‌یابد. طی ۱۰ ساعت اول، در هر سه غلظت کائولین/جنتامایسین رهایش سریع و تقریباً انفجاری است، به‌طوری‌که ظرف مدت ۱۲ ساعت، فیبر حاوی 5% Kao/Gen حدود ۴۸ درصد از دارو لود شده را آزاد می‌کند. درصد رهایش طی همین مدت برای فیبرهای حاوی 10%، 15% Kao/Gen به ترتیب معادل ۶۰ درصد و ۶۹

همولیز چشمگیری نمی‌شوند و مقدار همولیز مشاهده‌شده کمتر از کنترل مثبت و کمتر از ۵ درصد است. علاوه بر این، مشاهده شد که افزایش غلظت کائولین/جتتامایسین به میزان اندکی همولیز را افزایش می‌دهد.

نتایج بررسی سازگاری سلولی: سازگاری سلولی نانوالیاف سنتز شده حاوی کائولین/جتتامایسین به روش MTT ارزیابی گردید. در بازه زمانی ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از کشت سلول‌ها روی نانوالیاف، سلول‌ها سازگاری کمتری در مقایسه با گروه کنترل داشتند. کاهش زنده‌مانی سلول‌ها در ۲۴ ساعت اولیه، مدت زمانی است که سلول‌ها برای سازگاری با شرایط جدید نیاز دارند؛ اما پس از گذشت ۷۲ ساعت، میزان

سازگاری سلول‌ها با نانوالیاف در همه گروه‌ها افزایش داشت و افزایش غلظت کائولین/جتتامایسین سبب افزایش درصد زنده‌مانی سلول‌ها و سازگاری بیشتر نانوالیاف گردید. همان‌طور که در شکل شماره ۵، ج نشان داده شده است، در گروه کائولین/جتتامایسین ۱۰ درصد، در مقایسه با دو گروه کائولین/جتتامایسین ۵ و ۱۵ درصد و گروه نانوالیاف بدون کائولین/دارو، با معنی‌داری بالایی ($P < 0.01$)، درصد زنده‌مانی سلولی بالاتری دیده می‌شود؛ همچنین در گروه کائولین ۱۵ درصد نیز میزان زنده‌مانی سلول‌ها تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) با گروه کائولین ۵ درصد و گروه پلیمر خالص ارائه می‌دهد.

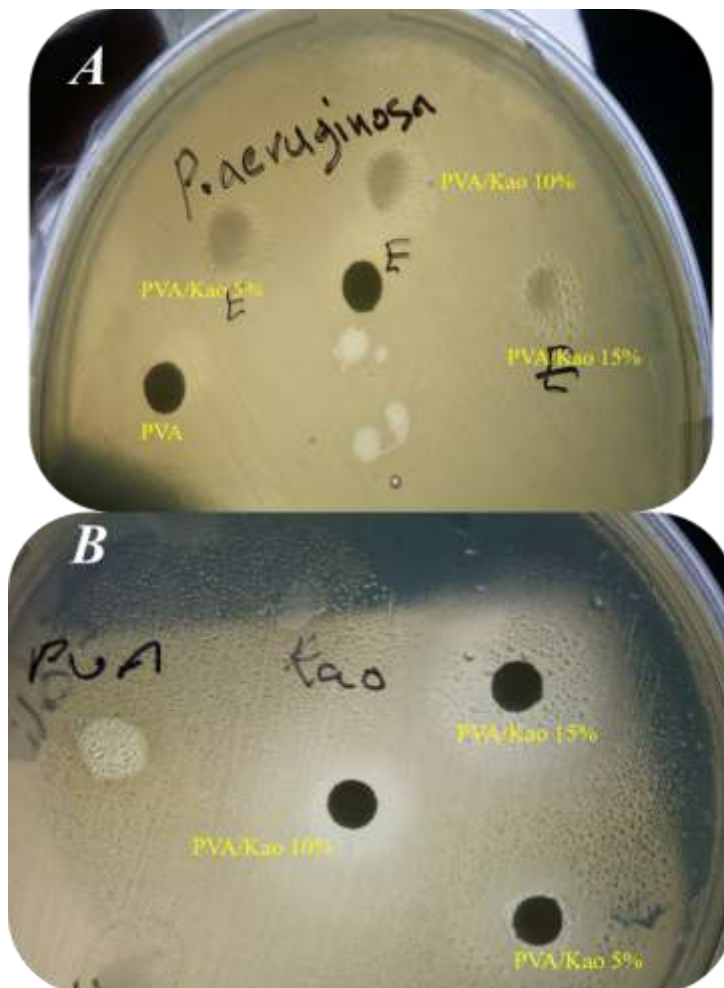




شکل شماره ۵. الف. نتایج رهایش دارو از ساختار نانوفیبر؛ ب. درصد همولیز ناشی از نانوالیاف (کنترل مثبت، سلول‌های RBC لیز شده با آب مقطر)؛ ج. درصد زنده‌مانی سلول‌ها در مواجهه با نانوالیاف (گروه کنترل سلول‌های بدون تیمار هستند)؛ * $P < 0.05$ و * $P < 0.01$

سودوموناس آیروژنوزا است (شکل شماره ۶). از سویی، نانوفیبر 15% PVA/Kao/Gen هاله عدم رشد بیشتری نسبت به سایر نانوفیبرها در برابر باکتری اشرشیاکلی نشان داد.

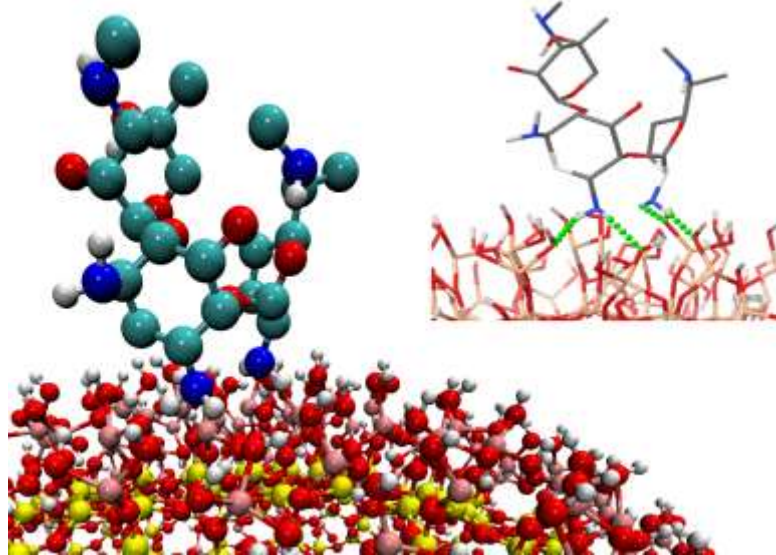
ارزیابی میکروبی: نتیجه آزمون ضد میکروبی در مقابل دو باکتری گرم منفی سودوموناس آیروژنوزا و اشرشیاکلی نشان داد که به‌طور کلی، تأثیر نانوفیبرهای PVA/Kao/Gen روی باکتری اشرشیاکلی مؤثرتر از باکتری



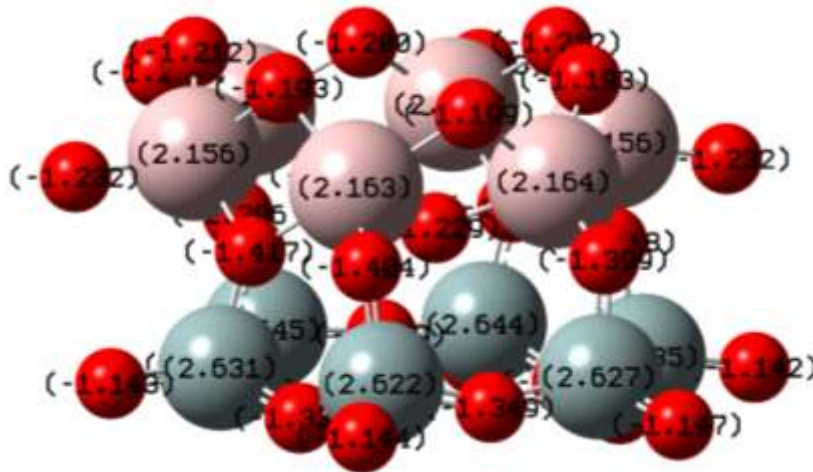
شکل شماره ۶. خاصیت آنتی‌بیوتیکی نانوالیاف بر (A) باکتری Pseudomonas aeruginosa و (B) باکتری E.Coli

داکینگ: نتایج تجزیه و تحلیل محاسباتی داکینگ مولکولی در شکل شماره ۷ آورده شده است. در موافقت با سایر نتایج به دست آمده از روش های آزمایشگاهی، مولکول جنتامایسین به علت داشتن گروه های N با بار مثبت و حضور گروه های اکسیژن با بار منفی در دو طرف صفحات

الف



ب



شکل شماره ۷. الف. نتایج تجزیه و تحلیل داکینگ میان مولکول کائولینات با داروی جنتامایسین (نقطه چین سبز مربوط به پیوندهای هیدروژنی است)؛ ب. بارهای محاسبه شده برای اتم های کائولینات با استفاده از روش NBO در نرم افزار محاسبات کوانتومی گوسین

بحث و نتیجه گیری

هدف از این کار تعریف فرمول پلی وینیل الکل / کائولین / جنتامایسین بود که ترکیب کائولین / جنتامایسین به غلظت های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی / وزنی در پلیمر PVA

توزیع می شود. بر اساس محاسبات، به علت جهت گیری مناسب گروه های N و O در دو ماده، امکان برهم کنش مؤثر جنتامایسین و کائولینات و نفوذ دارو در کائولین تأیید می گردد. از شکل شماره ۱ و داده های تجزیه و تحلیل DLS

کائولینات، به خوبی قادر به برهم کنش پایدار با این مولکول است؛ همچنین وجود گروه های N در دو سوی جنتامایسین امکان نفوذ مؤثر دارو در میان صفحات و برقراری اتصال پایدار با هر دو طرف کائولینات را ایجاد می کند.

مفید باشد (۲۸). حضور نانوذرات Kao/Gen در نانوفیبرها استحکام کششی نانوفیبر را کاهش، اما کشش و کشسانی را افزایش می‌دهد. این رفتار را می‌توان به تغییرات قطر نمونه‌ها در حضور کائولین/جنتامایسین نسبت داد. هنگامی که قطر الیاف کوچک‌تر است، ساختارهای لایه‌ای و لینی بهتر در امتداد محور الیاف قرار می‌گیرند و این امر بر استحکام کششی نمونه تأثیر مثبتی می‌گذارد (۲۹). این مسئله موجب افزایش انعطاف‌پذیری نانوالیاف‌ها و استفاده راحت‌تر از آن‌ها به‌عنوان پانسمان زخم می‌شود.

با توجه به نتایج رهایش دارو، سرعت آزادسازی دارو از نانوالیاف حاوی ۱۰ درصد وزنی کائولین/جنتامایسین از نانوفیبرهای دیگر منطقی‌تر به‌نظر می‌رسد. نظر به اینکه نرخ رهایش بهینه دارو پانسمان با سرعت انفجاری و سرعت بسیار کند مطلوب نیست، این غلظت از کائولین/جنتامایسین می‌تواند بهینه‌ترین حالت باشد (۳۰). بررسی‌های سازگاری سلول‌های خونی و فیروبلاستی زیست‌سازگاری و عدم سمیت همه نانوالیاف‌ها را برای سلول‌ها در شرایط برون‌تنی تأیید کرد. درنهایت، فعالیت ضدباکتریایی ساختارهای ایجادشده، در شرایطی که نانوفیبر لودنشده با کائولین/جنتامایسین هیچ فعالیت ضدباکتریایی نشان نداد، یک ویژگی بسیار مهم و کاربردی در تهیه نانوالیاف‌های زخم‌پوش محسوب می‌شود.

با توجه به نتایج مطالعات شبیه‌سازی کامپیوتری، مشخصه‌یابی‌های آزمایشگاهی و ارزیابی‌های انجام‌شده در محیط برون‌تنی می‌توان نتیجه گرفت، نانوفیبرهای PVA/Kao حاوی جنتامایسین پتانسیل بهره‌گیری در مهندسی بافت به‌عنوان زخم‌پوش را دارند. یافته‌های این پژوهش می‌تواند گامی اساسی برای استفاده از ترکیب نانوفیبرهای PVA/Kao حاوی جنتامایسین در زمینه‌های مختلف مهندسی زیست دارویی از جمله تولید زخم‌پوش باشد.

سپاس‌گزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دکتری عمومی داروسازی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه است. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه

و پتانسیل زتا، تغییر اندازه و بار ذرات کائولین پس از ترکیب با جنتامایسین و کاهش اندازه ذرات کائولین نفوذ جنتامایسین به درون لایه‌های آن را نشان می‌دهد (۱۷، ۱۶). افزایش مقدار پتانسیل زتای ذرات پس از پوشش‌دهی از طریق افزایش دافعه میان ذرات، منجر به کاهش ناپایداری فیزیکی و همچنین از طریق ایجاد یک لایه در اطراف ذرات، مانع رهایش انفجاری دارو می‌شود (۲۴، ۲۳). با اضافه کردن مقدار کائولین/جنتامایسین به پلیمر، قطر نانوالیاف افزایش یافت؛ همچنین از ترکیب پلیمر با نانوذرات کائولین/جنتامایسین، فیبرهای گره‌دار در کنار الیاف‌های صاف تشکیل می‌گردد. در فرایند الکتروروسی، اگر غلظت محلول فراوان باشد، مخلوطی از الیاف یکنواخت و الیاف دانه‌دار ایجاد می‌شود. در واقع، غلظت بالای نانوسر/دارو در محلول موجب افزایش قطبیت و ثابت دیالکتریک در محلول و به‌تبع آن، تبخیر سریع‌تر حلال می‌گردد و زمان لازم برای کشش نانوالیاف فراهم نمی‌شود. ضمناً افزایش مقدار کائولین سبب افزایش گرانی محلول نانوالیاف می‌گردد که نیروی کشش کمتری بر الیاف اعمال می‌شود و موجب افزایش نیروی ویسکوالاستیک در فرایند الکتروروسی می‌گردد؛ از این رو، قطر الیاف افزایش می‌یابد (۲۶، ۲۵). در طیف FTIR نانوالیاف PVA/Kao/Gen، پیک‌های مربوط به گروه‌های عاملی هر سه جزء بدون جابه‌جایی شیمیایی قابل توجهی دیده می‌شود که بیان‌کننده ترکیب فیزیکی آن‌ها در ساختار نانوالیاف است؛ اما کاهش شدت این پیک‌ها تأییدکننده تشکیل پیوند هیدروژنی NH دارو با OH کائولین و PVA است. الگوی XRD کائولین یک ساختار کریستالی را برای آن نشان می‌دهد. پس از ترکیب این نانوذره با دارو، کاهش شدت پیک‌ها دلیل دیگری مبنی بر کانژوگ شدن آن‌ها است. حداکثر ترشوندگی موقعی اتفاق می‌افتد که زاویه $\theta=0$ باشد و عدم ترشوندگی در زاویه بیشتر از 90° ($\theta \geq 90$) رخ می‌دهد (۲۷، ۱). با افزودن کائولین/جنتامایسین و افزایش غلظت آن‌ها، نانوالیاف‌ها آب‌دوست‌تر می‌شوند که منجر به افزایش جذب آب به داخل ساختار آن‌ها می‌گردد که به‌سبب توانایی جذب ترشحات و حفظ رطوبت بستر زخم می‌تواند برای کاربردهای ترمیم زخم

علوم پزشکی کرمانشاه به سبب حمایت‌های مالی تقدیر و تشکر می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ تضاد منافع احتمالی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

کد اخلاق

پروپوزال این مطالعه، توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه مورد تایید قرار گرفته است (کد اخلاق IR.KUMS.REC.1399.377)

مشارکت نویسندگان

هادی صمدیان و حسین درخشان خواه: تعریف پروژه، مدیریت پروژه، نظارت، کسب بودجه و اعتبار سنجی مهناز محمدپور، سهیلا زارع و هاشم مرادی: مفهوم سازی، مدیریت داده‌ها، تحلیل رسمی، تحقیق و بررسی، روش شناسی، اعتبار سنجی، نوشتن پیش نویس اصلی، نوشتن مقاله و بررسی و ویرایش مقاله.

ژیلا ایزدی: مفهوم سازی، روش شناسی، تحلیل و بررسی داده‌ها، آزمایشات سلولی و باکتریایی
سجاد مرادی: اجرای نرم افزارها و محاسبات کامپیوتری

همه نویسندگان مقاله را بررسی، ویرایش و اصلاح کردند.

References

- Gholivand K, Mohammadpour M, Alavinasab Ardebili SA, Eshaghi Malekshah R, Samadian H. Fabrication and examination of polyorganophosphazene/polycaprolactone-based scaffold with degradation, in vitro and in vivo behaviors suitable for tissue engineering applications. *Sci Rep* 2022;12:18407. doi: 10.1038/s41598-022-18632-8.
- Samadian H, Zamiri S, Ehterami A, Farzamfar S, Vaez A, Khastar H, et al. Electrospun cellulose acetate/gelatin nanofibrous wound dressing containing berberine for diabetic foot ulcer healing: In vitro and in vivo studies. *Sci Rep* 2020;10:8312. doi: 10.1038/s41598-020-65268-7.
- Azimi B, Maleki H, Zavagna L, De la Ossa JG, Linari S, Lazzeri A, et al. Bio-based electrospun fibers for wound healing. *J Funct Biomater* 2020;11:67. doi: 10.3390/jfb11030067.
- Chen K, Hu H, Zeng Y, Pan H, Wang S, Zhang Y, et al. Recent advances in electrospun nanofibers for wound dressing. *Eur Polym J* 2022;111490. doi:10.1016/j.eurpolymj.2022.111490
- Meng Z, Zheng W, Li L, Zheng Y. Fabrication, characterization and in vitro drug release behavior of electrospun PLGA/chitosan nanofibrous scaffold. *Mater Chem Phys* 2011;125:606-11. doi:10.1016/j.matchemphys.2010.10.010.
- Pohl W. *Economic geology: principles and practice : metals, minerals, coal and hydrocarbons - introduction to formation and sustainable exploitation of mineral deposits.* UK: Wiley-Blackwell. 2011;658. doi:10.1007/s00710-021-00754-y.
- Tamer TM, Sabet MM, Omer AM, Abbas E, Eid AI, Mohy-Eldin MS, et al. Hemostatic and antibacterial PVA/Kaolin composite sponges loaded with penicillin-streptomycin for wound dressing applications. *Sci Rep* 2021;11:342. doi:10.1038/s41598-021-82963-1.
- Katti KS, Jasuja H, Jaswandkar SV, Mohanty S, Katti DR. Nanoclays in medicine: a new frontier of an ancient medical practice. *Mate Adv* 2022;3:7484-500. doi: 10.1039/d2ma00528j.
- Valiani A, Samadi A, Hashemibeni B, Rafieinia M. Preparation of fibrin/polyvinyl alcohol nanofiber scaffold by electrospinning method for use in tissue engineering. *J Isfahan Med School* 2016;34:737-44.
- Yang E, Qin X, Wang S. Electrospun crosslinked polyvinyl alcohol membrane. *Mater Lett* 2008;62:3555-7. doi:10.1016/j.matlet.2008.03.049.
- Li X, Kanjwal MA, Lin L, Chronakis IS. Electrospun polyvinyl-alcohol nanofibers as oral fast-dissolving delivery system of caffeine and riboflavin. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2013;103:182-8. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.10.016.
- Conway H, Dix KJ, McDonald JD, Miller RA, Wall HG, Wolff RK, et al. Comparison of inhalation toxicity studies of gentamicin in rats and dogs. *Inhal Toxicol* 2013;25:714-24. doi: 10.3109/08958378.2013.843043.
- Hulupi M, Haryadi H. Synthesis and characterization of electrospinning PVA nanofiber-crosslinked by glutaraldehyde. *Mater* 2019;13:199-204. doi:10.1016/j.matpr.2019.03.214.
- Çay A, Miraftab M, Kumbasar EPA. Characterization and swelling performance of physically stabilized electrospun poly (vinyl alcohol)/chitosan nanofibres. *Eur Polym J* 2014;61:253-62. doi:10.1016/j.eurpolymj.2014.10.017.
- Ehterami A, Salehi M, Farzamfar S, Vaez A, Samadian H, Sahraeyma H, et al. In vitro and in vivo study of PCL/COLL wound dressing loaded with insulin-chitosan nanoparticles on cutaneous wound healing in rats model. *Int J Biol Macromol* 2018;117:601-9. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.05.184.
- Derakhshankhah H, Hosseini A, Taghavi F, Jafari S, Lotfabadi A, Ejtehadi MR, et al. Molecular interaction of fibrinogen with zeolite nanoparticles. *Sci Rep* 2019;9:1558. doi:10.1038/s41598-018-37621-4.
- Mohammadpour M, Samadian H, Moradi N, Izadi Z, Eftekhari M, Hamidi M, et al. Fabrication and characterization of nanocomposite hydrogel based on alginate/nano-hydroxyapatite loaded with linum usitatissimum extract as a bone tissue engineering scaffold. *Mar Drugs* 2021;20:20. doi: 10.3390/md20010020.
- Salami MS, Bahrami G, Arkan E, Izadi Z, Miraghaee S, Samadian H. Co-electrospun nanofibrous mats loaded with bitter melon (*Momordica charantia*) extract as the wound dressing materials: In vitro and in vivo study. *BMC complement Med Ther* 2021;21:1-12. doi: 10.1186/s12906-021-03284-4.
- Keshavarz S, Okoro OV, Hamidi M, Derakhshankhah H, Azizi M, Nabavi SM, et al. Synthesis, surface modifications, and biomedical applications of carbon nanofibers: Electrospun vs vapor-grown carbon nanofibers. *Coord Chem Rev* 2022;472:214770. doi: 10.1016/j.ccr.2022.214770.
- Arjamand S, Partovi Baghdadeh A, Hamidi A, Ranaei Siadat O. Electrospun nanofibers

- and their application in tissue repair and engineering. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2020;27:2036-51. doi: 10.18502/ssu.v27i11.2491.
21. Zinadini S, Zinatizadeh AA, Rahimi M, Vatanpour V, Zangeneh H. Preparation of a novel antifouling mixed matrix PES membrane by embedding graphene oxide nanoplates. *J Membrane Sci* 2014;453:292-301.
 22. Homaeigohar SS, Elbahri M. Novel compaction resistant and ductile nanocomposite nanofibrous microfiltration membranes. *J colloid Interface Sci* 2012;372:6-15. doi: 10.1016/j.jcis.2012.01.012.
 23. Mohammadi M, Ghanbarzadeh B, Mokarram RR, Hoseini MY, Hamishehkar H. Study of Stability, Zeta-potential, and Steady Rheological Properties of Nanoliposomes Containing Vitamin D3. *Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services* 2014;36.
 24. Samavati SS, Hadizadeh M, Abedi M, Rabiei M, Derakhshankhah H. Encapsulation of eucalyptus essential oil in chitosan nanoparticles and its effect on MDA-MB-231 cells. *Nanomed J* 2023;10: 234-44. doi: 10.22038/nmj.2023.72115.1775.
 25. Akbari Khorami H, Kianpoor-rad M, Vaezi M. Synthesis of SnO₂/ZnO Composite Nanofiberous via Electrospinning Method and Investigation of Effective Parameters on Morphology of the Prepared Nanofibers. *Appl Surf Sci* 2011;257: 7988- 92. doi:10.1016/j.apsusc.2011.04.052.
 26. Khavas M, Zaerhosseini M, Tavanaie MA, Mahmoudi A. A morphology study of PA 6 electrospun nanofibers using single and double side nozzles jet. *J Text Sci Technol* 2017;6:51-43.
 27. Akinh-Kocak S. The Influence of Fiber Swelling on Paper Wetting. The Graduate School, The University of Maine. 2001;144.
 28. Jang W, Yun J, Jeon K, Byun H. PVdF/graphene oxide hybrid membranes via electrospinning for water treatment applications. *Rsc Adv* 2015;5:46711-7. doi:10.1039/C5RA04439A.
 29. Doustgani A. Optimization of mechanical and structural properties of PVA nanofibers. *J Ind Text* 2016;46:901-13. doi:10.1177/1528083715601511.
 30. Ghajarieh A, Habibi S, Talebian A. A review on the medical application of electrospun nanofibers. *J Text Sci Technol* 2019;8:31-44. doi: 20.1001.1.21517162.1398.8.1.4.5.